

Ministério da Saúde  
FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA EM ANIMAIS DE  
LABORATÓRIO – MESTRADO PROFISSIONAL  
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM BIOMODELOS  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

GABRIEL DE MORAES LEAL

**AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DE MACACOS RHESUS (*Macaca  
mulatta*, ZIMMERMAN, 1780) EM CRIADOURO CIENTÍFICO**

Rio de Janeiro – RJ

2020

**GABRIEL DE MORAES LEAL**

**AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DE MACACOS RHESUS (*Macaca mulatta*, ZIMMERMAN, 1780) EM CRIADOURO CIENTÍFICO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciências em Animais de Laboratório do Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos – Fiocruz/RJ, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ciência em Animais de Laboratório.

Orientadora: Dra. Tatiana Kugelmeier

Coorientadora: Dra. Isabella de Moura Folhadella Pires

Rio de Janeiro – RJ

2020

de Moraes Leal, Gabriel.

AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DE MACACOS RHESUS (*Macaca mulatta*, ZIMMERMAN, 1780) EM CRIADOURO CIENTÍFICO / Gabriel de Moraes Leal. - Rio de Janeiro, 2020.

113 f.; il.

Dissertação (Mestrado Profissional) - Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos, Pós-Graduação em Ciência em Animais de Laboratório, 2020.

Orientadora: Tatiana Kugelmeier.

Co-orientadora: Isabella de Moura Folhadella Pires.

Bibliografia: f. 84-107

1. Primatas não humanos. 2. Reprodução. 3. Exame andrológico. 4. Biometria. 5. Ultrassonografia. I. Título.

**GABRIEL DE MORAES LEAL**

**AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DE MACACOS RHESUS (*Macaca mulatta*, ZIMMERMAN, 1780) EM CRIADOURO CIENTÍFICO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciências em Animais de Laboratório do Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos – Fiocruz/RJ, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ciência em Animais de Laboratório.

\_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

**Banca examinadora**

---

Dr<sup>a</sup>. Janaína Barcelos Porto Ferreira  
Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB) – FIOCRUZ, RJ  
(Presidente da banca)

---

Dr. André Luis Rios Rodrigues  
Universidade Federal Fluminense – UFF, RJ  
(Titular)

---

Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Araújo Pinto  
Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB) – FIOCRUZ, RJ  
(Titular)

---

Dr<sup>a</sup>. Beatriz Goldschmidt  
Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB) – FIOCRUZ, RJ  
(Suplente)

---

Dr<sup>a</sup>. Joanna Maria Gonçalves de Souza Fabjan  
Universidade Federal Fluminense – UFF, RJ  
(Suplente)

Dedico aos meus pais, Antenor e Eunice, a minha irmã Juliana, minhas  
tias e toda a minha família.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar o dom da vida e colocar pessoas maravilhosas no meu caminho.

Aos meus pais Eunice e Antenor que com sacrifício, paciência e incentivo, me permitiram alcançar mais este objetivo e minha irmã, tias e primos, que sempre acreditaram nos meus ideais e colaboraram sem hesitar com todo apoio necessário.

Aos meus amigos, orientadores e “padrinhos de formação”, Dra. Tatiana Kugelmeier, que é uma verdadeira mãe, sempre me orientando da melhor forma possível, seja no trabalho ou na vida, eu sei que sempre é para o meu bem, e o Msc. Clênio Fernandes Viana, grande parceiro, ambos que um dia me abriram as portas do universo da pesquisa e desde então, sempre confiaram na minha capacidade e incentivaram meu desenvolvimento com toda a paciência do mundo. NUNCA, JAMAIS, esquecerei da importância que vocês têm pra mim. Também incluo aqui a minha coorientadora Dra. Isabella Folhadela, com toda a sua inteligência de cientista, por todas as dicas, participações, correções e apoio a este projeto. Em especial, também quero agradecer imensamente a atenção e colaboração da professora Fabiana Knackfuss, que sempre muito solicita e disposta a ensinar, ajudou muito, desde a época de minha graduação até o presente trabalho.

Às minhas companheiras do laboratório de reprodução e equipe de técnicos, biólogos e veterinários do SCPrim, onde graças a Deus fiz muitos amigos pessoais. Em especial minhas irmãzinhas: Lili, Rosana, Suzana, Yasmin, Luana que perdeu muitas e muitas horas ao meu lado, em vários dias, me ajudando e orientando nas edições, sem nunca reclamar e a Lara que, prontamente, sempre esteve atenta a me ajudar, mesmo que remotamente no que eu precisasse, inclusive me perguntando várias vezes se eu precisava de alguma coisa, não desmerecendo ninguém, mas com vocês duas todo o trabalho se tornou mais leve, responsável e divertido nos momentos certos.

A equipe do SCPrim por me dar a oportunidade de crescer e aprender cada vez mais neste serviço tão importante e apaixonante que exercemos pra nossa saúde pública. Em especial a equipe do rhesus: Dra. Ana Cristina, Wiliam Nascimento, Fabiano, Marco Aurélio e meus companheiros da equipe do plantão: Átila, Leonardo Delgado, William Silveira, Raphael Souza, Rodrigo, que além de me apoiarem sempre, JAMAIS se opuseram a me

ajudar nas etapas deste projeto, bem como de todo o serviço no SCPrim. Vocês são FUNDAMENTALMENTE importantes para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos, de todas as horas (quem é, sabe), por todo apoio, por nunca me deixarem sem companhia e oferecerem ajuda para as mais diversas tarefas.

Aos meus "amigush" INCRÍVEIS que conquistei nesses 2 anos do MPCAL no ICTB, não trocaria ninguém dessa turma incrível e queria que todos fizessemos doutorado juntos. SAUDADES!

E a todos os que de alguma maneira, confiaram em mim e me incentivaram para que esta etapa fosse concluída.

Obrigado!

## RESUMO

O refinamento das técnicas adotadas no manejo reprodutivo pode contribuir para o ganho na qualidade genética e sanitária dos animais, redução dos custos de manutenção de uma colônia e melhoria do bem-estar. Desta maneira, a proposta deste estudo foi estabelecer um protocolo de avaliação andrológica por meio de biometria corporal e genital, dosagem de testosterona sérica, colheita e avaliação seminal. Foram utilizados 62 macacos rhesus machos, com idades entre 3 e 14 anos, em criadouro científico na cidade do Rio de Janeiro. Os animais foram divididos em quatro grupos, de acordo com a faixa etária: Grupo1 – 3 anos; Grupo2 – 5 anos; Grupo3 – 8 a 11 anos; Grupo4 – 12 a 14 anos. Foram realizadas as seguintes avaliações: (1) exame físico; (2) biometria corporal (com fita métrica, segmômetro e plicômetro); (3) biometria testicular e genital (com auxílio de fita métrica, paquímetro e ultrassonografia); (4) dosagem de testosterona sérica pelas técnicas de quimioluminescência e eletroquimioluminescência; (5) colheita e avaliação física e funcional de sêmen e análise estatística. As avaliações físicas puderam diferenciar criteriosamente os quatro grupos quanto à anatomia do sistema reprodutor e concentração de testosterona ([T]). A prega abdominal, comprimento do corpo e cabeça e volume testicular foram correlacionados significativamente com a idade. Da mesma forma, foi observada uma tendência de aumento das concentrações séricas de testosterona conforme o aumento da idade, massa corporal e do volume testicular. A [T] variou de: 3-297 ng/dL no Grupo1; 19-697 ng/dL no Grupo2; 101-1041 ng/dL no Grupo3; 92 a 525 ng/dL no Grupo4. Não houve diferença estatística entre as medidas dos testículos direito e esquerdo. Quando comparadas os métodos de mensuração testicular, os valores obtidos por paquímetro e fita métrica foram correspondentes. Quanto ao aspecto, a coloração predominante do escroto nos grupos 1 a 3 foi rósea, com consistência firme dos testículos. Já para o Grupo4, a coloração predominante do escroto foi avermelhada e cerca de 50% dos testículos apresentaram consistência macia. A avaliação ultrassonográfica evidenciou diferenças marcantes na ecogenicidade do parênquima testicular entre o Grupo1 e os demais grupos, com predomínio (> 70%) da aparência hipoecogênica nesse grupo. A taxa de sucesso de obtenção de ejaculados foi de 37% (10 amostras em 27 animais). As amostras obtidas, em sua maioria, apresentaram espermatozoides viáveis, mesmo ao final da temporada reprodutiva. Uma amostra foi azoospérmica. Com base nos resultados obtidos nesse estudo, foi possível concluir que a avaliação minuciosa de machos de *Macaca mulatta* fornece dados importantes sobre a saúde reprodutiva e maturidade sexual, podendo contribuir para protocolos de melhoramento genético e refinamento dos procedimentos instituídos em um programa de reprodução assistida.

**Palavras-chave:** Primatas não humanos. Reprodução. Exame andrológico. Genitália. Biometria. Ultrassonografia. Colheita de sêmen. Eletroestimulação retal.

## ABSTRACT

The refinement of the techniques applied in the reproductive management can enhance the genetic quality and animal health, reduce the maintenance costs of a colony and improve animal's wellbeing. The purpose of this research was to establish an andrological evaluation protocol through corporal and genital biometry, serum testosterone measurement and seminal fluid assessment. Sixty-two male rhesus monkeys have been used for this research ageing between 3 and 14 years old that were kept at a breeding scientific site in the city of Rio de Janeiro. The animals have been divided in four groups according to their age range: Group1 – 3 yo; Group2 – 5 yo; Group3 – 8 to 11 yo; Group4 – 12 to 14 yo. The following assessments have been completed: (1) physical exams; (2) corporal biometry (using meter rule, segmometer and plicometer); (3) testicular and genital biometry (with meter rule, pachymeter and ultrasound support); (4) serum testosterone dosage through quimioluminescence e eletroquimioluminescence techniques; and (5) semen sample collection and its physical and functional analysis and statistical analysis. The physical assessments resulted in a meticulous differentiation of the four groups with regards to their anatomy of the reproductive system and testosterone concentration ([T]). The abdominal skinfold, the body length, and the testicular volume have been correlated to the animal age. At the same time, a [T] increase tendency has been detected with the rise of the animal's age, body mass and testicular volume. The [T] variation was 3-297 ng/dL in the Group1; 19-697 ng/dL in the Group2; 101-1041 ng/dL in the Group3; and 92-525 ng/dL in the Group4. When testicular measurement methods were compared, the values obtained by caliper and measuring tape were corresponding. As regards to the visual assessment, the main color of the scrotum bag of the age groups 1 to 3 was light pink, with consistency of the testicles considered firm. In the group 4 however, the main color was bright red and 50% of the testicles showed a soft consistency. The ultrasound assessment indicated distinguished differences in the egogenicity of the testicular parenchyma in between the Group1 and the other groups, with predominance (>70%) of hypoechogenic appearance in this group. The ejaculates collection success rate was 37% (10 out 27 animal samples). The majority of samples revealed compatible results and good semen quality, even in the end of the mating season. One sample has been classified as azoospermic. Based on the analyzed results of this research, it has been possible to conclude that the meticulous assessment of *Macaca mulatta* males provide important data about the breeding health and sexual maturity whilst contributing for the genetic improvement and refinement of the adopted procedures in an assisted breeding program.

**Key words:** Nonhuman primates. Reproduction. Andrological exam. Genital tract. Biometry. Ultrasound. Semen sample collection. Rectal probe electrostimulation.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Ilustração representativa da genitália de <i>Macaca mulatta</i> . Destaque em azul para a localização das glândulas seminais, em vermelho para a próstata e em amarelo para a glândula bulbo uretral. ....	23
<b>Figura 2</b> - Grupo familiar de <i>Macaca mulatta</i> interagindo no interior de um recinto coletivo de faixa etária variável de neonatos a idade senil. Destaque para o macho alfa manipulando a genitália e recebendo catação por duas fêmeas. ....	322
<b>Figura 3</b> - Foto em perspectiva diagonal de um recinto coletivo da colônia de <i>Macaca mulatta</i> do ICTB/ Ficoruz. Com destaque para a área de refúgio (seta vermelha) e área externa (seta roxa). ....	322
<b>Figura 4</b> - Recinto da colônia de fornecimento de <i>Macaca mulatta</i> da Fiocruz, em ambiente protegido de vetores. Destaque para o recinto onde dois machos utilizados no estudo estavam alojados. ....	333
<b>Figura 5</b> – Sistema de identificação alfanumérica por meio de tatuagem na região peitoral adotado para as espécies do gênero <i>Macaca</i> do criadouro científico do ICTB/ Fiocruz. ....	34
<b>Figura 6</b> - (a) Animal acionando o bebedouro. (b) Preparo da ração úmida. ....	35
<b>Figura 7</b> - Etapas de todo o processo do exame andrológico de <i>Macaca mulata</i> adotado no estudo. ....	366
<b>Figura 8</b> - (a) Obtenção da altura (corpo cabeça) por meio de segmômetro. (b) Obtenção de circunferência abdominal por meio de fita métrica. ....	37
<b>Figura 9</b> - Mensuração de comprimento (DL) do testículo através do paquímetro. ....	38
<b>Figura 10</b> - Imagens ultrassonográficas de testículos de <i>Macaca mulatta</i> participantes do estudo, nos cortes LONGITUDINAL: a) Testículo classificado como hipocogênico ++; b) Testículo hipocogênico +; c) Testículo hiperecogênico e TRANSVERSAL: d) Testículo classificado como hipocogênico ++; e) Testículo hipocogênico +; f) Testículo hiperecogênico. ....	400
<b>Figura 11</b> - (a) Suporte adaptado para posicionamento de macaco rhesus (b) Aparelho de eletroestimulador por sonda retal. ....	42
<b>Figura 12</b> - (a) Probe posicionada na região da ampola retal do animal durante o procedimento. (b) Posicionamento do tubo de polipropileno para a coleta da amostra. ....	43
<b>Figura 13</b> - Fotomicrografia de espermatozoides de <i>Callithrix jacchus</i> corados por DAB. (a) Classe I, (b) Classe II, (c) Classe III e (d) Classe IV, em microscopia de luz com campo claro, objetiva 100x sob imersão em óleo. ....	47
<b>Figura 14</b> - Gráficos ilustrativos da coloração observada no escroto de <i>Macaca mulatta</i> do presente estudo. ....	500
<b>Figura 15</b> - Gráficos ilustrativos da consistência testicular de <i>Macaca mulatta</i> avaliada por meio de palpação digital. ....	52

<b>Figura 16</b> - Gráficos ilustrativos da textura do parênquima testicular de <i>Macaca mulatta</i> observada por ultrassonografia.....	544
<b>Figura 17</b> - Gráficos ilustrativos da ecogenicidade testicular observada por ultrassonografia em <i>Macaca mulatta</i> do presente estudo. ....	58
<b>Figura 18</b> – Gráfico representativo da variação da massa corporal e concentração de testosterona em <i>Macaca mulatta</i> em diferentes faixas etárias. ....	655
<b>Figura 19</b> - Análise de regressão linear simples entre testosterona e volume testicular (A), testosterona e massa corporal (B) e testosterona e idade (C) de <i>Macaca mulatta</i> . ....	66
<b>Figura 20</b> – Representação gráfica de média + desvio padrão das medidas de volumes testiculares obtidas por meio de paquímetro lado direito (A) e esquerdo (B) e ultrassonografia lado direito (C) e esquerdo (D) em <i>Macaca mulatta</i> . ....	700

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Características do ejaculado de machos de macacos rhesus. ....	27
<b>Tabela 2</b> - Quantitativo de animais por faixa etária da espécie <i>Macaca mulatta</i> participantes do estudo. Rio de Janeiro, 2020. ....	30
<b>Tabela 3</b> - Estatística descritiva dos parâmetros morfométricos, idade e concentração de testosterona dos machos da espécie <i>Macaca mulatta</i> por grupo etário estudado. Rio de Janeiro, 2020.....	60
<b>Tabela 4</b> - Média $\pm$ desvio padrão das dosagens de testosterona e massa corporal de <i>Macaca mulatta</i> divididas por faixa etária no presente estudo, em comparação com estudos publicados anteriormente.....	62
<b>Tabela 5</b> – Horário e época do ano de coleta de amostras sanguíneas, técnica de dosagem de testosterona utilizada e sistema de criação de <i>Macaca mulatta</i> em diferentes estudos.....	64
<b>Tabela 6</b> - Medidas de biometria testicular obtidas por mensuração manual com paquímetro e fita métrica e por exame ultrassonográfico dos machos de <i>Macaca mulatta</i> do plantel do ICTB. .	688
<b>Tabela 7</b> - Análise de correlação de Pearson para os volumes testiculares obtidos com auxílio de paquímetro e por ultrassonografia em <i>Macaca mulatta</i> . ....	69
<b>Tabela 8</b> - Correlações entre idade, biometria corporal e testicular de <i>Macaca mulatta</i> machos do plantel do ICTB/ Fiocruz.....	722
<b>Tabela 9</b> - Média $\pm$ desvio padrão da biometria do pênis e glândula obtidos em <i>Macaca mulatta</i> no plantel do ICTB/ Fiocruz. Rio de Janeiro, 2020.....	744
<b>Tabela 10</b> - Características seminais (média $\pm$ desvio padrão) de <i>Macaca mulatta</i> descritos na literatura em comparação com os dados obtidos no presente estudo para os animais do ICTB/ Fiocruz.....	777
<b>Tabela 11</b> - Percentual de atividade mitocondrial em primatas não humanos descritos na literatura e no presente estudo. Rio de Janeiro, 2020. ....	800

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 A espécie <i>Macaca mulatta</i> .....</b>	<b>16</b>
2.1.1 CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS .....	18
2.1.2 SAZONALIDADE .....	19
2.1.3 FISIOLOGIA REPRODUTIVA DO MACHO.....	19
2.1.4 FASES DO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO.....	20
2.1.5 ESPERMATOGÊNESE .....	21
2.1.6 ANATOMIA DO SISTEMA GENITAL MASCULINO .....	22
<b>2.2 Exame andrológico .....</b>	<b>23</b>
2.2.1 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA .....	24
2.2.2 COLHEITA DE SÊMEN POR ELETROESTIMULAÇÃO VIA SONDA RETAL (EER).....	25
2.2.3 AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS SEMINAIS .....	26
2.2.3.1 Avaliação de membrana plasmática .....	28
2.2.3.2 Avaliação de atividade mitocondrial .....	28
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>29</b>
<b>3.1 Geral .. ..</b>	<b>29</b>
<b>3.2 Específicos .....</b>	<b>29</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>30</b>
<b>4.1 Animais .....</b>	<b>30</b>
<b>4.2 Condições de criação e manejo.....</b>	<b>31</b>
<b>4.3 Exame andrológico .....</b>	<b>36</b>
4.3.1 EXAME CLÍNICO GERAL .....	37
4.3.2 EXAME CLÍNICO ESPECÍFICO .....	38
4.3.3 EXAMES ULTRASSONOGRÁFICOS .....	39
4.3.4 DOSAGEM DE TESTOSTERONA SÉRICA .....	41
4.3.5 COLHEITA E AVALIAÇÃO DO SÊMEN.....	41
4.3.5.1 Protocolo de eletroestimulação retal (EER) e obtenção de sêmen .....	42
4.3.5.2 Exames imediatos .....	44
4.3.5.2.1 <i>Aspecto do ejaculado</i> .....	44
4.3.5.2.2 <i>pH</i> .....	44
4.3.5.2.3 <i>Volume seminal</i> .....	44
4.3.5.2.4 <i>Motilidade</i> .....	44
4.3.5.2.5 <i>Movimento retilíneo progressivo (MRP)</i> .....	44

4.3.5.3 Exames mediatos .....	45
4.3.5.3.1 <i>Concentração espermática</i> .....	45
4.3.5.3.2 <i>Integridade de membrana plasmática</i> .....	45
4.3.5.3.3 <i>Atividade mitocondrial (DAB)</i> .....	46
<b>4.4 Análise estatística</b> .....	<b>47</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>48</b>
<b>5.1 Avaliação macroscópica do escroto</b> .....	<b>49</b>
<b>5.2 Avaliação ultrassonográfica da genitália</b> .....	<b>53</b>
<b>5.3 Biometria testicular, corporal e dosagem de testosterona</b> .....	<b>58</b>
<b>5.4 Correlação das biometrias corporais e testiculares</b> .....	<b>71</b>
<b>5.5 Biometria do pênis e glande</b> .....	<b>73</b>
<b>5.6 Eletroestimulação retal</b> .....	<b>74</b>
<b>5.7 Avaliação seminal</b> .....	<b>76</b>
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>82</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>84</b>
<b>APÊNDICE</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

A semelhança genética entre os primatas humanos e não humanos faz desses um modelo importante para estudos biológicos (VANDEBERG, 1995). Segundo Ruch (1941), a utilização de primatas não humanos (PNH) como modelos de pesquisa é relatada desde o início da Idade Moderna. A partir do século XX, o uso destes modelos aumentou significativamente, por conta do estabelecimento de centros específicos de primatologia (PISSINATI; ANDRADE, 2010). Esse aumento foi atribuído à necessidade de solucionar os problemas de saúde pública causados por muitas doenças humanas, como a poliomielite em meados da década de 50. Nessa ocasião, símios do gênero *Macaca* (*M. mulatta* e *M. fascicularis*) e *Pan* (*Pan troglodytes*) foram trazidos da natureza para serem usados em laboratório. As pesquisas envolviam anatomia comparada, embriologia e desenvolvimento fetal, atividades em áreas cerebrais, e estudos de algumas doenças causadas por vírus, bactérias e parasitos (SCHMIDT, 1971).

Em uma criação de primatas, o planejamento reprodutivo de um plantel dentro de um biotério é de extrema importância para um maior controle de natalidade e aumento dos índices de produtividade. O melhor conhecimento da fisiologia reprodutiva pode auxiliar programas de conservação a desenvolverem tecnologias de reprodução assistida para criação em cativeiro de espécies ameaçadas e de interesse biomédico (ESTRADA; GARBER, 2009). O refinamento das técnicas adotadas no manejo reprodutivo pode contribuir para a redução dos custos de criação de uma colônia, melhoria do bem-estar e o ganho na qualidade genética e sanitária dos animais. A adoção de um manejo adequado reduz a susceptibilidade de proles a patologias crônicas e/ou congênitas e pouco eficientes sob o ponto de vista reprodutivo. Dessa maneira, também reduz o excedente de animais subutilizados no plantel e os custos da manutenção em cativeiro.

Altos índices de consanguinidade comprometem o sucesso dos programas de reprodução e podem elevar a possibilidade de comprometimento dos resultados de pesquisas biomédicas (SMITH, 1985). A variabilidade genética é um objetivo fundamental no planejamento de qualquer colônia de reprodução (ELY *et al.* 1994). Fatores genéticos influenciam também na susceptibilidade a muitas doenças infecciosas e não infecciosas em animais (ZONDERVAN *et al.*, 2002), pois essas doenças podem estar relacionadas a imunodeficiência herdada, que viabiliza a instalação de processos infecciosos, como hepatite A, herpes B, síndrome da imunodeficiência símia e vírus linfotrófico simiano T (ANDRADE *et al.*, 2004a).

As alterações nos tratos genitais podem resultar em subfertilidade ou até mesmo a infertilidade dentro de uma criação (BICUDO *et al.*, 2007). Vale Filho e colaboradores (1979) descrevem que muitas dessas alterações podem prevalecer por gerações em caráter hereditário, sendo indicada a retirada destes animais da reprodução.

Um dos principais e mais delicados procedimentos do manejo reprodutivo em uma colônia de macacos rhesus é a transferência de machos reprodutores para outros recintos, o que pode resultar em desvios comportamentais, estresse e até óbito de animais em confrontos com outros que não faziam parte do mesmo grupo, especialmente os mais jovens. A literatura recomenda a retirada dos machos de seus grupos natais entre os três e quatro anos de idade, a fim de evitar que esse macho acasale com suas mães, irmãs e tias (NEVISON *et al.*, 1996), no entanto, no criatório científico do ICTB, verificou-se a incidência de nascimentos em recintos onde somente haviam fêmeas e machos na faixa etária de 2 e 3 anos ou machos maduros que já haviam sido submetidos à cirurgia de vasectomia. Dessa maneira torna-se necessária a retirada dos machos o quanto antes e, quando a separação física não for possível, devem-se adotar outras medidas de controle populacional, como as vasectomias nos machos que não interessam para a reprodução. Nesse sentido, é premente o estabelecimento de um protocolo de avaliação reprodutiva que possa ser adequado a essa faixa etária.

Devido ao alto custo e valor biológico envolvidos na manutenção de PNH em cativeiro, é importante que o macho reprodutor seja cuidadosamente selecionado, por meio de um programa de exame andrológico completo. O presente estudo propõe uma metodologia de avaliação reprodutiva de machos da espécie *Macaca mulatta*, preconizando a identificação de animais indicados para a reprodução, bem como a identificação de animais que já apresentem sinais de uma puberdade precoce (a fim de evitar nascimentos não planejados) e identificação de sugestivas patologias a esclarecer.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Entre os mamíferos, os primatas não humanos apresentam uma vasta diversidade de espécies e subespécies, contabilizando mais de 420, de diferentes tamanhos corporais (RYLANDS; MITTERMEIER, 2009). Habitam as áreas intertropicais, onde estão localizadas as mais vastas florestas (MITTERMEIER *et al.*, 1994).

A subordem *Anthropoidea* divide-se nas paraordens *Platyrrhini* (platirrinos), que são denominados os “primatas do Novo Mundo” e *Catarrhini* (catarrinos) ou primatas do Velho Mundo, que carregam esta nomenclatura devido à posição de suas fossas nasais. Nos platirrinos, as narinas são voltadas para a lateral, enquanto nos catarrinos, estão mais ao centro e voltadas para baixo. Os catarrinos distribuem-se pelo Continente Africano, Sudeste Asiático Continental e ilhas da região, além do Japão, e da região de Gibraltar na Europa (*Macaca sylvanus*), provavelmente introduzidos pelo norte da África. Entre eles, três famílias são conhecidas - *Cercopithecidae*, *Hylobatidae* e *Hominidae* (GROVES, 2005).

Em sua morfologia, os catarrinos apresentam dois pré-molares e dentes cúspides reunidos transversalmente, e os machos possuem caninos mais longos. A locomoção é quadripedal, a cauda variável entre longa ou até ausente, como nos representantes de *Hominidae* (*Pongo*, *Gorilla*, *Pan* e *Homo*) (PISSINATI; GOLDSCHMIDT; SOUZA, 2010). Em muitas formas há evidência de tuberosidades isquiáticas, como no gênero *Macaca* (DURAN-REYNALS *et al.*, 1950).

Diante de centenas de espécies, em dezenas de famílias de primatas, apenas alguns exemplares são de interesse em pesquisas experimentais, com destaque para as famílias *Cebidae* representando os primatas do Novo Mundo e *Cercopithecidae*, do Velho Mundo e detentora do gênero *Macaca* (TARDIF *et al.*, 2006). A espécie *M. mulatta*, popularmente conhecida como macaco rhesus, é a mais utilizada em pesquisas biomédicas em todo o mundo (WEATHEALL, 2006).

### 2.1 A espécie *Macaca mulatta*

*Macaca mulatta* são originários do Oriente, vastamente distribuídos pelos países entre Afeganistão e Índia, regiões da Tailândia e China, podendo inclusive subdividir-se em nomenclatura entre macacos rhesus chineses e indianos, de acordo com a sua localização (FOODEN, 1982). Podem habitar regiões bem variadas, desde florestas

montanhosas a manguezais e cidades populosas (TEAS *et al.*, 1980; SOUTHWICK *et al.*, 1974). São tidos como animais resistentes e podem sobreviver e se reproduzir bem sob condições concorridas e competitivas, situações que normalmente seriam consideradas adversas (TEAS *et al.* 1980). Os tons da pelagem incluem marrom clara a amarelada, face branqueada a róseo-avermelhada. Apresenta porte médio e nasce com aproximadamente 500 g (LEAL, 2016; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2011). Machos adultos podem alcançar 52,2 cm de altura (distância entre a cabeça e a base da cauda) e as fêmeas 46,02 cm (ANDRADE *et al.*, 2004b), podendo atingir os 12 Kg e 10 Kg, respectivamente (SMITH, 1997), mesmo que alguns indivíduos possam ultrapassar os 20 kg de massa corporal (LEAL, 2016; KEMNITZ, 1989).

A espécie é considerada onívora, com uma dieta extremamente variada, alimentando-se de uma variedade de mais de 100 plantas (LINDBURG, 1971) e animais, incluindo frutas, flores, folhas, sementes, gomas, botões, grama, raízes, insetos, casca, cogumelos, ovos, mariscos e peixes. Em áreas urbanas, os animais acabam sendo alimentados direta ou indiretamente por alimentos de natureza humana e até lixo e restos de alimentos (FORTMAN; HEWETT; HALLIDAY, 2017).

São animais que têm como característica bem marcada a sociabilidade entre seus indivíduos, vivendo em grandes grupos, bandos ou famílias variáveis entre 8 e 85 indivíduos (TEAS *et al.*, 1980). Um bando de macacos rhesus é essencialmente uma sociedade fechada, e seus membros reagem muito agressivamente a indivíduos desconhecidos (SOUTHWICK *et al.*, 1974). *M. mulatta* podem ser divididos em subgrupos com hierarquias de dominância diferentes (BERMAN, 1983).

Macacos rhesus fêmeas normalmente permanecem em seu grupo até o fim da vida e se associam com suas mães e parentes do gênero feminino, enquanto a maioria dos jovens machos deixa seu grupo natal antes mesmo de atingir a maturidade sexual. Estes jovens machos tendem a viver uma vida solitária ou agregam-se a outros machos de outros bandos nas mesmas condições até que encontrem um novo grupo social para interagir. Contudo, esta fase no jovem macho é um período de grandes desafios. Os confrontos com agressão e possível morte são praticamente inevitáveis ao encontrar um novo grupo (SOUTHWICK *et al.*, 1974). Alguns indivíduos podem fazer esta migração mais de uma vez ao longo de sua vida (MELNICK *et al.*, 1984).

### 2.1.1 CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS

Os machos de macacos rhesus têm padrões fisiológicos muito próximos aos do homem. A puberdade inicia-se em torno dos dois anos para as fêmeas e entre três e quatro anos para os machos (HENDRICKX; DUKELOW, 1995). De acordo com Leal (2016), os animais podem crescer até aproximadamente os oito anos de idade e viver por até de três décadas (FORTMAN; HEWETT; HALLIDAY, 2017). Assim como em seres humanos, reduções no vigor sexual ocorrem também em macacos rhesus senis. Os machos mais idosos tendem a apresentar menos comportamento copulatório do que os animais mais jovens (DIXSON; ANDERSON, 2002).

O sistema de acasalamento é poligâmico, do tipo multimacho–multifêmea (DIXSON, 2015). Uma característica comum observada neste sistema de acasalamento é a masturbação dos machos, que parece estar ligada a baixas oportunidades de acasalamento, como por exemplo, nos animais de grau hierárquico inferior, que conseqüentemente acasalam menos (DUBUC *et al.*, 2014). Durante a estação de acasalamentos, indivíduos da espécie podem apresentar fenômenos característicos, como intumescimento da região vulvar, dorso-lombar e de membros pélvicos (*sexual swelling*), pigmentação avermelhada em regiões de face, membros pélvicos e lateral dos olhos (*sex skin*) e secreção vaginal (DIXSON, 2015; DURAN-REYNALS *et al.*, 1950).

A quantidade e origem de indivíduos no grupo podem influenciar na organização social, o que está ligado ao sucesso reprodutivo, caracterizado pela transmissão e dispersão de seus genes dentro da população (DIXSON, 2015). O número de indivíduos dentro de um grupo (relação macho-fêmea) influencia diretamente na concentração e competição espermática (MOLLER, 1988). Machos que vivem em sistemas de poliandria, multimachos-multifêmeas e disperso, no qual a fêmea pode acasalar com vários machos, comumente apresentam também alterações anatômicas, como por exemplo, testículos e glândulas seminais maiores do que os machos que vivem em sistemas monogâmicos ou poligínicos. Nestes casos, o ejaculado geralmente forma um *plug* copulatório, provavelmente para garantir a sobrevivência dos espermatozoides e dificultar a cópula subsequente por outros machos (DIXON; ANDERSON, 2002).

Os machos e fêmeas são reprodutores sazonais, acasalam-se nas estações que compreendem entre o outono e inverno. As fêmeas apresentam ciclo menstrual com 26 a 28 dias de duração e dão à luz entre a primavera e verão, compreendendo um tempo de gestação variável entre 165 a 175 dias (BENNETT; ABEE; HENDRIKSON, 2002; HENDRICKX; DUKELOW, 1995).

### 2.1.2 SAZONALIDADE

A sazonalidade é condição marcadamente comum na maioria das espécies de animais selvagens e alguns domésticos, modulado principalmente pelo fotoperíodo, com influência de outros fatores socioambientais como temperatura, umidade, disponibilidade de alimentos, pressão de predação, hierarquia social e composição dos grupos (KUGELMEIER; VALLE; MONTEIRO, 2010). Nos macacos rhesus, acredita-se que este fenômeno tenha relação com o fotoperíodo e as condições climáticas no *habitat* natural da espécie (HARRISON; KUBISCH, 2005). É sabido que a sazonalidade reprodutiva pode influenciar em fatores como o volume testicular, espermatogênese, concentração espermática comportamentos sociais de monta e dominância (DIXSON, 2015), bem como concentração de hormônio folículo estimulante (FSH), hormônio luteinizante (LH), testosterona, diidrotestosterona (DHT) e cortisol (WICKINGS; NIESCHLAG, 1980). Desta maneira, naturalmente as fêmeas são programadas para parir em um momento no qual as condições de vida sejam muito mais favoráveis para a saúde de sua prole, com maior disponibilidade de alimentos e de abrigo (PTASZYNSKA, 2007).

Na década de 70, pesquisadores observaram, por meio de um estudo de colheita e avaliação seminal, que fora da estação reprodutiva, os animais não respondem à eletroestimulação, ou produzem apenas volumes mínimos de um ejaculado com características físicas anormais, constituído de um número marcadamente reduzido de espermatozoides, em sua maioria, imóveis. A partir da avaliação de biópsias testiculares, os autores puderam sugerir que fora da estação, a espermatogênese sofre uma pausa, podendo-se, inclusive, visualizar a fagocitose de espermatozoides remanescentes da última estação reprodutiva. Da mesma forma que as fêmeas não têm a capacidade de ovular, embora a menstruação possa ser observada durante o período não reprodutivo (ZAMBONI *et al.*, 1974).

### 2.1.3 FISIOLOGIA REPRODUTIVA DO MACHO

Para entender o processo de reprodução nos primatas não humanos, se faz necessário compreender a função do eixo hipotálamo - hipófise - testículo. Em resumo, o hormônio liberador de gonadotropina (GnRH) é sintetizado no hipotálamo e secretado em pulsos para a hipófise anterior por meio dos vasos portais na haste hipofisária. Na

hipófise anterior, ocorre a secreção pelas células gonadotrópicas de hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH). Esses hormônios entram na circulação geral e o LH estimula a secreção de testosterona pelas células de Leydig, localizadas nos espaços intersticiais dos testículos (HARRISON; KUBISCH, 2005). Um estudo relatou que o volume das células de Leydig afeta a síntese de andrógenos, a maturação e a produção de espermatozoides e o comportamento sexual (GUPTA, 2000). Por sua vez, o FSH estimula as células de Sertoli nos túbulos seminíferos para produzir a proteína de ligação ao andrógeno, inibina e ativina (HARRISON; KUBISCH, 2005).

No macaco rhesus, a frequência de pulsos de GnRH não muda devido a sazonalidade. Contudo, a amplitude dos pulsos aumenta na estação reprodutiva (WICKINGS; NIELSCHLAG, 1980). Além disso, o FSH desempenha um papel importante na manutenção e reinicialização da espermatogênese. Seu declínio fora da estação reprodutiva está associado à inibição da diferenciação dos espermatozoides, resultando na diminuição e até ausência da taxa de produção diária (GUPTA, 2000). O autor também relatou uma redução significativa na taxa de espermatozoides produzidos diariamente, por testículo, durante a estação não reprodutiva em macaco rhesus, bem como uma relevante perda de peso testicular.

A redução nos níveis de testosterona ocorre pelo fato do eixo hipotálamo-hipófise-testículos possuir controles de *feedback* em dois níveis para manter a secreção de testosterona. A testosterona e o estradiol (convertido em testosterona) têm um *feedback* negativo no hipotálamo e hipófise, respectivamente. Desta maneira, a redução na amplitude e frequência dos pulsos de GnRH pelo hipotálamo e a insensibilização das células gonadotrópicas à estimulação do GnRH pela hipófise, irão diminuir a quantidade de secreção de LH. A inibina e a ativina das células de Sertoli têm, respectivamente, *feedback* negativo e positivo na hipófise anterior para manter os níveis de FSH (HARRISON; KUBISCH, 2005).

#### 2.1.4 FASES DO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO

Algumas espécies de primatas, incluindo *M. mulatta*, nascem com os testículos no canal inguinal ou no abdome, os quais só migram para o escroto perto da puberdade (TURNQUIST; MINUGH-PURVIS, 2012). Em macacos rhesus, os testículos se posicionam no escroto, em média aos três anos de idade, quando atingem a puberdade (HENDRICKX; DUKELOW, 1995). No gênero *Macaca*, a maturidade sexual dos machos ocorre entre quatro e sete anos (KUGELMEIER; VALLE; MONTEIRO, 2010;

NOWAK; WALKER, 1999). Os machos desta espécie, a partir da puberdade, já estão sujeitos a sofrerem alterações fisiológicas correspondentes ao aumento dos níveis de testosterona secretado pelos testículos, como o início do *sex skin*, aumento dos testículos e conseqüentemente aumento da espermatogênese. A partir daí, já é possível observar os animais que, mesmo jovens, podem demonstrar comportamentos de dominância, monta e masturbação (DIXSON, 2015). O desenvolvimento testicular dos machos em idade púbere é passível de sofrer influência da posição hierárquica em que ocupam num grupo, nos quais indivíduos de melhor posicionamento tendem a ter maior desenvolvimento, inclusive testicular (BERCOVITCH, 1993).

### 2.1.5 ESPERMATOGÊNESE

A espermatogênese consiste no processo em que a célula germinativa denominada espermatogônia diferencia-se até tornar-se uma célula haploide, o espermatozoide (BARR, 1973). Este processo é dividido em 3 fases, a saber: fase I - mitótica ou proliferativa, caracterizada pela multiplicação das espermatogônias, que ocorre nos túbulos seminíferos, nutridas e sustentadas pelas células de Sertoli; fase II - meiótica ou de crescimento, na qual as espermatogônias aumentam o volume citoplasmático e irão se dividir, dando origem aos espermatócitos primários diploides, nesta fase, o material genético é dividido (divisão meiótica reducional) para formar 2 espermatócitos secundários haploides; e fase III - espermiogênica ou de maturação, na qual os espermatócitos secundários passam por outras divisões até serem diferenciados em espermatozoides, que são, enfim, as células capazes de alcançar e fertilizar os oócitos (SILVA, 2015). Em *M. mulatta* o ciclo que ocorre no epitélio seminífero dura em média 9,5 dias e o processo total de espermatogênese em torno de 36 dias (BARR, 1973). A espermatogênese só é capaz de se perpetuar na presença da alta concentração de testosterona no testículo. Na ausência desta ou de receptores androgênicos funcionais, os indivíduos serão inférteis, pois a espermatogênese raramente progride além da fase meiótica (WALKER, 2011). Alguns estudos sugerem que as taxas de produção e reservas de espermatozoides estão correlacionadas positivamente com o tamanho dos testículos, que conseqüentemente está associado aos sistemas de acasalamento. No caso do macaco rhesus, em que o sistema de acasalamento consiste em multimacho – multifêmea, existe muita competição espermática quando comparado a espécies consideradas monogâmicas, como por exemplo, o macaco-da-noite, gibão e o homem (DIXSON, 2015). Desta maneira, os animais que sofrem essa maior pressão competitiva apresentam ciclos do

epitélio seminífero mais curtos e mais rápidos de espermatogênese para aumentar a produção geral de espermatozoides (RAMM; STOCKLEY, 2010).

#### 2.1.6 ANATOMIA DO SISTEMA GENITAL MASCULINO

Nos primatas não humanos, a genitália externa tem como objetivo a cópula, excreção e o reconhecimento de estímulos sexuais ou *display* sexual, e o ato de mostrar a genitália de forma mais abrupta sugere ao oponente que há ali uma imposição dominante para fins de marcação territorial (FEDIGAN, 1992). O trato reprodutor dos primatas não humanos se assemelha ao de humanos, tanto em aspectos fisiológicos quanto anatômicos (COLD; MCGRATH, 1999).

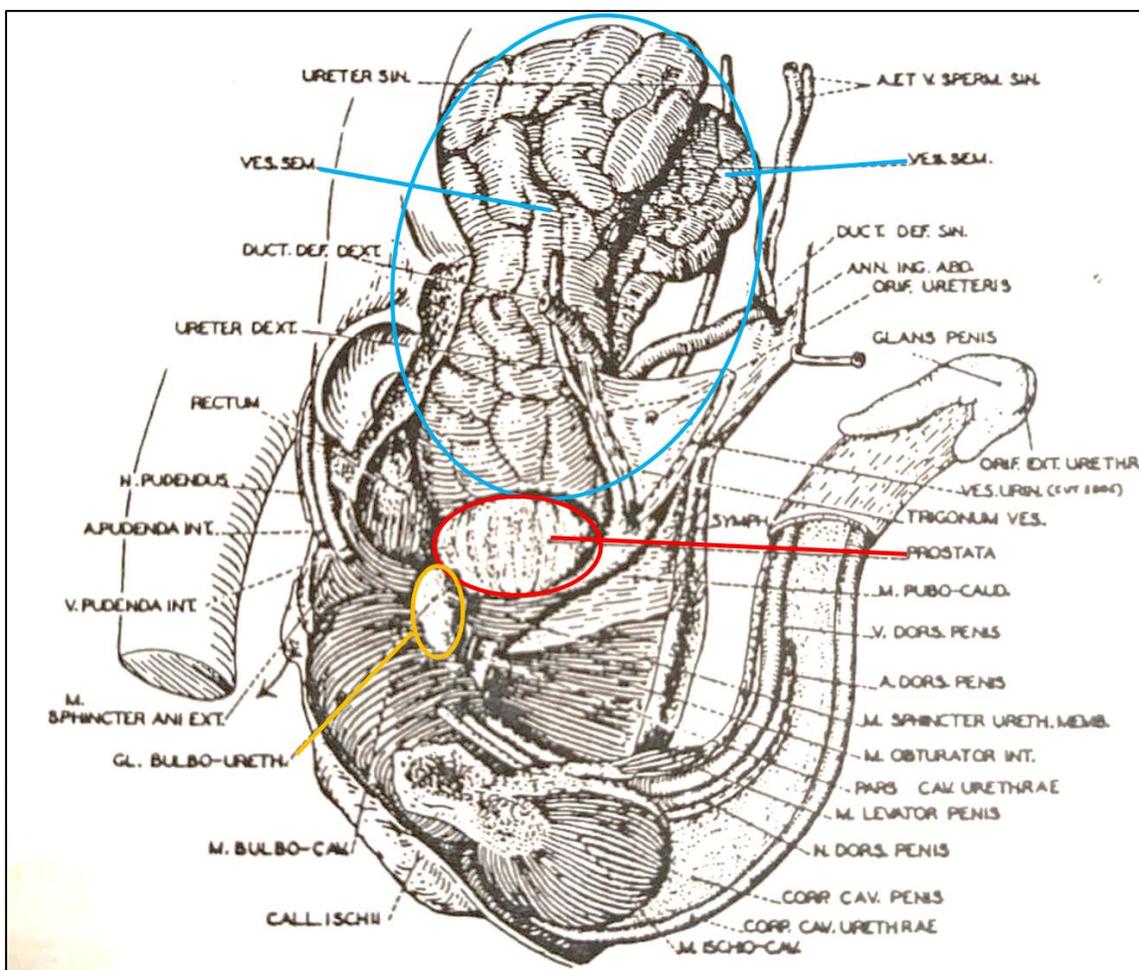
A genitália externa do macho compreende o pênis, que possui em seu interior o osso peniano, caudal ao pênis estão os testículos elipsoides e epidídimos, situados num escroto. O osso peniano ou *baculum* localiza-se no dorso, próximo à uretra, dividindo a glândula do pênis em dois lobos, sendo o esquerdo, que contém o *baculum*, maior (HERSHKOVITZ, 1977).

O escroto tem como função primordial agir na termorregulação dos testículos, importante aspecto fisiológico para a correta espermatogênese. Outra finalidade atribuída ao escroto é denominada *display* (ou exibição sexual), que tem atribuição a comportamentos sociais de dominância e territorialismo (DUBUC *et al.*, 2014).

Os epidídimos, que ficam localizados na região posterior dos testículos, têm como função maturar e armazenar os espermatozoides produzidos pelos testículos. Os espermatozoides saem das gônadas através dos ductos eferentes no epidídimo, que é composto por três seções que se diferem morfológica e funcionalmente. Essas diferenças estão envolvidas na maturação dos espermatozoides. Os espermatozoides passam em sequência da cabeça ao corpo e cauda do epidídimo, e depois encaminham para os ductos deferentes (HARRISON; KUBISCH, 2005). Nos macacos rhesus, o transporte de espermatozoides através do epidídimo leva aproximadamente cinco dias, com uma concentração espermática média de  $547 \pm 69 \times 10^6$  espermatozoides por testículo durante a estação reprodutiva (AMANN *et al.*, 1976). Roselli e colaboradores (1991) descobriram que a quantidade de receptores androgênicos e a atividade da 5 $\alpha$ -redutase (enzima que converte testosterona em di-hidrotestosterona, forma mais ativa) são maiores na cabeça e corpo do epidídimo em comparação a cauda e ao ducto deferente. Esses resultados sugerem que as alterações de maturação dos espermatozoides ocorrem na cabeça e corpo do epidídimo e que na cauda e ducto deferente estão maduros e férteis.

Internamente, a genitália de *M. mulatta* dispõe do ducto deferente e das glândulas sexuais acessórias, glândulas seminais, próstata e a glândula bulbo uretral, que é dividida em lobos caudal, cranial e laterais (Figura 1). Estas irão produzir o líquido seminal, acrescentando a ele substâncias como frutose e algumas proteínas, além de possuir pH alcalino, o que irá viabilizar os espermatozoides no trato vaginal da fêmea (DIXSON, 1998). Os tamanhos das glândulas seminais variam muito entre os primatas e a morfologia da próstata provavelmente está associada com a concentração de di-hidrotestosterona (HARRISON; KUBISCH, 2005).

**Figura 1 - Ilustração representativa da genitália de *Macaca mulatta*. Destaque em azul para a localização das glândulas seminais, em vermelho para a próstata e em amarelo para a glândula bulbo uretral.**



Fonte: Adaptado de Wislocki (1933).

## 2.2 Exame andrológico

É imprescindível a realização de uma avaliação física completa, incluindo inspeção de tecidos, cavidade, membros, palpação e ausculta (VAN PELT, 1974). As condições reprodutivas naturais de um macho podem ser avaliadas a partir do exame andrológico, que irá investigar diversos fatores do estado clínico e fisiológico do animal. A avaliação das condições gerais de saúde, alterações morfológicas macro e microscópicas do sêmen, comportamento reprodutivo, conformidade dos padrões da genitália interna e externa, podem indicar quais animais estão aptos a participarem de um programa de reprodução com possibilidade de maior taxa de sucesso (BARBOSA; MACHADO, 2005).

O monitoramento individual da função reprodutiva e o acasalamento controlado são necessários para o desempenho preconizado de uma colônia de criação controlada (VAN PELT, 1974). Alguns métodos para a realização de exame físico para observação da função reprodutiva foram realizados por Hartman (1932). No entanto, poucas publicações neste âmbito, para a espécie, principalmente para o gênero masculino, têm sido realizadas.

### 2.2.1 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA

A ultrassonografia é um exame de imagem utilizado na rotina da criação de primatas não humanos e pode ser aplicado para os mais variados objetivos, como avaliação de órgãos viscerais, sistema cardiovascular, auxílio guiado para outros exames como punções para citologia e biópsia de órgãos, diagnósticos e monitoramento de gestação, também para diagnóstico de patologias reprodutivas e visualização de órgãos do sistema genitourinário (HARRISON; KUBISCH, 2005). No que tange as biotecnologias de reprodução, em machos, o exame ultrassonográfico pode evidenciar informações relacionadas à função e integridade dos testículos, epidídimo e glândulas sexuais acessórias nas mais diversificadas espécies, bem como a mensuração de suas medidas geométricas (CARVALHO *et al.*, 2020; COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2013). A ultrassonografia é ainda uma grande aliada na detecção de patologias reprodutivas que podem comprometer a fertilidade de machos em diversas espécies (CHAUHAN; JHA, 2019; COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2013; CUNHA *et al.*, 2019; GONDOKUSUMO *et al.*, 2020) ou de complicações após procedimentos cirúrgicos, como vasectomias (PRAKASH; KAMAKSHI; MUTHUSAMY, 2002; SEPPAN; KRISHNASWAMY, 2014).

Adicionalmente, a ecogenicidade do parênquima testicular aferida por meio da intensidade de pixels (CUNHA *et al.*, 2019) ou da escala de cinza (CHANDOLIA *et al.*, 2006) das imagens ultrassonográficas dos testículos tem sido utilizada para avaliar o desenvolvimento e maturidade sexual. Em vista do exposto, o exame ultrassonográfico complementa o exame físico dos machos durante o monitoramento reprodutivo, seleção de reprodutores e aplicação das biotécnicas da reprodução assistida (CARVALHO *et al.*, 2020; COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2013)

### 2.2.2 COLHEITA DE SÊMEN POR ELETROESTIMULAÇÃO VIA SONDA RETAL (EER)

O exame andrológico é de suma importância para a manutenção da saúde dos animais, para um eficiente controle reprodutivo e o desenvolvimento de biotécnicas reprodutivas. Uma das etapas cruciais para sua realização é a colheita de sêmen. Diversos métodos de colheita de sêmen já foram descritos para utilização em primatas não-humanos como a eletroestimulação peniana (LANZENDORF *et al.*, 1990), eletroestimulação retal (CARVALHO *et al.*, 2016), lavagem vaginal (MORRELL *et al.*, 1996), vagina artificial (KUEDERLING *et al.*, 1996), vibroestimulação peniana (VALLE *et al.*, 2008; YEOMAN *et al.*, 1998), masturbação ou auto estimulação (THOMSEN, 2014), masturbação realizada por técnico (MARSON *et al.*, 1989; TAKASU *et al.*, 2016) e punção do epidídimo (GILCHRIST *et al.*, 1997)

A eletroestimulação via sonda retal vem sendo utilizada em várias espécies animais, incluindo primatas não humanos e, em humanos, em casos de lesão da medula espinhal e anejaculação (FURTHNER *et al.*, 2018). A primeira colheita de sêmen bem-sucedida foi realizada em carneiros por Gunn em 1936, usando uma corrente alternada de 60 V com forças eletromotrizes de 40 V. Estudos mostraram que a EER não causa lesões histológicas e endoscópicas significativas (FURTHNER *et al.*, 2018). Em animais selvagens é considerado o método mais seguro de colheita de sêmen, sendo necessário estabelecer um protocolo para cada espécie que irá se trabalhar. Porém, a resposta ao estímulo pode ter grandes variações entre machos da mesma espécie e entre sucessivas estimulações no mesmo animal, exigindo que mudanças no protocolo devam ser realizadas de acordo com a resposta do animal (DURRANT, 1990).

A técnica consiste em introduzir uma sonda munida de eletrodos, acoplado a uma fonte de alimentação (da qual serão emitidos os sinais de frequência e voltagem) na ampola retal do animal. As ondas elétricas emitem impulsos capazes de estimular os

nervos simpáticos periretais e periprostáticos e as glândulas sexuais acessórias do trato reprodutor, a fim de promover a ejaculação (O'KELLY *et al.*, 2011; WEISBROTH; YOUNG, 1965).

No processo da ejaculação, os nervos simpáticos promovem peristaltismo do ducto deferente e o fechamento do esfíncter da uretra interna para prevenir a ejaculação retrógrada (SCHAFFER *et al.*, 1989). Concomitantemente, os impulsos parassimpáticos geram contração do músculo uretral e, o nervo pudendo, promove a contração do músculo bulboesponjoso para emitir forçadamente o sêmen, podendo ser observados tremores musculares, dependendo da voltagem e posicionamento da sonda no reto (O'KELLY *et al.*, 2011; WEISBROTH; YOUNG, 1965).

Um entrave importante da EER é a necessidade de sedação para execução da mesma (KUGELMEIER, VALLE; MONTEIRO, 2010). A técnica de EER foi comparada entre animais sob contenção química e contenção física, e concluiu-se que, a partir dos indivíduos contidos de forma química, obteve-se uma colheita mais segura, além de resultar em uma manipulação menos traumática, tanto para o animal quanto para o manipulador (WEISBROTH; YOUNG, 1965). Para a realização deste procedimento sob sedação, utiliza-se mais comumente o agente químico cloridrato de cetamina (DE VILLIERS, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2010; MATSUBAYASHI, 1982; SILVA, 2005), podendo ser ou não associado a outros fármacos. A associação mais comum de fármacos utilizados na sedação para a realização do procedimento é da cetamina com a xilazina (OLIVEIRA *et al.*, 2010; SILVA, 2005).

### 2.2.3 AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS SEMINAIS

A qualidade espermática é um fator crucial para que ocorra uma fertilização e para assegurar este fator, uma boa avaliação do ejaculado se faz indispensável para a execução de programas e estudos em reprodução assistida (CARVALHO, 2016; DE VILLIERS, 2018; KUGELMEIER, 2011; SILVA, 2005; VALLE *et al.*, 2008; VIANA, 2013).

O sêmen da maioria das espécies de primatas coagula logo após a ejaculação (KUGELMEIER, VALLE; MONTEIRO, 2010). Estudos demonstraram que o coágulo seminal pode concentrar a maior quantidade de células espermáticas, variando de 30 a 90% do total (DA CUNHA SOUSA, 2018). Existe a possibilidade de que este coágulo

seminal se liquefaça em até 30 minutos, quando incubado a 37° C sob a atmosfera umidificada com presença de CO<sub>2</sub> (AGCA *et al.*, 2005).

As características seminais podem apresentar variações significativas entre as espécies, até mesmo, entre indivíduos da mesma espécie (DE VILLIERS, 2018). Nutrição, sistema de criação, estresse, método de colheita do sêmen podem influenciar diretamente estas características, bem como, fatores genéticos, estado sanitário, sazonalidade entre outros (KUGELMEIER, VALLE; MONTEIRO, 2010). Algumas características do sêmen de *M. mulatta* podem ser visualizadas na tabela 1.

**Tabela 1 - Características do ejaculado de machos de macacos rhesus.**

<b>Característica</b>	<b><i>M. mulatta</i> Média ± EPM</b>
Volume (ml)	0,34 ± 0,20 <sup>a</sup> / 0,40 ± 0,20 <sup>d</sup>
Motilidade (%)	64,00 ± 13,00 <sup>a</sup> / 69,20 ± 10,20 <sup>d</sup>
Motilidade progressiva (%)	75,52 ± 5,86 <sup>b</sup> / 84,80 ± 0,10 <sup>c</sup>
pH do ejaculado	7,90 ± 0,30 <sup>a</sup>
Concentração (x10 <sup>6</sup> spz/mL)	47,66 ± 9,21 <sup>a</sup> / 193,60 ± 122,90 <sup>d</sup>
Membrana plasmática íntegra (%)	93,22 ± 1,72 <sup>b</sup>
Acrossomo íntegro (%)	97,50 ± 2,00 <sup>c</sup>
Espermatozoides normais (%)	21,30 ± 1,60 <sup>a</sup>
Espermatozoides anormais (%)	78,70 ± 1,60 <sup>a</sup>

Fontes: a - Sitzmann *et al.*, (2010); b - Yeoman *et al.* (1997); c - calculado de Denis *et al.* (1976); d – De Villiers (2018).

De uma forma geral, essa avaliação pode ser realizada de maneira subjetiva, por um técnico devidamente treinado, ou objetiva, por meio de equipamentos informatizados, como por exemplo, o *software* CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*) (BERGSTEIN; WEISS; BICUDO, 2014). As avaliações são divididas em testes físicos, morfológicos e funcionais. Os testes físicos aplicados consistem em descrição da aparência do ejaculado, pH, mensuração de volume do ejaculado, porcentagem e grau de motilidade dos espermatozoides e capacidade de movimentos progressivos retilíneos (CARVALHO, 2016; DE VILLIERS, 2018; KUGELMEIER, 2011; SILVA, 2005; VALLE *et al.*, 2008; VIANA, 2013). Essas avaliações devem ser realizadas com sêmen

fresco para condizer com a capacidade de fertilização dos espermatozoides de uma amostra (VARNER, 2008).

Para avaliar a morfofuncionalidade dos espermatozoides, podem ser utilizadas técnicas com ou sem uso de corantes (CARVALHO, 2016; KUGELMEIER, 2011; VALLE *et al.*, 2008; VIANA, 2013). As anormalidades nas células espermáticas podem ser divididas em maiores e menores (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2013; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010). Tais anormalidades podem trazer informações importantes sobre a funcionalidade dos espermatozoides, a integridades dos testículos e epidídimos e a maturidade sexual (DE ARRUDA *et al.*, 2015).

#### 2.2.3.1 Avaliação de membrana plasmática

Para a manutenção da fisiologia do espermatozoide, é importante que suas membranas plasmáticas estejam íntegras (BERGSTEIN; WEISS; BICUDO, 2014). Além de nutrir a célula, a membrana plasmática desempenha uma função de armazenamento energético, bem como seus lipídeos promovem uma barreira, evitando, assim a entrada de outras moléculas no seu interior (ARRUDA *et al.*, 2011). Essa integridade garante uma correta motilidade ao espermatozoide (BERGSTEIN; WEISS; BICUDO, 2014). Dentre as técnicas descritas para avaliação da membrana plasmática, pode-se utilizar o corante a base de eosina-nigrosina (KUGELMEIER, 2011; VALLE *et al.*, 2008; VIANA, 2013).

#### 2.2.3.2 Avaliação de atividade mitocondrial

Outra função que deve ser avaliada no espermatozoide é o potencial da mitocôndria, estrutura celular responsável pela geração da energia pela produção de ATP, também comumente chamado de respiração celular. Esta função reflete diretamente na capacidade móvel do espermatozoide, o que está intimamente ligado a capacidade fértil (BERGSTEIN; WEISS; BICUDO, 2014). Para isto, utiliza-se a coloração de DAB, técnica que consiste na oxidação da 3,3'-diaminobenzidina (DAB) pelo complexo do citocromo C, enzima que desempenha papel fundamental no metabolismo celular, e que irá reagir, podendo ser visualizada pela coloração marrom, nos locais onde houver atividade de respiração celular, sendo assim, uma mitocôndria totalmente colorida, indica uma boa atividade (CARVALHO, 2016; HRUDKA, 1987; KUGELMEIER, 2011; VALLE *et al.*, 2008; VIANA, 2013).

### **3 OBJETIVOS**

Com base no exposto são apresentados os objetivos gerais e específicos do presente estudo.

#### **3.1 Geral**

Estabelecer um protocolo de avaliação andrológica de macacos rhesus (*Macaca mulatta*) para seleção e monitoramento de reprodutores antes e após atingirem a maturidade sexual.

#### **3.2 Específicos**

- Associar a idade dos animais estudados à biometria corporal, testicular e dosagem de testosterona.
- Comparar a biometria testicular obtida por paquímetro e fita métrica com a obtida por meio de ultrassonografia.
- Avaliar as características seminais por meio de testes físicos e morfofuncionais.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB)/ Fiocruz –RJ.

Os animais estudados pertencem ao Serviço de Criação de Primatas não Humanos (SCPrim)/ ICTB onde o manejo segue as orientações do *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2011) e a Resolução Normativa N° 28 de 13 de novembro de 2015 do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (BRASIL, 2015). Os procedimentos de manejo descritos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/ Fiocruz, sob o número de licença LW-5/ 16 (ANEXO A), protocolo P-8/ 14.5, e termo aditivo para inclusão dos procedimentos relacionados ao exame andrológico, na atividade n° 06 – Manejo reprodutivo.

### 4.1 Animais

Foram estudados 62 machos da espécie *M. mulatta*, de 3 a 14 anos, ou seja, desde a puberdade até os primeiros anos de declínio no desempenho reprodutivo (Tabela 2). Todos os animais nasceram e permaneceram no SCPrim/ ICTB/ Fiocruz.

**Tabela 2 - Quantitativo de animais por faixa etária da espécie *Macaca mulatta* participantes do estudo. Rio de Janeiro, 2020.**

Grupos	Número de animais	Faixa etária (anos)	Faixa etária (meses)	Média ± DP Idade (meses)
Grupo 1	27	3	35 a 41	39 ± 1,41
Grupo 2	9	5	60 a 63	62 ± 1,30
Grupo 3	8	8 a 11	100 a 134	115 ± 9,71
Grupo 4	7	12 a 14	146 a 170	163 ± 8,44
<b>Total</b>	<b>62</b>			

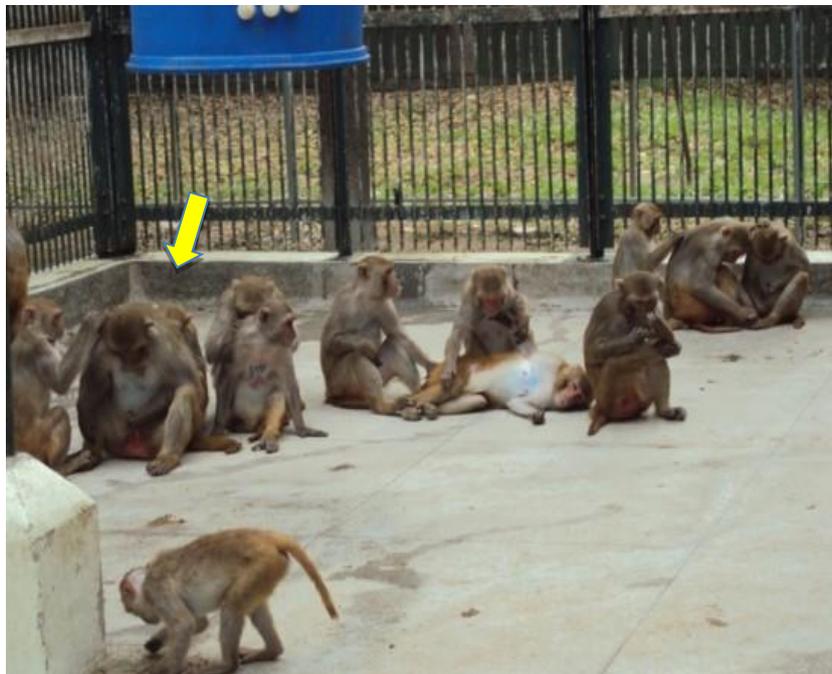
## 4.2 Condições de criação e manejo

Os exemplares de *M. mulatta* estudados foram mantidos em recintos coletivos, com dimensões e composição de grupos diferentes. Os machos dos grupos 2, 3 e 4 foram mantidos em grupos isossexuais de 5 a 10 indivíduos. Os recintos para esses grupos possuem 36 m<sup>2</sup>, com uma área reservada de refúgio de 6 m<sup>2</sup>, que serve como abrigo para condições climáticas desfavoráveis. Os machos do grupo 1 foram mantidos em seus grupos familiares, compostos por 20 a 35 animais, entre machos e fêmeas de diferentes faixas etárias (Figura 2). Esses recintos possuem uma área externa de 63 m<sup>2</sup> e uma interna (refúgio ou abrigo) de 7 m<sup>2</sup>, ambas com altura de 3,50 m (Figura 3).

Todos os recintos são equipados com bebedouros automáticos acionados pelo próprio animal, caixas d'água individuais com filtros na saída, um comedouro de aço inox embutido para alimento seco (ração) e alguns possuem comedouros em PVC para itens hortifrutigranjeiros. Os recintos também possuem mobília e itens de enriquecimento ambiental, como poleiros, tambores, troncos de árvores, balanços e correntes.

As condições de temperatura, luz e umidade seguem as condições climáticas da localidade, devido estar disposta ao ar livre. A fim de equilibrar o ambiente e amenizar o limiar de estresse dos animais, a colônia é situada numa área verde e de espaço arborizado, com plantas frutíferas e ornamentais.

**Figura 2 - Grupo familiar de *Macaca mulatta* interagindo no interior de um recinto coletivo de faixa etária variável de neonatos a idade senil. Destaque para o macho alfa manipulando a genitália e recebendo catação por duas fêmeas.**



Fonte: Arquivos SCPrim/ Fiocruz, 2019.

**Figura 3 - Foto em perspectiva diagonal de um recinto coletivo da colônia de *Macaca mulatta* do ICTB/ FICORUZ. Com destaque para a área de refúgio (seta vermelha) e área externa (seta roxa).**



Fonte: Arquivos SCPrim/ Fiocruz, 2019.

Dois machos adultos pertencentes ao grupo 3, foram mantidos em outra área do SCPrim, protegida contra vetores. Foram alojados juntos em recinto com aproximadamente 9,40 m<sup>2</sup>, distribuídos entre área interna e externa, sendo esta última de 5,80 m<sup>2</sup>, com poleiros de PVC e bambu, brinquedos, bebedouros automáticos com água filtrada, e um comedouro de aço inox. As condições de clima e iluminação também eram naturais nesse ambiente (Figura 4).

**Figura 4 - Recinto da colônia de fornecimento de *Macaca mulatta* da Fiocruz, em ambiente protegido de vetores. Destaque para o recinto onde dois machos utilizados no estudo estavam alojados.**



Fonte: Arquivos SCPrim/ Fiocruz, 2019.

Para identificação individual, todos os macacos da criação possuem uma tatuagem alfanumérica na região do tórax (Figura 5).

**Figura 5 – Sistema de identificação alfanumérica por meio de tatuagem na região peitoral adotado para as espécies do gênero *Macaca* do criadouro científico do ICTB/ Fiocruz.**



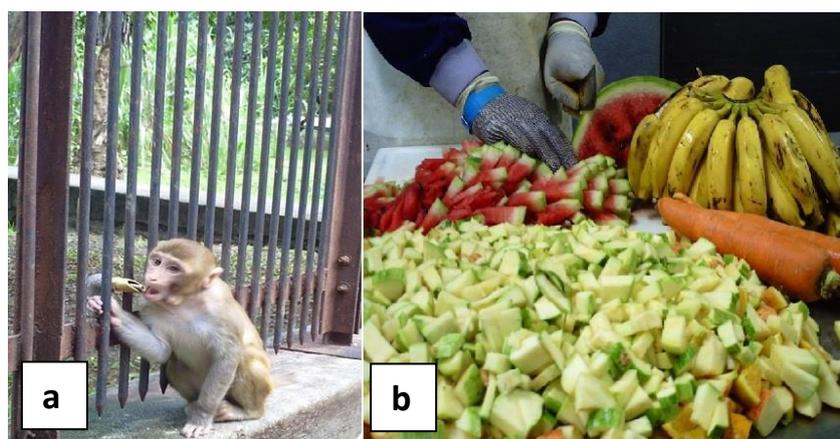
Fonte: Arquivos SCPrim/ Fiocruz, 2019.

A dieta dos animais consistiu em oferta de ração industrializada (seca), água *ad libitum*, fornecida por bebedouros ativados pelo contato dos animais (Figura 6a) e itens hortifrutigranjeiros (ração úmida) (Figura 6b).

Todas as ações de manipulação direta com os animais e materiais orgânicos proveniente dos mesmos, como, amostras biológicas, sangue, dejetos, ou que pudessem ter contato com o mesmo, incluindo objetos (alimentos, fômites, entre outros) foram manuseados utilizando equipamentos de proteção individual (EPI), uniformes esterilizados, luvas, toucas e máscaras descartáveis com filtro PFF2 ou tipo N95.

A unidade adota um programa de enriquecimento ambiental elaborado de forma a proporcionar estímulos físicos, sensoriais e cognitivos, os quais oportunizam a expressão do repertório comportamental da espécie, promovendo bem-estar dos animais cativos.

**Figura 6 - (a) Animal acionando o bebedouro. (b) Preparo da ração úmida.**

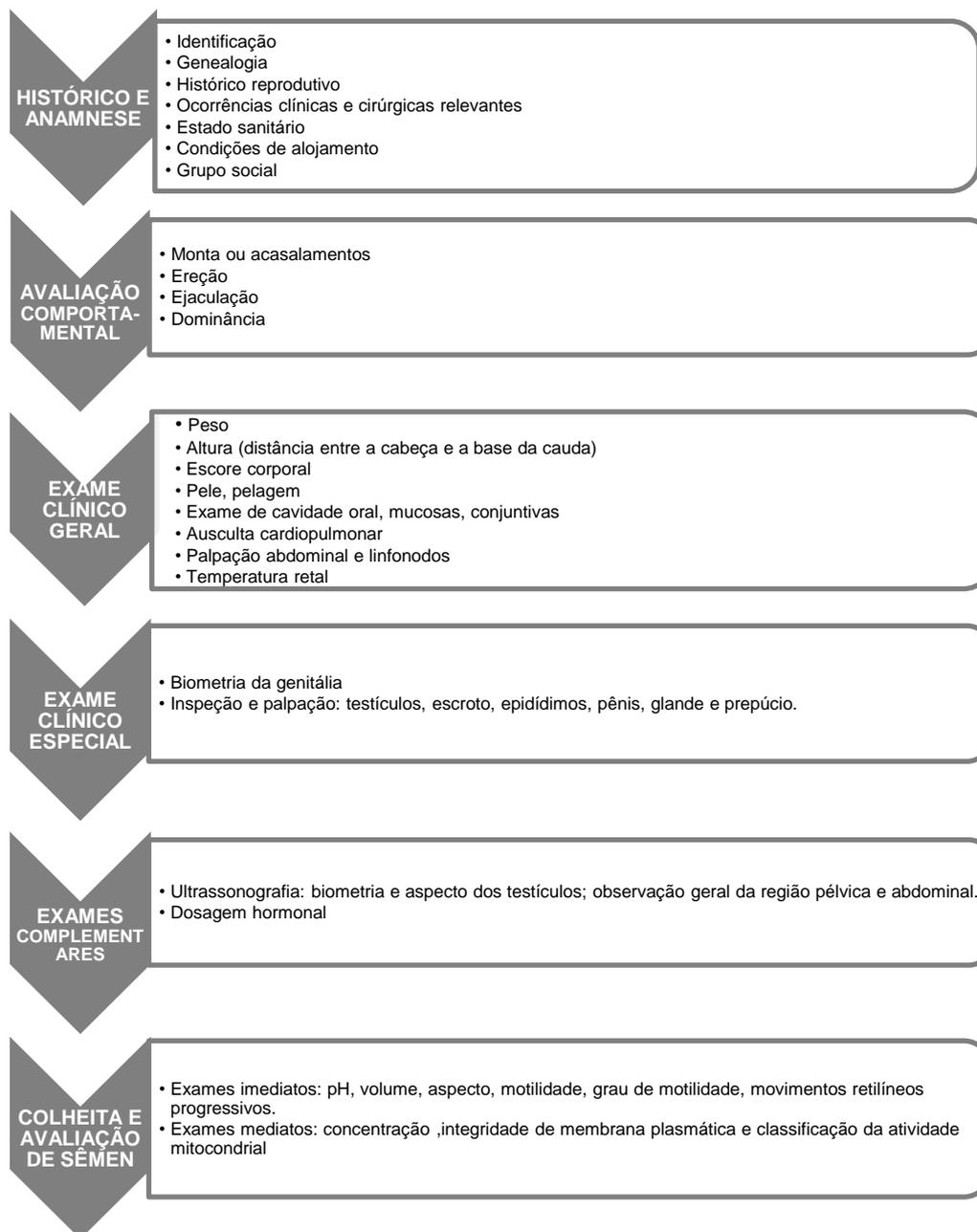


Fonte: LEAL (2016).

### 4.3 Exame andrológico

O exame andrológico realizado foi composto pelas seguintes etapas (Figura 7):

**Figura 7 - Etapas de todo o processo do exame andrológico de *Macaca mulata* adotado no estudo.**



Fonte: Elaboração própria. Rio de Janeiro, 2020.

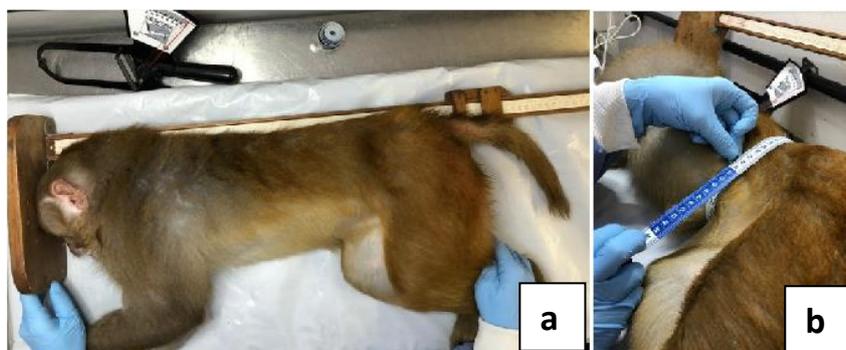
#### 4.3.1 EXAME CLÍNICO GERAL

Para a realização dos exames clínicos e complementares, os animais foram contidos conforme protocolo CEUA – Fiocruz P-8/14.5, licença LW-5/16. Animais da faixa que compreende os 3 anos de idade (Grupo 1), foram sedados com a associação de cetamina 10 mg/kg + midazolam 0,1 mg/kg por via intramuscular, nos meses de março e abril de 2019. Os animais de 5 a 14 anos de idade (Grupos 2, 3 e 4) foram sedados com a associação comercial de tiletamina + zolazepam 2 mg/kg (Zoletil<sup>®</sup>, Virbac Brazil) por via intramuscular, entre os meses de fevereiro e março de 2020. A escolha feita baseada no tempo de efeito. Nos animais do grupo 1, o protocolo instituído mantinha os animais imóveis e relaxados por aproximadamente 50 minutos (tempo médio para realização dos exames), o que não ocorreu com animais a partir do grupo 2 em diante, que começaram a se mover com menos tempo, desta maneira, dificultando a execução plena do exame, deste modo, optou-se pelo protocolo sedativo (antes testado) que demonstrou maior tempo de duração.

Na avaliação física, foram examinados minuciosamente pele, pelagem, cavidade oral, mucosas, olhos, membros, dígitos, seguindo de palpação abdominal, linfonodos, grau de hidratação, tempo de preenchimento capilar, turgor cutâneo, ausculta cardiopulmonar e aferição de temperatura retal.

A pesagem foi realizada em balança eletrônica<sup>1</sup>. A medida da cabeça à base da cauda foi obtida em centímetros (cm) com auxílio de segmômetro (Figura 8a). A circunferência do braço, tórax e abdômen (Figura 8b) foram obtidas por fita métrica e os valores das pregas subescapular, abdominal e do tríceps foram por meio de plicômetro.

**Figura 8 - (a) Obtenção da altura (corpo cabeça) por meio de segmômetro.  
(b) Obtenção de circunferência abdominal por meio de fita métrica.**



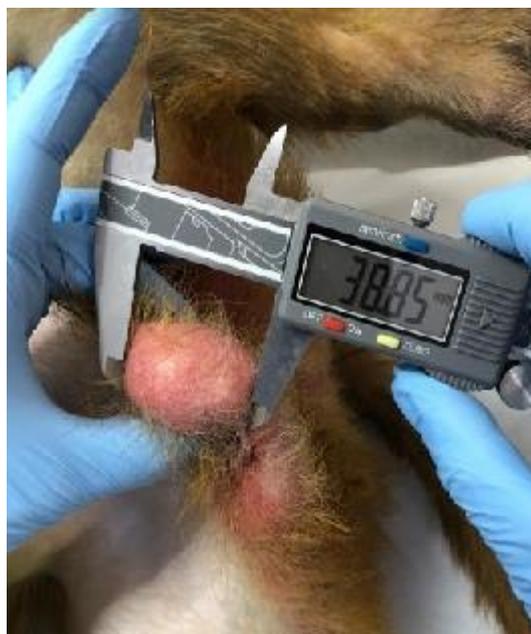
<sup>1</sup> LD 2051, Líder<sup>®</sup>, K.C.R.S Comércio de equipamentos, Eireli, Araçatuba/SP, Brasil

Fonte: SCPrim/ Fiocruz, 2020.

#### 4.3.2 EXAME CLÍNICO ESPECÍFICO

A biometria da genitália foi realizada com paquímetro digital em milímetros (mm)<sup>2</sup>, foram mensurados os diâmetros longitudinais (DL – comprimento), transversais (DT – profundidade) e látero-laterais (DLL – largura) dos testículos, pênis (excluindo o prepúcio) e glande (Figura 9). O escroto na espécie é classificado como inguinal penduloso, e a circunferência foi obtida em cm, por meio de fita métrica fina. Foram avaliados ainda aspectos como: simetria bilateral dos testículos, classificada em simétrico ou assimétrico (avaliação subjetiva quando havia desigualdade evidente entre o tamanho dos dois testículos); coloração do escroto: róseo, enegrecido, esbranquiçado, amarelado, avermelhado ou arroxeadado; consistência do testículo: firme, macio ou endurecido; mobilidade dos testículos se estava móvel ou fixo/aderido e coloração dos órgãos genitais externos com presença ou não de lesões, cicatrizes ou manchas. Os epidídimos estavam incluídos nas mensurações somados ao tamanho dos testículos.

**Figura 9 - Mensuração de comprimento (DL) do testículo através do paquímetro.**



Fonte: Arquivos SCPrim/ Fiocruz, 2020.

---

<sup>2</sup> King - Tools® Qualy comercial LTDA – EPP, Passos/MG

### 4.3.3 EXAMES ULTRASSONOGRÁFICOS

Os exames dos animais que compreendem a faixa etária entre 3 e 4 anos (grupo 1) foram realizados com aparelho digital<sup>3</sup>, com transdutor microconvexo, nas frequências de 6 a 8 MHz. Nos animais entre 5 e 14 anos (grupos 2, 3 e 4), foram realizados os exames com outro aparelho digital<sup>4</sup> com transdutor linear, nas frequências de 8 MHz. Foram avaliadas as estruturas abdominais e pélvicas, com especial atenção aos órgãos genitais internos (próstata, glândulas seminais e glândula bulbouretral) e externos (testículos, epidídimos e escroto). As mensurações biométricas das medidas testiculares foram individualmente obtidas através do software do aparelho em milímetros para: diâmetros longitudinal, transversal e látero-lateral, e em centímetros para a circunferência

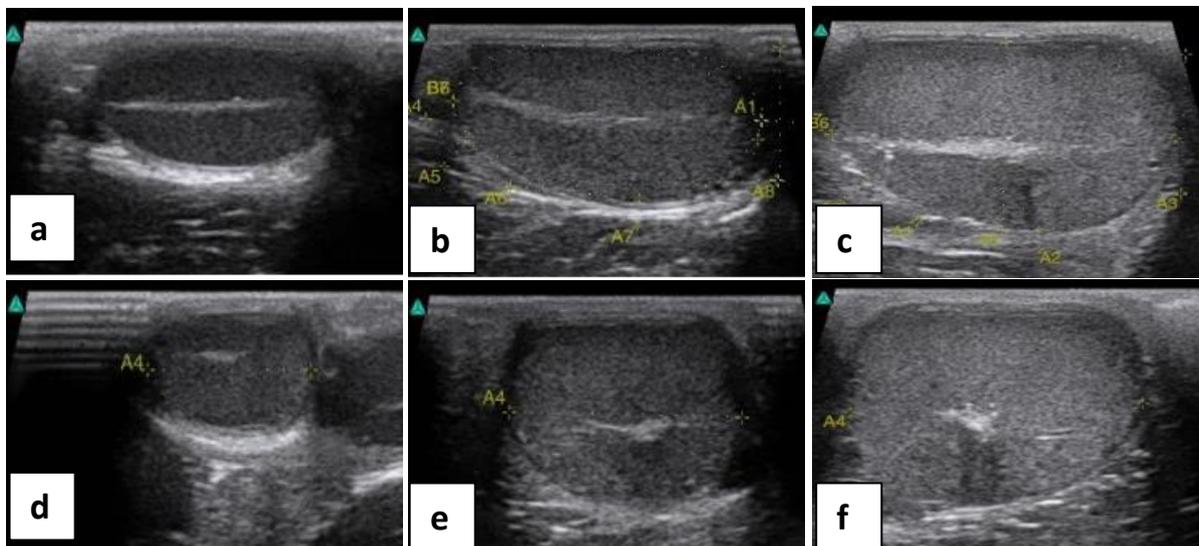
Adicionalmente observou-se a forma do contorno da estrutura, classificado em regular ou irregular; textura homogênea ou heterogênea do parênquima e aspecto da imagem, classificado em: hipocogênico +, hipocogênico ++ ou hiperecogênico (Figura 10).

---

<sup>3</sup> Chison® Vet 9300, CSX Comercial Eireli, Rio de Janeiro/RJ King - Tools® Qualy comercial LTDA – EPP, Passos/MG

<sup>4</sup> Magnus X5, Alfa Med Sistemas Médicos LTDA., Lagoa Santa, MG

**Figura 10 - Imagens ultrassonográficas de testículos de *Macaca mulatta* participantes do estudo, nos cortes LONGITUDINAL: a) Testículo classificado como hipocogênico ++; b) Testículo hipocogênico +; c) Testículo hiperecogênico e TRANSVERSAL: d) Testículo classificado como hipocogênico ++; e) Testículo hipocogênico +; f) Testículo hiperecogênico.**



Fonte: SCPrim/ Fiocruz, 2019.

Para cálculo de volume testicular, foi utilizada a fórmula para estruturas elipsoidais regulares individuais a cada testículo (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2013; HARRISON *et al.*, 1977), tanto para as mensurações com paquímetro, quanto para as realizadas por meio de ultrassonografia:

$$\text{Vol} = 4/3 \pi (C/2) L^2$$

Onde:  $\pi = 3,1416$ ; L = Largura e C = Comprimento.

Todas as informações do exame clínico geral, especial e ultrassonográfico foram registradas em formulários individuais de Exame Andrológico – parte 1, desenvolvidos durante o estudo (APÊNDICE A).

A circunferência testicular foi obtida para os grupos 2, 3 e 4. Para o grupo 1 não foi possível obter esta mensuração, pois os testículos, mesmo os que já haviam se posicionado no escroto, ainda não eram pendulosos, como observado nos animais a partir de 5 anos em diante, além de muito pequenos. Assim, envolvê-los com a fita métrica foi inviável.

Durante todos os exames, os animais permaneceram interligados a um monitor multiparamétrico para monitoramento de pressão arterial, frequência cardíaca, respiratória, temperatura corporal e saturação parcial de oxigênio.

#### 4.3.4 DOSAGEM DE TESTOSTERONA SÉRICA

Os animais foram submetidos a colheita de 4 mL de sangue por venopunção femoral, em tubos contendo gel separador de coágulo. Após 15 minutos de centrifugação a 1500x g, o soro foi acondicionado em microtubos de polipropileno com capacidade para 2 mL e armazenado em freezer a -70° C até o momento da análise. A dosagem de testosterona foi realizada pelo método de quimioluminescência. Para as dosagens utilizou-se o sistema automatizado de quimioluminescência<sup>5</sup> e o conjunto diagnóstico comercial para testosterona total<sup>6</sup>. O ensaio hormonal foi realizado de acordo com o protocolo fornecido pelo fabricante. O método baseia-se em um imunoensaio competitivo de fase sólida, com tecnologia de quimioluminescência direta. A sensibilidade do ensaio foi de 15 ng/dL ou 0,15 mg/mL e o coeficiente de variação intra e interensaios de 6,8 e 13% e total de 7,7 a 16,4%. Os resultados das leituras no aparelho foram expressos em ng/dL.

Amostras com valores abaixo da sensibilidade (não detectáveis), foram encaminhadas para ensaios pela técnica de eletroquimioluminescência com o conjunto diagnóstico comercial Elecsys Testosterone II (Cobas® Roche Diagnostics). Os anticorpos de captura e revelação eram monoclonais para dosagem de testosterona humana. A faixa de mensuração do ensaio foi de 0,025 a 15 ng/mL ou 2,5 a 1500 ng/dL, com coeficientes de variação menores que 20%.

#### 4.3.5 COLHEITA E AVALIAÇÃO DO SÊMEN

Para a realização da eletroestimulação retal (EER), os animais foram sedados com cetamina 7,5 mg/kg associados a xilazina 0,5 mg/kg por via intramuscular. As estimulações para colheita de sêmen foram realizadas duas vezes por semana, sendo dois animais por dia, portanto quatro por semana.

---

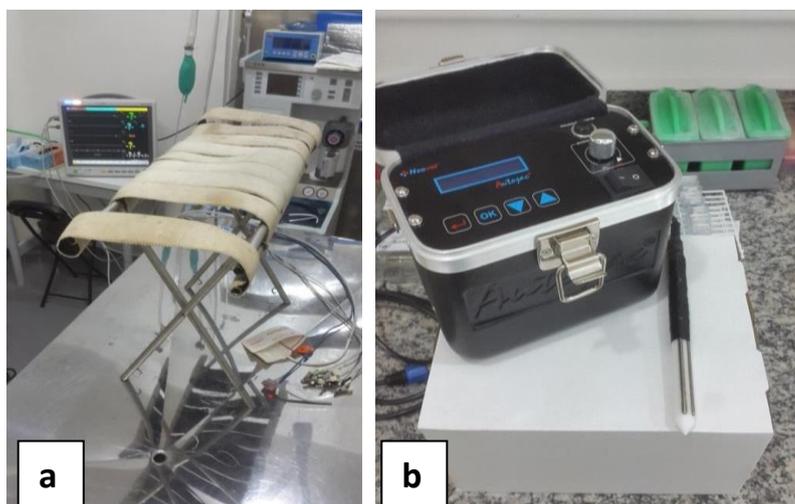
<sup>5</sup> Listed Laboratory Equipment 7 C20 UL®, MH 15423, série 3975, DPC Immulite I

<sup>6</sup> Immulite® 1000 Systems, Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd, Glyn Rhonwy, Llbamberis, Gwynedd LL55 4 EL, Reino Unido

#### 4.3.5.1 Protocolo de eletroestimulação retal (EER) e obtenção de sêmen

Após a contenção química, o animal foi mantido em ambiente com redução de luminosidade e ruído, posicionado em decúbito ventral, sobre suporte confeccionado especificamente para a colheita, a fim de possibilitar o acesso ao pênis (Figura 11a). A genitália foi então higienizada com água e detergente neutro, seguida da secagem com papel toalha, a fim de evitar a contaminação da amostra de sêmen. A EER foi realizada com aparelho de estimulação manual<sup>7</sup> cuja probe possui 16 cm de comprimento por 01 cm de diâmetro e contém duas barras de eletrodos paralelos (Figura 11b).

**Figura 11 - (a) Suporte adaptado para posicionamento de macaco rhesus (b) Aparelho de eletroestimulador por sonda retal.**



Fonte: Arquivos SCPrim/ Fiocruz, 2019.

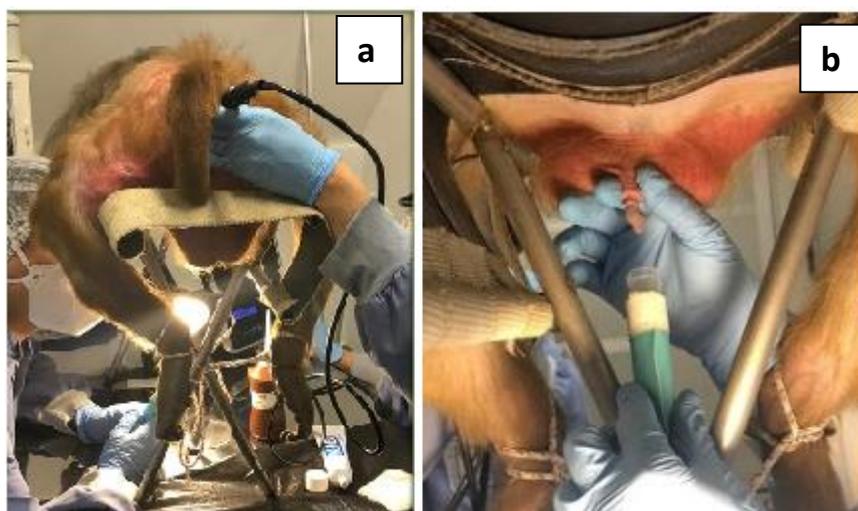
A probe, previamente lubrificada com gel lubrificante íntimo (ex.: K-Y<sup>®</sup>, Lubrigel<sup>®</sup>, K-Med<sup>®</sup>, entre outros), foi inserida cerca de 5 cm no reto do animal, o restante da probe foi isolada com fita isolante para evitar choques na região do ânus, os eletrodos da superfície ficaram posicionados próximos à região prostática (Figura 12a). Cada série de estímulo foi composta por 10 a 30 estímulos, com duração de 3 a 4 segundos e descanso de 1 a 2 segundos entre estímulos sucessivos. A estimulação iniciou-se com frequência de 2,0 V, seguida de aumentos de 0,5 V entre cada série de estimulação, não ultrapassando 8,0 V, com descanso de 30 segundos entre cada troca de voltagem. Em alguns casos, a estimulação elétrica foi complementada pela estimulação retal digital na altura da

<sup>7</sup> Autojac<sup>®</sup>, Neovet, Uberaba/ MG

próstata. O tempo máximo de estimulação foi de 30 minutos, após o qual o animal retornou para a gaiola de transporte e, após a completa recuperação anestésica, ao recinto de origem.

Todos os dados referentes à estimulação e colheita foram anotados no formulário de estimulação e colheita de sêmen por EER (APÊNDICE B). As amostras adquiridas foram colhidas em tubos de polipropileno transparentes tipo Falcon com capacidade para 15 mL, mantidos aquecidos em banho-maria<sup>8</sup> a 37°C (Figura 12b).

**Figura 12 - (a) Probe posicionada na região da ampola retal do animal durante o procedimento. (b) Posicionamento do tubo de polipropileno para a coleta da amostra.**



Fonte: Arquivos SCPrim/ Fiocruz, 2019.

As avaliações das características físicas, morfológicas e funcionais do sêmen foram realizadas conforme descrito no Manual de Exame Andrológico do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (2013) e no *Laboratory manual for the examination and processing of human semen* (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010), com adaptações.

Foram realizados 32 procedimentos de eletroestimulação retal em 27 machos com idade de 55 a 165 meses entre os meses de setembro e novembro de 2019, sendo 22 animais estimulados uma única vez e 5, duas vezes durante o período. Todos os animais submetidos ao procedimento já haviam sido pré-selecionados por meio de observações comportamentais, saúde corporal, grau de hierarquia no grupo familiar e avaliação prévia de genealogia.

---

<sup>8</sup> Quimis®, MOD. 334.28, Diadema/ SP

#### 4.3.5.2 Exames imediatos

Imediatamente após a colheita, foram avaliadas macroscopicamente e microscopicamente as características físicas instantâneas do sêmen:

##### 4.3.5.2.1 *Aspecto do ejaculado*

A amostra obtida foi avaliada por macroscopia dentro do tubo graduado de polipropileno (10 mL) onde era acondicionada imediatamente após obtenção. O sêmen foi classificado em aspecto leitoso, aquoso, branco, amarelado ou róseo. Foi observada também a presença ou ausência de coágulo seminal.

##### 4.3.5.2.2 *pH*

O pH foi medido imediatamente após obtenção da amostra, com auxílio da fita para medição de pH, imersa no ejaculado por 3 - 5 segundos e após comparado com a cor na tira das cores da tabela de referência (ácido, alcalina ou neutro).

##### 4.3.5.2.3 *Volume seminal*

Quando na presença de coágulo seminal, o volume foi estimado pela diferença quantitativa no tubo ao acrescentar um mL de meio diluidor TALP-HEPES.

##### 4.3.5.2.4 *Motilidade*

Foi adicionada a lâmina aquecida (37° C) um volume de 20 µL de amostra e sobre esta, adicionada uma lamínula igualmente aquecida para avaliação em microscópio óptico no aumento de 400x, com a observação de 3 a 4 campos por lâmina. A motilidade foi classificada subjetivamente, numa escala de 0 a 100%, sendo 0% para nenhum dos espermatozoides móveis e 100% para todos móveis, realizado até no máximo 30 minutos após a obtenção da amostra.

##### 4.3.5.2.5 *Movimento retilíneo progressivo (MRP)*

A avaliação do grau de MRP também foi subjetiva, realizada da mesma maneira descrita para a motilidade, porém a classificação seguiu numa escala de 0 a 5, a fim de avaliar a qualidade do movimento (YEOMAN *et al.*, 1998), sendo:

- ❖ 0 = Sem movimento;
- ❖ 1 = Espermatozoides se mexem, mas sem progressão retilínea;
- ❖ 2 = MRP lento;
- ❖ 3 = MRP bom;
- ❖ 4 = MRP rápido;
- ❖ 5 = Espermatozoides com movimentos rápidos da cauda e de amplitude alta, hiperativados, contudo, sem progressão retilínea.

#### 4.3.5.3 Exames mediatos

Após a realização dos exames imediatos, as amostras foram submetidas as análises a seguir.

##### 4.3.5.3.1 *Concentração espermática*

A concentração espermática foi determinada em câmara de hematimetria (Neubauer<sup>®</sup>), utilizando-se as recomendações usuais para contagem de células sanguíneas. Para tanto, uma alíquota de 10  $\mu\text{L}$  da amostra foi transferida para um microtubo de polipropileno (1,5 mL) vedado com parafilme para laboratório, contendo 90  $\mu\text{L}$  de solução formol salina 10% tamponada a 37° C (diluição 1:10). Os tubos ficaram armazenados em geladeira de 2 a 8° C até a análise. Foi então aspirado 10  $\mu\text{L}$  da solução homogeneizada e colocado com auxílio da ponteira entra a câmara e a lamínula, até o pleno preenchimento da região de contagem. Com microscópio óptico em aumento de 40x foram contadas 100 a 200 células dentro dos 25 quadrados grandes observados na câmara.

##### 4.3.5.3.2 *Integridade de membrana plasmática*

Para essa avaliação utilizou-se a coloração eosina + nigrosina. Foram adicionados 5  $\mu\text{L}$  da amostra de sêmen com 5  $\mu\text{L}$  de eosina (1%) em microtubo de polipropileno de 500  $\mu\text{L}$ , 30 segundos depois, foi acrescentado 5  $\mu\text{L}$  de nigrosina (1%) e homogeneizado cuidadosamente. Após, foi retirado uma alíquota de 5  $\mu\text{L}$  da solução e colocado sobre

uma lâmina de vidro, para a realização de esfregaço e posterior leitura em microscópio com aumento de 400 X. Preconizou-se contabilizar 200 espermatozoides. Foram considerados não íntegros os espermatozoides que apresentaram a coloração rósea e íntegros os que não se apresentaram corados.

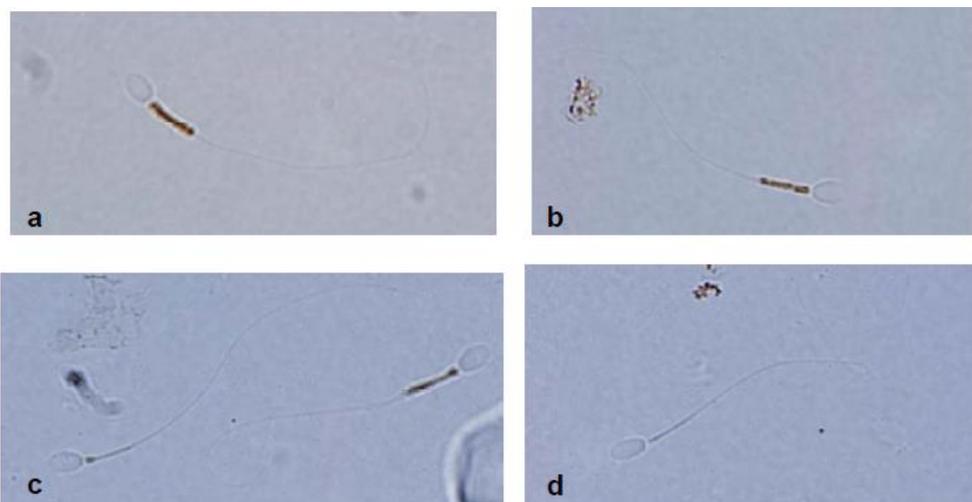
#### 4.3.5.3.3 *Atividade mitocondrial (DAB)*

A atividade mitocondrial foi avaliada pela coloração de DAB (3,3' diaminobenzidina). Foram contadas de 100 a 200 células no microscópio óptico em aumento de 100x sob imersão (HRUDKA, 1987), na qual o percentual de células foi classificado em (Figura 13):

- ❖ Classe I: praticamente todas as mitocôndrias ativas, coloração castanha, aparência da bainha mitocondrial de um cilindro compacto e proeminente.
- ❖ Classe II: Bainha mitocondrial fragmentada, com segmentos ativos (corados) e inativos (não corados), porém com predominância de segmentos corados.
- ❖ Classe III: Menos da metade da bainha mitocondrial ativa, com poucos segmentos corados e dispersos.
- ❖ Classe IV: Bainha mitocondrial inativa, ausente de coloração.

Todas as informações das análises das amostras seminais foram registradas em formulários individuais de análise de sêmen, desenvolvidos durante o estudo (APÊNDICE C).

**Figura 13 - Fotomicrografia de espermatozoides de *Callithrix jacchus* corados por DAB. (a) Classe I, (b) Classe II, (c) Classe III e (d) Classe IV, em microscopia de luz com campo claro, objetiva 100x sob imersão em óleo.**



Fonte: Valle, Rodrigo del Rio, 2007

#### **4.4 Análise estatística**

As análises descritivas de massa corporal, altura, testosterona e medidas do pênis e glânde foram realizadas a partir do programa BioEstat (5.3).

Foi realizada a análise de Variância (ANOVA) a fim de se testar a variação entre as técnicas para as variáveis de biometria testicular pelas técnicas de paquímetro e ultrassonografia com desdobramento pelo teste de Tukey para a comparação entre as médias. A fim de se analisar o efeito do volume testicular e da idade sobre a testosterona foi realizada a regressão linear sendo esta última fixada a priori como variável dependente. Foi realizada correlação de Pearson para as variáveis de massa corporal, idade, biometria corporal e biometria testicular (considerado apenas os valores do testículo esquerdo para paquímetro e ultrassonografia). A correlação de Pearson também foi aplicada para avaliar o volume testicular por paquímetro e ultrassonografia.

Para todas as análises supracitadas, foi utilizado o programa SPSS (18.0) sendo testados os valores de significância de 5 e 1% de probabilidade.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

À avaliação andrológica, nos oito animais excluídos do grupo 1 verificou-se, no exame físico da genitália, que um ou ambos os testículos ainda permaneciam no canal inguinal, impossibilitando, assim, a obtenção de medidas testiculares. Esta variável pode estar diretamente relacionada ao amadurecimento sexual. Os volumes testiculares, ganhos de peso e secreção de testosterona, elevam significativamente com o início da puberdade, a partir dos três anos de idade, sendo mediada por importantes fatores como a classificação social de um determinado indivíduo no seu grupo, no qual animais melhores classificados irão demonstrar um desenvolvimento anatômico e fisiológico mais precocemente do que os demais (MANN *et al.*, 1998). No entanto, os animais púberes que aparentam menor desenvolvimento físico, deverão ser avaliados novamente algum tempo depois, pois é possível concluir que a partir de três anos de idade já são capazes de gerar descendência (BERNSTEIN, 1991), como também evidenciado nos registros da colônia no ICTB.

Após a obtenção das médias e respectivos desvios padrões para as medidas testiculares de cada grupo, mais um animal do grupo 3 e dois animais do grupo 4 foram igualmente excluídos das análises estatísticas. O animal do grupo 3 foi excluído por apresentar dimensões testiculares (direito: 9,42 cm<sup>3</sup> e esquerdo: 12,10 cm<sup>3</sup>) muito menores do que a da média do grupo (25,50 cm<sup>3</sup> e 24,05 cm<sup>3</sup>, para direito e esquerdo, respectivamente). O valor de massa corporal desse animal também foi muito baixo (10,60 kg), quando comparado à média para o grupo (14,83 ± 1,09 kg). Adicionalmente, o animal apresentava histórico de diversos envoltimentos em brigas, que puderam ser evidenciadas pelas cicatrizes no corpo, além de uma deambulação diferente dos demais à observação no recinto, sugerindo a ocorrência de alguma dificuldade de locomoção.

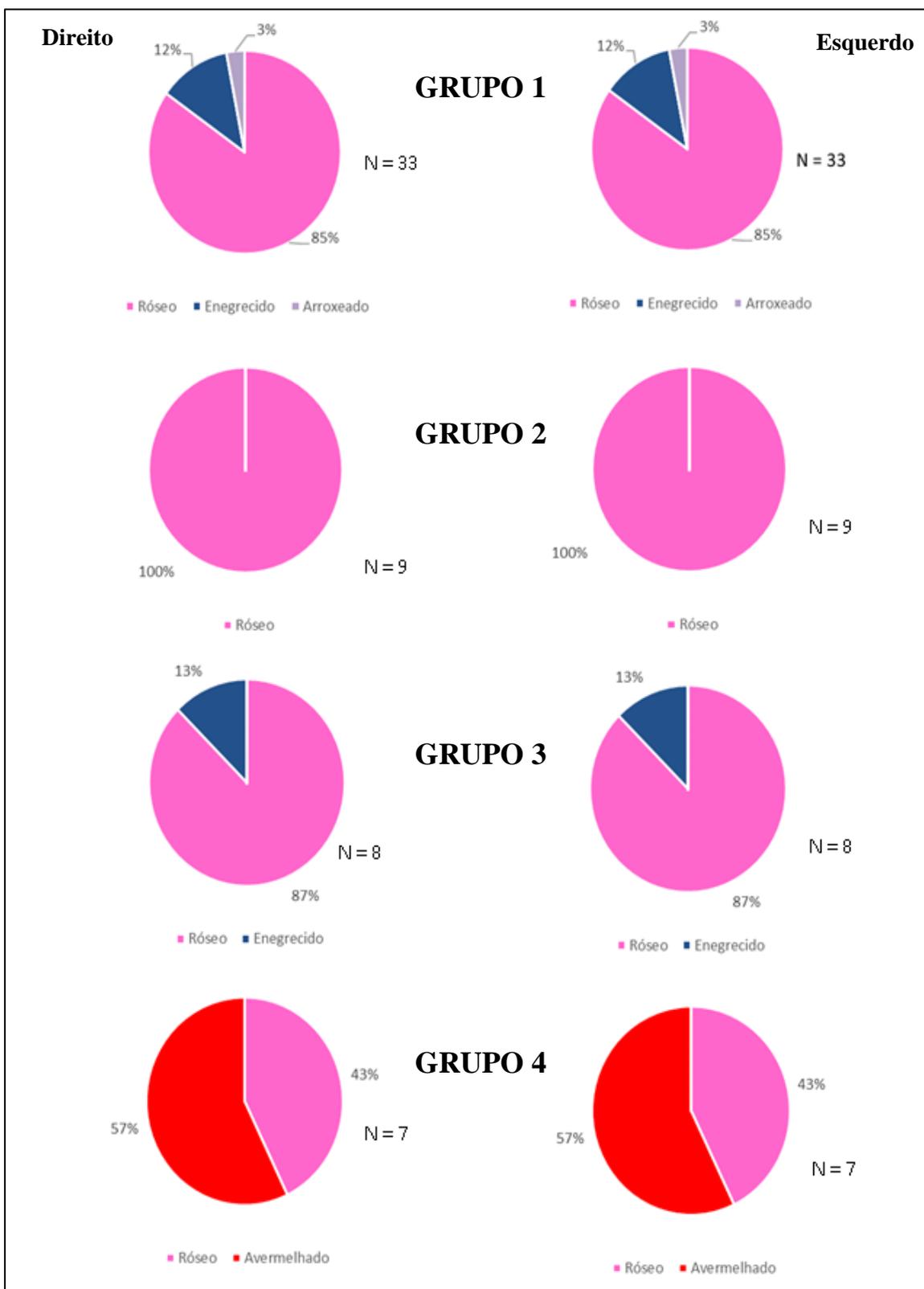
No grupo 4, um dos animais foi excluído pelos mesmos fatores que motivaram a exclusão do animal do grupo 3, exceto pelo envolvimento em brigas. Esse animal apresentou média de massa corporal de 10,40 kg e dos volumes testiculares direito e esquerdo de 5,41 cm<sup>3</sup> e 8,72 cm<sup>3</sup>, respectivamente. O outro animal desse grupo foi excluído por apresentar uma assimetria testicular acentuada, sendo o volume do testículo esquerdo (33,01 cm<sup>3</sup>) bem maior do que o direito (9,86 cm<sup>3</sup>), apresentando também alterações ao exame ultrassonográfico, como textura heterogênea, aspecto hipocogênico e contorno irregular.

As alterações observadas nos animais dos grupos 3 e 4 configuram critérios de exclusão de um programa de reprodução. Parâmetros como simetria, consistência, forma e tamanho testiculares, associados ao espermograma devem ser avaliados para a identificação de patologias que podem interferir negativamente no sucesso de programas de reprodução assistida (DE ARAUJO *et al.*, 2009). Algumas constatações sobre o tamanho testicular já foram anteriormente descritas como estados sugestivos de patologias. Segundo a revisão de Bicudo e colaboradores (2007), em bovinos, a hipoplasia testicular consiste em túbulos seminíferos pouco desenvolvidos, de gravidade variável, já as hiperplasias estão frequentemente relacionadas a patologias, como tumores e microlitíases testiculares em macaco cynomolgus (*Macaca fascicularis*) (SHIRAI; EVANS, 2018). Basaria (2013) indica que, em humanos, a atrofia testicular está relacionada à diminuição no número de células de Leydig, o que acarreta uma redução na capacidade secretora de testosterona e GnRH em homens idosos. Garcia (2017) complementa a informação de que atrofias podem estar relacionadas à fibrose do tecido intersticial dos testículos, por disfunção ou degeneração patológica ou idiopática.

### **5.1 Avaliação macroscópica do escroto**

A coloração predominante encontrada, de uma maneira geral, foi a avermelhada, podendo ser mais ou menos intensa. O tom avermelhado de menor intensidade foi denominado róseo. A análise foi realizada em 33 animais do grupo 1, dos quais 28 (85%) foram caracterizados como rósea, 4 (12%) enegrecida e apenas 1 (3%) com coloração arroxeadada. Em dois animais do grupo 1 não foi possível realizar esta análise, pois apresentavam-se ainda pouco desenvolvidos fisicamente, sendo impraticável fazer a distinção entre a pele da região perineal e o escroto. Nos demais grupos, todos os animais foram avaliados, sendo o grupo 2 caracterizado por todos os 9 animais (100%) com coloração rósea. No grupo 3 foram observados 8 animais (87%) com a bolsa rósea e 1 (13%) com a coloração em tom enegrecido. O grupo 4 caracterizou um percentual maior de coloração avermelhada, 4 animais (67%) contra 3 com a coloração rósea (33%) (Figura 14).

**Figura 14 - Gráficos ilustrativos da coloração observada no escroto de *Macaca mulatta* do presente estudo.**



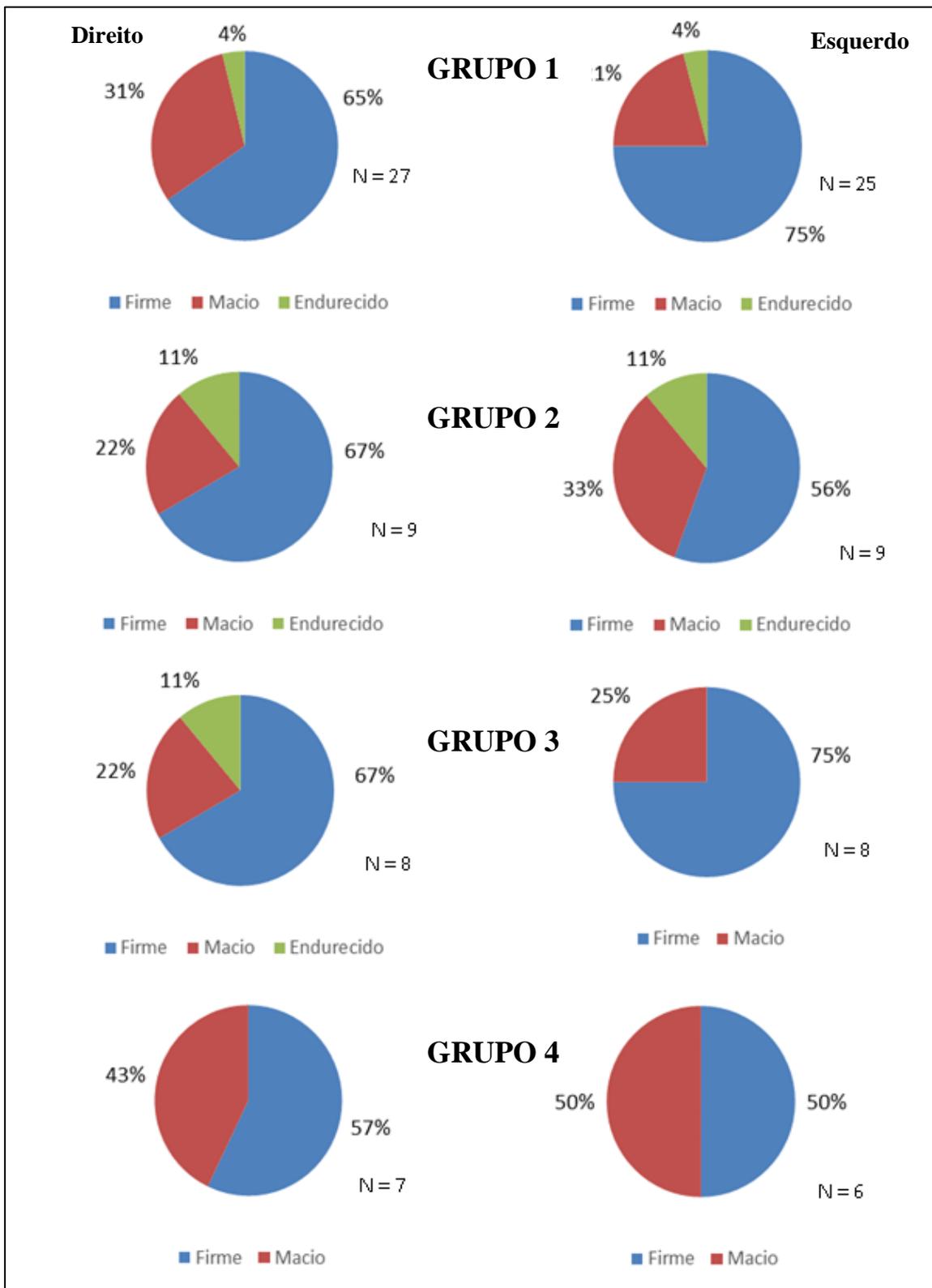
Legenda: Grupo 1 - 3 anos; Grupo 2 - 5 anos; Grupo 3 - 8 a 11 anos; Grupo 4 - 12 a 14 anos.  
 Fonte: Elaboração própria. Rio de Janeiro, 2020.

A coloração da pele, relacionada a questões sexuais e comportamentais, em especial, é um parâmetro bastante estudado em primatas não humanos. Rhodes e

colaboradores (1997) afirmam que o *sex skin* no macaco rhesus é controlado pelo nível de estrogênio, de forma que o fluxo sanguíneo aumenta nas regiões onde existem mais receptores para este. A testosterona é convertida em estrogênio pela aromatase, desta maneira, os pesquisadores sustentam a hipótese de que maiores níveis de testosterona estão conseqüentemente relacionados a colorações mais avermelhadas. Setchell e Dixson (2001) afirmam que os macacos mandris (*Mandrillus sphinx*) são capazes de evidenciar um aumento significativo na intensidade da coloração, bem como aumento de volume testicular e massa corporal ao alcançarem a liderança nos seus bandos, ao passo que se perderem essa dominância por uma eventual disputa com outros machos, esses parâmetros tendem a diminuir novamente. Em macacos rhesus, entretanto, essa coloração não parece estar relacionada diretamente à dominância, segundo Dubuc *et al.*, (2014). A pesquisadora sugere que, em *M. mulatta*, a intensidade da coloração avermelhada é dependente do nível de saturação de oxigênio na região e pode fornecer uma informação intrínseca relacionada ao estado de saúde dos animais, pela relação íntima com o sistema circulatório, sofrendo influências de fatores endógenos e exógenos, bem como estresse. Nos animais do presente estudo, a coloração avermelhada foi observada em praticamente todos os animais, contudo, o vermelho intenso, bem acentuado foi observado apenas em animais do grupo 4. Durante todo o ano estes animais apresentam a coloração mais avermelhada que os semelhantes de idade inferior, sendo mais exacerbada no período reprodutivo, deste modo, acreditamos que a intensidade desta coloração possa estar intimamente relacionada com a idade mais avançada, no entanto, não é possível comprovar, necessitando assim, mais testes neste âmbito.

Nos animais deste estudo, foi observada uma variação expressiva na consistência dos testículos. A partir dos 11 anos de idade, os testículos demonstraram uma tendência à consistência mais macia do que nas idades anteriores (Figura 15). A consistência dos testículos não foi avaliada bilateralmente em dois dos animais do grupo 1 e em um animal do grupo 4, pois devido a imaturidade, só havia um testículo posicionado no escroto e o outro no canal inguinal nos dois primeiros casos e no animal do grupo 4, um dos testículos estava coberto por uma considerável camada de gordura, dificultando uma avaliação precisa de sua consistência. Este parâmetro é comumente avaliado em exames andrológicos em diversas espécies, incluindo os primatas não humanos (DE ARAUJO *et al.*, 2009), podendo indicar possíveis degenerações da gônada por variadas etiologias, como estresse térmico induzidos pelo excesso de gordura local, bem como processos infecciosos, lesões vasculares, torção testicular, entre outras (GARCIA, 2017; MILLER; BOEVER, 1987).

**Figura 15 - Gráficos ilustrativos da consistência testicular de *Macaca mulatta* avaliada por meio de palpação digital.**



Legenda: Grupo 1 - 3 anos; Grupo 2 - 5 anos; Grupo 3 - 8 a 11 anos; Grupo 4 - 12 a 14 anos.  
 Fonte: Elaboração própria. Rio de Janeiro, 2020.

A consistência dos testículos tem sido associada à qualidade espermática, e esta consistência pode ser dividida em graus de flacidez, firmeza, elasticidade e rigidez, onde a flacidez excessiva ou a rigidez podem indicar padrões alterados, como deficiências nas estruturas do tecido intratesticular e fibrose do parênquima, respectivamente (SANTOS; SIMPLÍCIO, 2000). Tais condições podem influenciar diretamente na espermatogênese. Fróis (2015) indica que em equinos, a degeneração pode estar também relacionada à senilidade, bem como em felinos selvagens, cães e grandes primatas (DOMINGOS; SALOMÃO, 2011; LOWENSTINE; MCMANAMON; TERIO, 2016; ARAUJO *et al.*, 2020). Segundo Asquith (2012), a senilidade em macacos rhesus ocorre em torno dos 19 anos de idade. Desta forma, animais de idade entre 11 e 14 anos não são considerados senis. Contudo, isto não impede que animais nesta faixa etária já apresentem um declínio nas funções fisiológicas, com alterações anatômicas ou não, como verificado nesse estudo. Outros fatores a serem levados em consideração seriam de que estes animais não estão em recintos coletivos com fêmeas, somente com machos, há anos, ou seja, já não participam de atividades reprodutivas, visto que dimensões e volume dos testículos são maiores devido a competição espermática, que aumentaria expressivamente na presença de fêmeas, bem como a variação anatômica que pode ocorrer durante as estações do ano (DIXSON; ANDERSON, 2002; MUEHLENBEIN *et al.*, 2002).

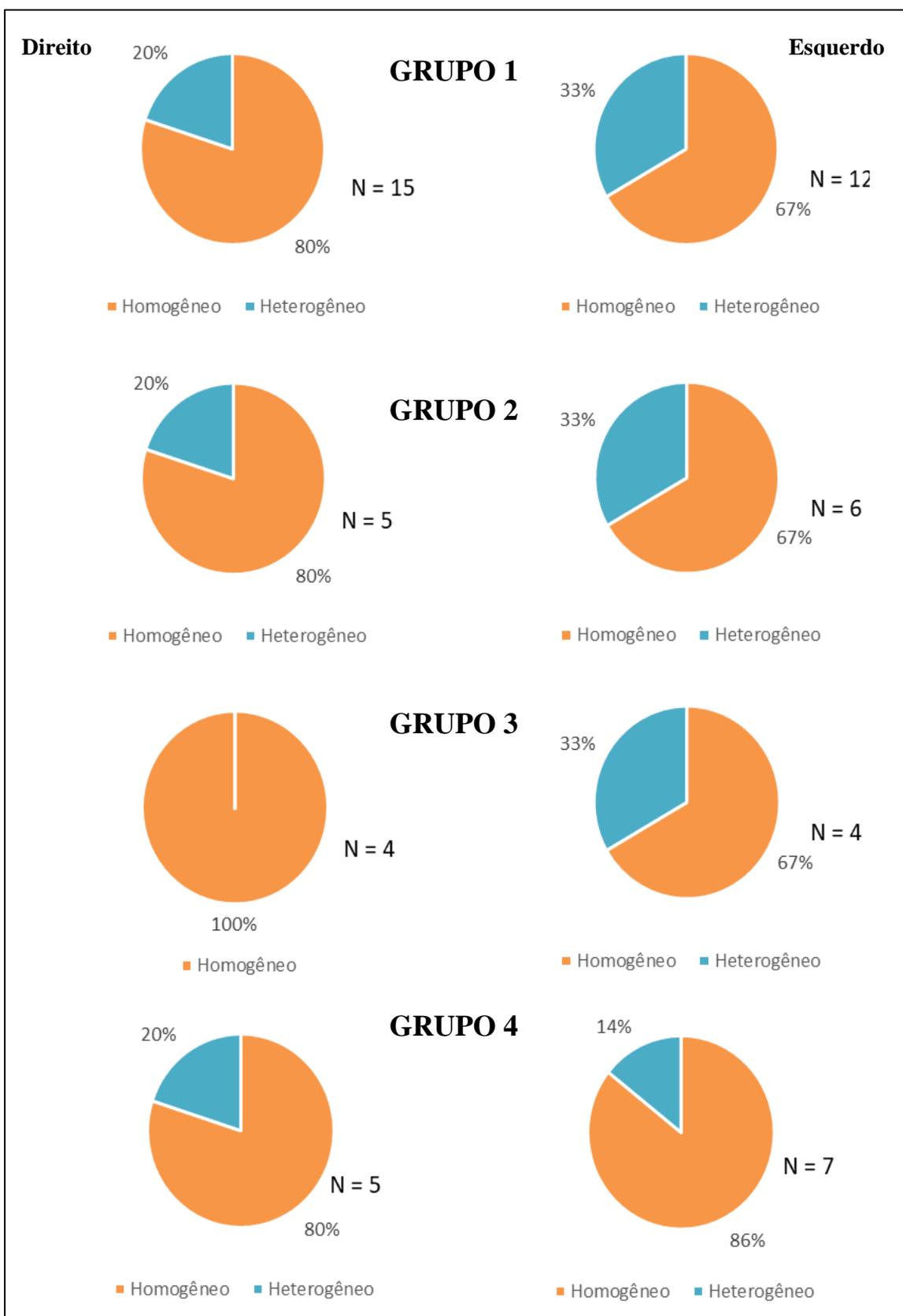
A mobilidade testicular não foi avaliada no grupo 1 porque nenhum dos animais apresentou escroto bem desprendida da região perineal, mesmo aqueles que já tinham os testículos totalmente deslocados do canal inguinal. Um animal do grupo 4 não foi avaliado bilateralmente, pois o mesmo lado do escroto que possuía a camada de gordura observada nas avaliações de consistência incapacitou esta avaliação. Para os demais animais avaliados no estudo, 100% possuíam os testículos considerados móveis.

Quanto a simetria testicular, 61% dos animais (n = 14) do grupo 1 apresentaram testículos simétricos, em um total de 23 animais para os quais esse aspecto pôde ser avaliado. No grupo 2, 88,9% (n = 8) apresentaram testículos simétricos. No grupo 3, 100% dos animais (n = 8) e no grupo 4, 77,8% (n = 7) apresentaram simetria testicular.

## **5.2 Avaliação ultrassonográfica da genitália**

Foi possível observar o parênquima dos testículos, mediastino e as túnicas albugínea e vaginal que os envolvem. No corte longitudinal, o mediastino apresentou-se como uma linha horizontal hiperecogênica na porção medial da maior parte dos testículos avaliados e, no corte transversal, foi observado na forma de um ponto hiperecogênico, também no centro do testículo. As túnicas também apresentaram um aspecto hiperecogênico brilhante, delimitando o contorno testicular. O parênquima testicular apresentou-se com textura homogênea ou heterogênea (Figura 16) e aspecto variando de hipoecogênico +, hipoecogênico ++ ou hiperecogênico (Figura 17).

**Figura 16 - Gráficos ilustrativos da textura do parênquima testicular de *Macaca mulatta* observada por ultrassonografia.**



Legenda: Grupo 1 - 3 anos; Grupo 2 - 5 anos; Grupo 3 - 8 a 11 anos; Grupo 4 - 12 a 14 anos.  
 Fonte: Elaboração própria. Rio de Janeiro, 2020.

Nos grupos 2 (n = 6) e 3 (n = 4), todos os animais avaliados apresentaram contornos testiculares regulares. No grupo 1, dois animais demonstraram algum tipo de

irregularidade no testículo direito (n = 13) e um no esquerdo (n = 13). No grupo 4, foi possível observar contorno irregular em um dos testículos avaliados do lado direito (n = 5) e no lado esquerdo, dentre os sete animais do grupo, um indivíduo apresentou contorno irregular (1 de 7 testículos).

Em relação à textura dos testículos, observou-se que, em todos os grupos, a maior parte, considerando ambos os lados, apresentou a textura hipoecóica homogênea, sendo 74% para o lado direito e 67% para o esquerdo (Figura 17).

O parênquima testicular heterogêneo foi relacionado com qualidade seminal normal, correspondendo a testículos maiores devido ao aumento do diâmetro dos túbulos seminíferos em cervos, touros e garanhões (EVANS *et al.*, 1996; CUNHA *et al.*, 2019; POZOR *et al.*, 2017). Em garanhões jovens, os testículos posicionados no escroto apresentaram parênquima mais heterogêneo quando comparado aos testículos ainda na região inguinal. Schurich e colaboradores (2009) demonstraram que em humanos, a ecogenicidade diminuída de um testículo pode indicar função diminuída, principalmente por alterações vasculares e celulares.

Quanto à ecogenicidade dos testículos, houve prevalência de aspecto hipoecogênico + no grupo 1 (70% e 79% para os lados direito e esquerdo, respectivamente). Nos demais grupos houve prevalência do aspecto hipoecogênico ++, especialmente nos grupos 2 (com 80% e 83% dos testículos direito e esquerdo, respectivamente) e 3 (com 100% dos testículos direitos e 75% dos testículos esquerdos). Nos grupos 2 e 3 não foi observada o aspecto hipoecogênico +. No grupo 4, no entanto, embora a maior parte dos testículos observados tenha apresentado aspecto hipoecogênico ++ (67% para o lado direito e 57% para o lado esquerdo), observou-se também o aspecto hipoecogênico + em 33% dos testículos direitos e 29% dos testículos esquerdos (Figura 17).

O aspecto hipoecogênico é relacionado à imaturidade sexual (CHANDOLIA *et al.*, 2006) ou a degeneração testicular (ARTEAGA *et al.*, 2005). Cunha e colaboradores (2019) observaram uma redução na ecogenicidade testicular em veados catingueiros (*Mazama gouazoubira*) que apresentaram oligo ou azoospermia e menores volumes testiculares em relação aos animais normospermicos. Os autores observaram uma correlação positiva entre o tamanho testicular, a ecogenicidade (medida em valores numéricos de pixels) e a velocidade sistólica de pico (aferida por meio de doppler), sugerindo que esses parâmetros estariam relacionados a presença de células germinativas e a atividade espermatogênica. Infelizmente nesse estudo não foi possível relacionar as características seminais com os achados ultrassonográficos e de exame físico dos animais.

Embora a avaliação da ecogenicidade do parênquima testicular tenha sido realizada de maneira subjetiva, a observação de clara prevalência de parênquima hipoecogênico + nos animais sexualmente imaturos (grupo 1) e em alguns testículos examinados de animais mais velhos (grupo 4), somada à ausência da observação desse aspecto nos animais dos grupos 2 e 3, indicam uma consistência na avaliação desse aspecto e relação com o estágio de desenvolvimento sexual ou a ocorrência de possíveis patologias nos animais estudados.

Em conjunto, as observações ultrassonográficas, associadas aos exames físicos realizados nesse estudo foram validadas e forneceram informações detalhadas do estágio de desenvolvimento reprodutivo dos animais estudados, bem como de possíveis alterações patológicas que podem comprometer sua fertilidade. Este exame permite o diagnóstico de patologias de maneira mais acurada quando comparado ao diagnóstico exclusivamente pelo exame físico da genitália (CARVALHO *et al.*, 2020; GONDOKUSUMO *et al.*, 2020).

**Figura 17 - Gráficos ilustrativos da ecogenicidade testicular observada por ultrassonografia em *Macaca mulatta* do presente estudo.**



Legenda: Grupo 1 - 3 anos; Grupo 2 - 5 anos; Grupo 3 - 8 a 11 anos; Grupo 4 - 12 a 14 anos.  
 Fonte: Elaboração própria. Rio de Janeiro, 2020.

### 5.3 Biometria testicular, corporal e dosagem de testosterona

As médias e respectivos desvios padrões obtidos para a massa corporal, altura e dosagem de testosterona para os animais estudados encontram-se descritas na tabela 4.

As médias de altura e massa corporal dos animais no presente estudo não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos 3 e 4 ( $p > 0,05$ ). No entanto, as médias de massa corporal obtidas para esses grupos ( $14,83 \pm 1,09$  Kg e  $16,74 \pm 2,76$  Kg para os grupos 3 e 4, respectivamente) foram maiores do que as descritas na literatura para a faixas etárias semelhantes ( $10,62 \pm 0,27$  Kg para 6 a 9 anos e  $10,93 \pm 0,19$  Kg para 10 a 14 anos) (SCHWARTZ *et al*, 1992). Adicionalmente, os valores encontrados para os dois grupos também estão acima da média de 11,9 Kg de massa corporal para machos adultos (SMITH; JUNGERS, 1997; VIANA *et al.*, 2016).

**Tabela 3 - Estatística descritiva dos parâmetros morfométricos, idade e concentração de testosterona dos machos da espécie *Macaca mulatta* por grupo etário estudado. Rio de Janeiro, 2020.**

	GRUPO 1			GRUPO 2			GRUPO 3			GRUPO 4		
	(35 a 41 / $\bar{X}$ = 39 meses)			(60 a 63 / $\bar{X}$ = 62 meses)			(100 a 134 / $\bar{X}$ = 115 meses)			(146 a 170 / $\bar{X}$ = 164 meses)		
	M. C. (kg)	C-C (cm)	T (ng/dL)	M. C. (kg)	C-C (cm)	T (ng/dL)	M. C. (kg)	C-C (cm)	T (ng/dL)	M. C. (kg)	C-C (cm)	T (ng/dL)
Tamanho da amostra	27	27	21	9	9	9	8	8	8	7	7	7
Média Aritmética	5,90	47,39	51,48	8,73	53,33	226,32	14,83	57,38	518,00	16,74	58,86	231,86
Desvio Padrão	0,90	2,86	71,60	2,05	2,50	245,17	1,09	2,77	368,43	2,76	2,79	152,58
Mínimo	4,28	39,90	3,00	6,74	49,00	19,00	13,10	55,00	101,00	12,70	55,00	92,00
Máximo	8,26	52,00	297,00	13,10	57,00	697,00	16,40	62,00	1041,00	20,50	63,00	525,00
Mediana	5,84	48,00	29,00	7,90	53,00	111,00	14,55	56,50	513,00	15,90	58,00	172,00

Legenda: M. C. – massa corporal; C-C – comprimento do corpo e cabeça (altura); T – testosterona.

As médias de concentração de testosterona obtidas para os grupos 1 e 2 foram menores do que as observadas anteriormente por outros autores, contudo, em seus estudos, os animais se encontravam dentro da estação reprodutiva. No presente trabalho as amostras foram obtidas, em média, dois meses antes do início da estação (abril a outubro) para os animais do ICTB, este fator pode explicar também, o alto desvio padrão, já que nesta fase os animais apresentam oscilação nos padrões de concentração de andrógenos, principalmente os púberes e pré púberes (MUEHLENBEIN *et al*, 2002; SCHWARTZ *et al*, 1992). Nos grupos 3 e 4, foram obtidos valores mais próximos aos demais autores, considerando que, em seus estudos, os grupos foram distribuídos de maneira diferente quanto a faixa etária, porém comparáveis ao presente estudo conforme exposto na tabela 5.

**Tabela 4 - Média  $\pm$  desvio padrão das dosagens de testosterona e massa corporal de *Macaca mulatta* divididas por faixa etária no presente estudo, em comparação com estudos publicados anteriormente.**

Presente estudo	Idade (anos)	3	5	-	8 a 11	12 a 14
	M.C (kg)	5,90 $\pm$ 0,90	8,73 $\pm$ 2,05	-	14,83 $\pm$ 1,09	16,74 $\pm$ 2,76
	T (ng/ dL)	51,48 $\pm$ 71,69	226,32 $\pm$ 245,17	-	518,00 $\pm$ 368,43	231,86 $\pm$ 152,58
	N	27	9	-	8	7
Schwartz <i>et al.</i> , 1992	Idade (anos)	-	-	6 a 9	10 a 14	
	M.C (kg)	-	-	10,62 $\pm$ 0,27	10,93 $\pm$ 0,90	
	T (ng/ dL)	-	-	81,00 $\pm$ 1,20	116,00 $\pm$ 2,70	
	N	-	-	16	24	
Muehlenbein <i>et al.</i> , 2002	Idade (anos)	-	4 a 5	6 a 9	10 a 14	
	M.C (kg)	-	10,00 $\pm$ 1,00	12,00 $\pm$ 3,00	11,50 $\pm$ 2,50	
	T (ng/ dL)	-	500,00 $\pm$ 250,00	510,00 $\pm$ 250,00	520,00 $\pm$ 250,00	
	N	-	10	29	14	
Bernstein <i>et al.</i> , 1991	Idade (anos)	3	5	6	8	-
	M.C (kg)	-	-	-	-	-
	T (ng/ dL)	93,00	431,00	458,00	568,00	-
	N	31	26	16	11	-
Melman <i>et al.</i> , 1997	Idade (anos)	-	-	6,6	-	-
	M.C (kg)	-	-	11,30 $\pm$ 1,50 <sup>D</sup> / 11,20 $\pm$ 1,50 <sup>F</sup>	-	-
	T (ng/ dL)	-	-	813,00 $\pm$ 235,00 <sup>D</sup> / 389,00 $\pm$ 432,00 <sup>F</sup>	-	-
	N	-	-	17 <sup>D</sup> / 14 <sup>F</sup>	-	-

Legenda: MC – Massa corporal; T – Testosterona; N – número amostral.

Em todos os trabalhos os dados foram coletados em horários próximos aos do presente estudo, com exceção de Mehlman e colaboradores (1997) que coletaram amostras até as 16h. Os autores não deixam explícito os horários individuais de cada coleta, contudo, afirmam que o horário de coleta não exerceu influência na concentração de testosterona.

Os animais estudados nas referências citadas na tabela 5 foram todos mantidos em condições climáticas naturais, como no presente estudo, em recintos individuais ou coletivos, em grupos compostos somente por machos ou por machos e fêmeas (tabela 6). Muehlenbein e colaboradores (2002) afirmam que amostras de animais mantidos em diferentes condições de alojamento não diferiram entre si.

No entanto, Ruiz de Elvira, Herndon e Wilson (1982) afirmam que a presença das fêmeas pode influenciar diretamente no comportamento sexual dos machos, aumentando atividades como cópula, demarcação territorial, agressividade, concomitante ao aumento da concentração de testosterona. No presente estudo, todos os animais do grupo 1 estavam alojados em grupos com outras fêmeas e todos dos grupos 2, 3 e 4 possuíam contato olfativo e auditivo com indivíduos do sexo oposto.

A metodologia de análise utilizada pelos demais autores foi pela técnica de radioimunoensaio (RIA) (Tabela 6). Na literatura revisada, não foram encontrados dados comparativos de testosterona por método de ensaio em macacos, contudo, Godinho e Rodrigues (2017) relataram boa concordância entre RIA e quimioluminescência (CLIA) em humanos. Igualmente, Lemos e colaboradores (2015) não encontraram diferenças significativas na comparação da dosagem de progesterona e estradiol fecal em cachorro do mato (*Cerdocyus thous*) pelas técnicas de CLIA e RIA. Para hormônios como o cortisol, a técnica de dosagem hormonal utilizada parece influenciar mais significativamente quanto a sensibilidade. Em cães, por exemplo, a CLIA foi capaz de detectar concentrações inferiores a 100 nmol/L (RUSSELL *et al.*, 2007). Deste modo, podemos pressupor que a técnica de ensaio empregada não consistiu em variável de influência importante para a obtenção dos resultados e apresentou o benefício de detectar até as concentrações bem baixas dos animais do grupo 1.

**Tabela 5 – Horário e época do ano de coleta de amostras sanguíneas, técnica de dosagem de testosterona utilizada e sistema de criação de *Macaca mulatta* em diferentes estudos.**

<b>Autores</b>	<b>Horário</b>	<b>Estação reprodutiva</b>	<b>Técnica</b>	<b>Criação</b>
Presente trabalho	Manhã	2 meses antes	CLIA	Outdoor (M) <sup>G</sup>
Schwartz <i>et al.</i> , 1992	Manhã	6 meses antes	RIA	Outdoor (M/F) <sup>G</sup>
Muehlenbein <i>et al.</i> , 2002	Manhã	Durante	RIA	Outdoor (M) <sup>G I</sup>
Bernstein <i>et al.</i> , 1991	Manhã	Durante	RIA	Outdoor (M/F) <sup>G</sup>
Melman <i>et al.</i> , 1997	Manhã/tarde	Durante/6 meses antes	RIA	Outdoor (M/F) <sup>G</sup>

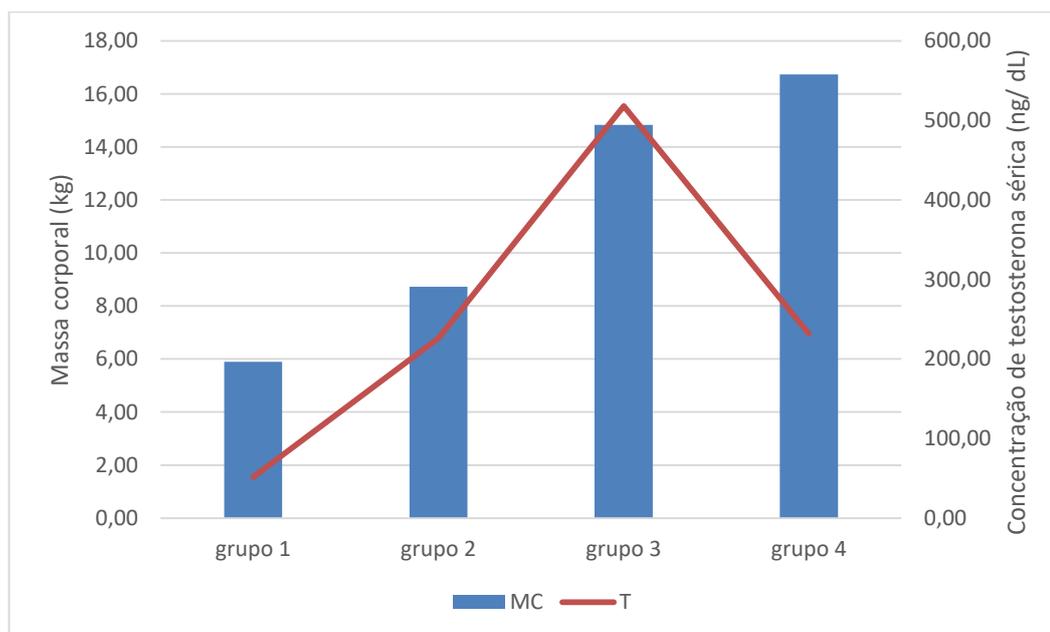
Legenda: CLIA - quimioluminescência; RIA - radioimunoensaio; G – mantidos em grupos; I – mantidos individualizados. As letras entre parênteses indicam a composição dos grupos sociais: M - machos e F - fêmeas

Os dados encontrados no presente trabalho relacionando a idade e concentração de testosterona eram esperados, por estarem relacionados à maturidade sexual em macacos rhesus (BERNSTEIN *et al.*, 1991). Harrison e Kubisch (2005) demonstraram que a testosterona tem sua origem na embriogênese e que, após o nascimento, essa concentração cai a níveis praticamente insignificantes, tornando a aumentar com o início da puberdade. Bernstein e colaboradores (1991) encontraram valores bem variáveis em macacos rhesus na faixa etária de 3 a 5 anos de idade, em que menos da metade dos animais do grupo apresentavam valores consistentes de níveis de testosterona. Os achados desses autores condizem com os observados no presente estudo, na qual a faixa etária de 3 anos apresentou ampla variação dentre valores mínimos (3 ng/ dL) e máximos (297 ng/ dL). Os autores também observam que alguns macacos púberes podem apresentar valores de testosterona iguais aos encontrados em macacos adultos (média de 14 anos), e isto pode estar relacionado ao grau de hierarquia, já que os filhotes dos animais de classificação mais alta tendem a ter valores de andrógenos aumentados, o que é observado desde a infância, a partir de dois anos. No presente trabalho, os valores máximos (mencionados anteriormente) foram, inclusive, superiores à média obtida para o grupo 4 (231 ng/dL).

Os valores médios da concentração de testosterona tiveram um aumento até o grupo 3 e uma redução significativa no grupo 4 ( $p < 0,05$ ), o que pode estar relacionado ao acúmulo de gordura (Figura 18). Kemnitz e colaboradores (1989) puderam observar uma correlação significativamente negativa entre gordura corporal e concentração de testosterona em macacos rhesus. Os macacos obesos apresentaram menor nível sérico de testosterona e dihidrotestosterona quando comparados aos machos não obesos. Os autores sugerem que o aumento da massa de tecido adiposo contendo aromatase em

indivíduos obesos, leva ao aumento da conversão de andrógenos a estrogênios. O estrogênio produzido no tecido adiposo, por sua vez, resulta em *feedback* negativo no eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, levando à redução da produção de testosterona (FUI *et al.*, 2014).

**Figura 18** – Gráfico representativo da variação da massa corporal e concentração de testosterona em *Macaca mulatta* em diferentes faixas etárias.



Legenda: Grupo 1 - 3 anos; Grupo 2 - 5 anos; Grupo 3 – 8 a 11 anos; Grupo 4 – 12 a 14 anos.  
Fonte: Elaboração própria. Rio de Janeiro, 2020.

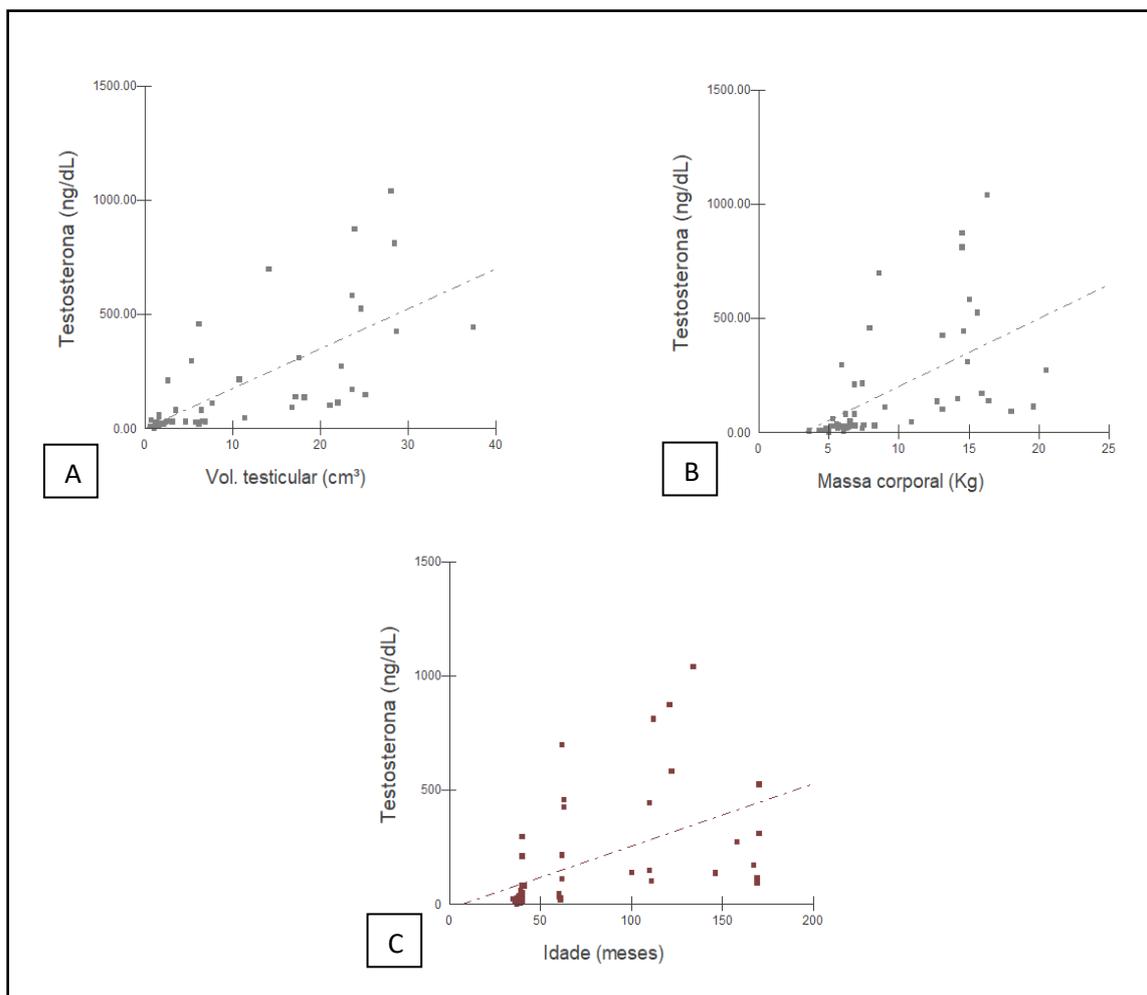
Na análise de regressão linear simples entre idade e testosterona, o coeficiente de regressão (2,75) foi significativo ( $p < 0,0001$ ), assim como o coeficiente de correlação (0,51). Ambos demonstraram uma tendência positiva. A mesma tendência foi observada na relação entre testosterona e massa corporal (coef. regressão = 29,8,  $p < 0,0001$ ,  $r = 0,55$ ), bem como testosterona e volume testicular (coef. regressão = 17,4,  $p < 0,0001$ ,  $r = 0,69$ ), ou seja, à medida que a idade, massa corporal e volume testicular aumentam, a concentração de testosterona sérica também tende a aumentar (Figura 19).

Nos macacos rhesus, a concentração de testosterona não parece sofrer quedas significativas correlacionadas ao aumento da idade em animais entre quatro e 14 anos (MUEHLENBEIN *et al.*, 2002), contudo os níveis tendem a diminuir em machos acima de 20 anos de idade (SCHWARTZ; KEMNITZ, 1992).

Muehlenbein e colaboradores (2002) atribuíram uma maior correlação entre variáveis biométricas como volume testicular e testosterona como bons preditores de

concentração de estradiol em macacos rhesus. Os autores ainda sugerem que o estradiol possa desempenhar um papel importante na maturação esquelética e, conseqüentemente, no tamanho final do adulto. Estes dados nos fazem pressupor que o animal maior e mais pesado, não necessariamente será o detentor de maior concentração de testosterona e que, inclusive, pode sugerir uma baixa concentração, devido ao acúmulo excessivo de gordura no corpo.

**Figura 19 - Análise de regressão linear simples entre testosterona e volume testicular (A), testosterona e massa corporal (B) e testosterona e idade (C) de *Macaca mulatta*.**



Fonte: Elaboração própria. Rio de Janeiro, 2020.

Não houve diferença significativa entre os volumes testiculares esquerdo e direito, o que possibilita a utilização de qualquer um dos lados para realização da análise. Esta análise também reforça a ausência de assimetria testicular nos animais selecionados para o estudo. Assim, foram utilizados os valores biométricos obtidos para os testículos

esquerdos na comparação com outras medidas corporais e de concentração de testosterona, como adotado em outros trabalhos (MUEHLENBEIN *et al.*, 2002).

Quando comparadas os métodos de mensuração, foi observada diferença significativa nos valores brutos entre as medidas obtidas por paquímetro e fita métrica (PAQ) quando comparadas às obtidas por ultrassonografia (USG) (Tabela 7).

É sabido que o volume testicular de *M. mulatta* é variável, dependendo da estação reprodutiva (SCHWARTZ; KEMNITZ, 1992), e estas variáveis de biometria podem aumentar e diminuir durante a estação, semanalmente (MUEHLENBEIN *et al.*, 2002), podendo aumentar em até 50% de volume (WICKINGS *et al.*, 1980). Harrison e colaboradores (1977), obtiveram médias de 16 a 35 cm<sup>3</sup>, fora e dentro da estação reprodutiva, respectivamente, em macacos rhesus maduros. Para animais de 3 a 5 anos, durante a estação reprodutiva, os valores foram de 2,5 cm<sup>3</sup> (BERCOVITCH; RODRIGUEZ, 1993; MUEHLENBEIN *et al.*, 2002). Todas as medidas foram realizadas com a exclusão do epidídimo pelos pesquisadores citados, diferente do adotado neste trabalho, devido à dificuldade de separação das estruturas no momento da aferição por paquímetro, podendo resultar dados não fidedignos.

**Tabela 6 - Medidas de biometria testicular obtidas por mensuração manual com paquímetro e fita métrica e por exame ultrassonográfico dos machos de *Macaca mulatta* do plantel do ICTB.**

	DL (mm)		DLL (mm)		DT (mm)		VOLUME (cm <sup>3</sup> )		CIRCUNFERÊNCIA TESTICULAR (cm)	
	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
<b>GRUPO 1 (35 a 41 meses / 3 anos)</b>										
<b>MANUAL (Paq/fita)</b>	25,17 ± 4,59*	24,62 ± 4,63*	12,93 ± 3,13*	13,08 ± 3,05*	13,33 ± 3,25	13,61 ± 3,18	2,51 ± 1,72	2,48 ± 1,63	-	-
	(n = 81)	(n = 81)	(n = 81)	(n = 81)	-	-				
<b>USG</b>	21,01 ± 3,80*	20,99 ± 3,93*	10,48 ± 2,47*	10,08 ± 2,60*	14,18 ± 3,40	14,39 ± 3,57	1,36 ± 1,04	1,29 ± 1,07	-	-
	(n = 81)	(n = 69)	(n = 81)	(n = 81)	-	-				
<b>GRUPO 2 (60 a 63 meses / 5 anos)</b>										
<b>MANUAL (Paq/fita)</b>	36,39 ± 2,64	35,56 ± 4,69	22,00 ± 3,17*	22,21 ± 3,52*	21,85 ± 3,01	21,55 ± 3,19	9,54 ± 3,31*	9,69 ± 4,37*	8,13 ± 1,33 *	7,75 ± 1,44*
	(n = 27)	(n = 27)	(n = 27)	(n = 27)	(n = 24)	(n = 24)				
<b>USG</b>	38,96 ± 4,35	36,41 ± 4,42	17,40 ± 2,36*	17,43 ± 3,90*	23,38 ± 2,06	23,01 ± 2,31	6,38 ± 2,18*	6,10 ± 3,03*	6,56 ± 0,67*	6,61 ± 0,87*
	(n = 27)	(n = 27)	(n = 27)	(n = 27)	(n = 24)	(n = 27)				
<b>GRUPO 3 (100 a 134 meses / 8 a 11 anos)</b>										
<b>MANUAL (Paq/fita)</b>	50,98 ± 3,60	48,94 ± 4,42	30,72 ± 2,56*	30,53 ± 2,48*	29,45 ± 4,68*	31,79 ± 5,16	25,50 ± 5,76*	24,05 ± 4,86*	11,35 ± 1,26*	11,31 ± 0,76*
	(n = 24)	(n = 24)	(n = 24)	(n = 24)	(n = 24)	(n = 21)				
<b>USG</b>	49,96 ± 3,67	50,84 ± 6,28	24,60 ± 2,97*	24,92 ± 2,39*	33,30 ± 3,21*	31,92 ± 3,46	16,08 ± 4,63*	16,75 ± 4,39*	9,36 ± 0,83*	9,32 ± 1,05*
	(n = 24)	(n = 24)	(n = 24)	(n = 24)	(n = 21)	(n = 24)	(n = 24)	(n = 24)	(n = 21)	(n = 24)
<b>GRUPO 4 (146 a 170 meses / 12 a 14 anos)</b>										
<b>MANUAL (Paq/fita)</b>	47,15 ± 1,73	47,73 ± 3,27	28,90 ± 2,26*	29,31 ± 2,26*	29,21 ± 1,79	27,92 ± 1,69	20,66 ± 3,14*	21,65 ± 4,33*	10,37 ± 1,51*	10,76 ± 1,03*
	(n = 21)	(n = 18)	(n = 21)	(n = 18)	(n = 21)	(n = 18)	(n = 21)	(n = 21)	(n = 15)	(n = 18)
<b>USG</b>	44,09 ± 3,75	48,33 ± 3,31	22,65 ± 3,08*	22,60 ± 3,88*	31,23 ± 1,39	30,08 ± 1,55	11,98 ± 3,17*	10,73 ± 5,17*	9,02 ± 0,72*	8,84 ± 1,16*
	(n = 21)	(n = 18)	(n = 21)	(n = 21)	(n = 21)	(n = 21)	(n = 18)	(n = 18)	(n = 21)	(n = 18)

Legenda: USG – ultrassonografia; DL – diâmetro longitudinal; DLL – diâmetro látero lateral; DT – diâmetro transversal; Paq – paquímetro

\*p < 0,01

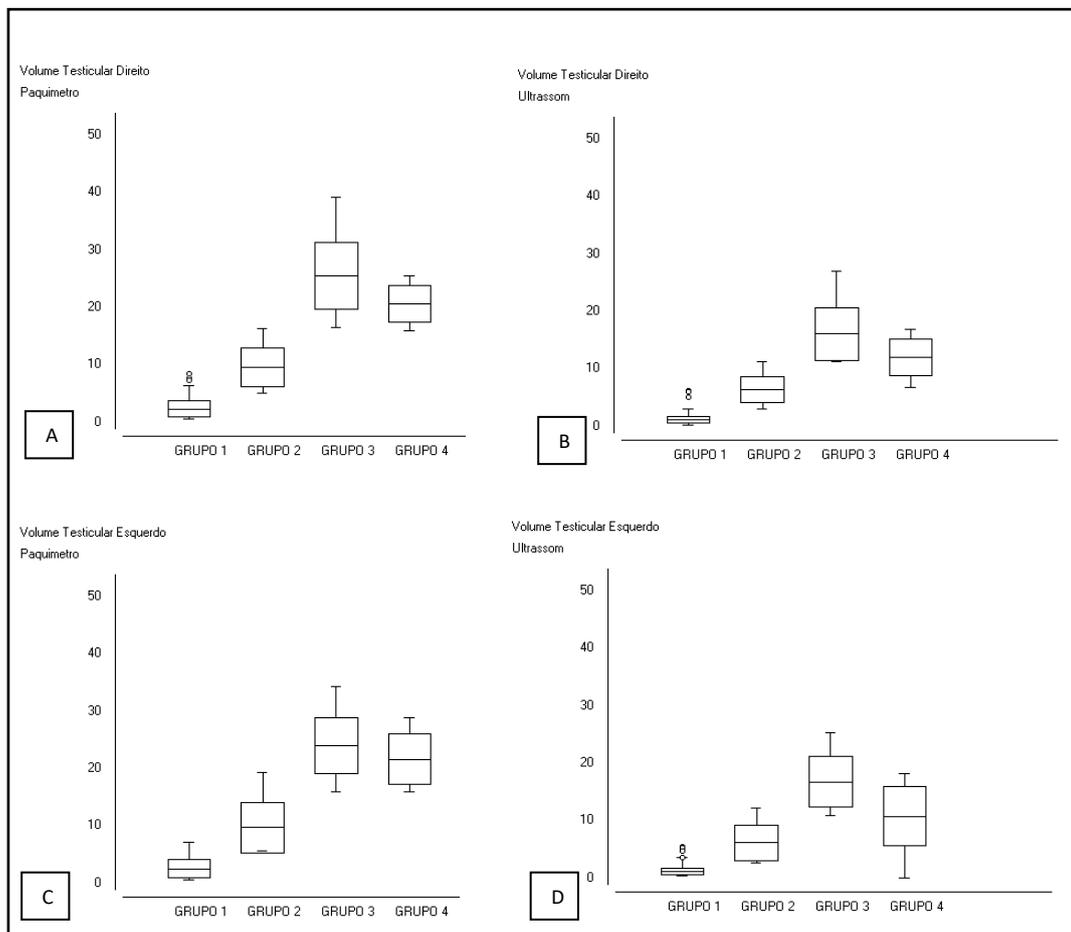
Apesar das medidas obtidas por PAQ e USG terem sido equivalentes entre si (Tabela 8), os valores de biometria testicular foram significativamente maiores quando obtidos por PAQ quando comparadas as medidas por USG ( $p < 0,01$ ) (Figura 20). A diferença entre as medidas testiculares aferidas por esses dois métodos já era esperada, pois na USG não é considerada o escroto, porém, as medidas aferidas por ambas as técnicas devem ser correspondentes (CHANDOLIA *et al.*, 2006), como observado nesse estudo, indicando uma consistência dos dados coletados.

**Tabela 7 - Análise de correlação de Pearson para os volumes testiculares obtidos com auxílio de paquímetro e por ultrassonografia em *Macaca mulatta*.**

	VOLUME TESTICULAR			
	PAQ Direito	PAQ Esquerdo	USG Direito	USG Esquerdo
PAQ Direito	---	---	---	---
PAQ Esquerdo	0,98	---	---	---
USG Direito	0,96	0,95	---	---
USG Esquerdo	0,90	0,89	0,90	---

Legenda: PAQ = paquímetro; USG – ultrassonografia ( $p < 0,0001$ )

**Figura 20 – Representação gráfica de média + desvio padrão das medidas de volumes testiculares obtidas por meio de paquímetro lado direito (A) e esquerdo (B) e ultrassonografia lado direito (C) e esquerdo (D) em *Macaca mulatta*.**



Fonte: Elaboração própria. Rio de Janeiro, 2020.

Legenda: Grupo 1 - 3 anos; Grupo 2 - 5 anos; Grupo 3 – 8 a 11 anos; Grupo 4 – 12 a 14 anos.

#### 5.4 Correlação das biometrias corporais e testiculares

As correlações foram realizadas entre a idade e todas as medidas biométricas corporais, volume e circunferência testicular. A prega abdominal, altura e volume testicular foram correlacionados significativamente com a idade, corroborando com os achados de Muehlenbein e colaboradores (2002), que também obtiveram correlação significativa entre a circunferência testicular e idade (Tabela 9).

A avaliação de biometria da genitália é uma análise largamente empregada em programas de reprodução assistida de humanos e animais de produção, como por exemplo, de bovinos, e a circunferência escrotal é um parâmetro importante para seleção de reprodutores, podendo ser um critério indicativo da qualidade do sêmen, pois correlaciona-se com a motilidade progressiva dos espermatozoides e a maturidade sexual (SILVA *et al.*, 2002; SCHURICH *et al.*, 2009).

Com machos de primatas não humanos, em estudos no âmbito da reprodução, também são empregadas avaliações de biometria da genitália (BERCOVITCH; RODRIGUEZ, 1993; HARRISON *et al.*, 1977; KUGELMEIER, 2011; MUEHLENBEIN *et al.*, 2002; SILVA, 2005; VALLE, 2007; VIANA, 2013). Entretanto, esses estudos adotam o volume testicular como parâmetro reprodutivo e não a circunferência. Em bovinos, a técnica consiste em envolver os dois testículos, junto com seus respectivos epidídimos, e com a fita métrica na altura da linha média do escroto fazer a medida (KANAZAWA *et al.*, 2012). Sabe-se, como observado no presente estudo, que os testículos não são tão pendulosos como os de um bovino, por exemplo, o que dificulta a realização da medida com facilidade utilizando a fita métrica. Por outro lado, através do exame ultrassonográfico, esta mensuração pareceu de fácil obtenção e precisão. Desta maneira, os resultados apresentados no presente estudo, sugerem que a circunferência testicular pode predizer um bom parâmetro de avaliação morfológica reprodutiva.

**Tabela 8 - Correlações entre idade, biometria corporal e testicular de *Macaca mulatta* machos do plantel do ICTB/ Fiocruz.**

	<b>Idade</b>	<b>M. C.</b>	<b>C-C</b>	<b>C. tr.</b>	<b>C. to.</b>	<b>P. tr.</b>	<b>P. abd</b>	<b>C. Test. F.M.</b>
<b>M. C.</b>	Ns							
<b>C-C</b>	0,55**	0,74***						
<b>C. tr.</b>	Ns	Ns	Ns					
<b>C. to.</b>	Ns	0,90***	0,63**	0,41*				
<b>C. abd.</b>	Ns	0,92***	0,67**	Ns	0,94***			
<b>P. p</b>	Ns	Ns	0,42*	Ns	Ns			
<b>P. tr.</b>	0,53**	Ns	0,59**	Ns	Ns			
<b>P.sub.</b>	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	0,44**		
<b>P. abd</b>	0,70**	Ns	0,57**	Ns	Ns	0,67**		
<b>V. Paq.</b>	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	ns	0,45**	
<b>C. Test. F.M.</b>	0,73***	Ns	0,55**	Ns	Ns	0,50**	0,76***	
<b>C. Test. USG</b>	0,78***	0,46*	0,63**	Ns	Ns	0,47*	0,70**	0,74***

M. C. – Massa corporal; C-C – Comprimento corpo cabeça (altura); C. tr. – Circunferência do tríceps; C. to. – Circunferência do tórax; C. abd. – Circunferência abdominal; P.p. – Prega peitoral; P. tr. – Prega do tríceps; P. sub. – Prega subescapular; P. abd. – Prega abdominal; V. Paq – Volume por paquímetro; C. Test. F. M. – Circunferência escrotal por fita métrica; C. Test. USG – Circunferência escrotal por ultrassonografia

\* P < 0,05; \*\* P < 0,01; \*\*\* P < 0,0001

## 5.5 Biometria do pênis e glande

Os dados de biometria de glande e pênis estão expostos na tabela 10. As médias de comprimento de pênis e de glande dentro do grupo 1 foram de  $5,7 \pm 1,21$  cm e  $1,45 \pm 0,32$  cm, respectivamente. Essas medidas foram menores do que as médias encontradas por Dixson e Nevison (1997) em macacos rhesus da mesma faixa etária, que foram de  $6,44 \pm 0,18$  cm para o comprimento do pênis e  $1,70 \pm 0,04$  cm para o comprimento da glande. Já na faixa etária de 5 a 10 anos foram obtidos  $9,34 \pm 0,96$  cm para comprimento do pênis e  $2,05 \pm 0,07$  cm para comprimento da glande, médias maiores do que as obtidas no presente trabalho para o pênis de animais do grupo 2 ( $4,72 \pm 0,61$  cm) e grupo 3 ( $5,34 \pm 0,81$  cm) e glande, grupo 2 ( $1,76 \pm 0,12$  cm) e grupo 3 ( $2,00 \pm 0,25$  cm).

Segundo Dixson (1987), a medida do comprimento do pênis é uma mensuração complexa. A complexidade pode estar relacionada com a subjetividade da técnica. Durante a realização dos exames andrológicos, foi possível observar que, devido a sua elasticidade, fica difícil manter uma precisão exata da tensão exercida na exposição para a obtenção da medida, e a influência desta subjetividade fica bem evidente ao observar que os comprimentos dos pênis dos animais do grupo 1 foram maiores do que nos demais grupos. Este dado não corrobora com o que já foi descrito na literatura, que o aumento do pênis se correlaciona positivamente com o aumento da idade (MANN *et al.*, 1998). Outra variável que pode ter influenciado nos valores das médias encontradas para os animais do grupo 1 foi a de que o pênis ainda estava aderido ao prepúcio na maioria dos animais, dificultando a exposição, forçando o avaliador a exercer uma força maior para obter a mensuração, deste modo, discretamente esticando mais o pênis.

**Tabela 9 - Média  $\pm$  desvio padrão da biometria do pênis e glânde obtidos em *Macaca mulatta* no plantel do ICTB/ Fiocruz. Rio de Janeiro, 2020.**

GRUPO	DL Pênis	DLL Pênis	DT Pênis	DL Glânde	DLL Glânde	DT Glânde
1	5,7 $\pm$ 0,21 (n=65)	0,71 $\pm$ 0,17 (n=63)	0,87 $\pm$ 0,24 (n=42)	1,47 $\pm$ 0,32 (n=69)	0,79 $\pm$ 0,14 (n=71)	0,96 $\pm$ 0,14 (n=66)
2	4,72 $\pm$ 0,61 (n=27)	0,96 $\pm$ 0,25 (n=27)	1,11 $\pm$ 0,23 (n=27)	1,76 $\pm$ 0,12 (n=27)	0,87 $\pm$ 0,16 (n=27)	1,02 $\pm$ 0,16 (n=27)
3	5,34 $\pm$ 0,81 (n=24)	1,12 $\pm$ 0,09 (n=24)	1,29 $\pm$ 0,16 (n=24)	1,99 $\pm$ 0,25 (n=24)	0,99 $\pm$ 0,10 (n=24)	1,30 $\pm$ 0,14 (n=24)
4	5,50 $\pm$ 0,47 (n=21)	1,07 $\pm$ 0,23 (n=21)	1,29 $\pm$ 0,12 (n=21)	1,99 $\pm$ 0,13 (n=21)	1,04 $\pm$ 0,12 (n=21)	1,35 $\pm$ 0,17 (n=21)

Legenda: DL – Diâmetro longitudinal; DLL – Diâmetro latero lateral; DT – Diâmetro transversal; Grupo 1 - 3 anos; Grupo 2 - 5 anos; Grupo 3 – 8 a 11 anos; Grupo 4 – 12 a 14 anos.

Nota: Todos os dados obtidos foram expressos em milímetros.

## 5.6 Eletroestimulação retal

A estimulação retal foi considerada positiva quando os animais apresentaram intumescimento da glânde ou ereção, conforme era feita a estimulação. Nesse sentido, a estimulação retal foi positiva em 97% (n = 31 de 32) das estimulações realizadas.

O único animal (165 meses) que não apresentou sucesso (3%) no estímulo retal, todavia, durante o procedimento, expeliu volume considerável de sêmen (1 mL), com motilidade alta (90%), porém apresentou as menores taxas de movimentos retilíneos progressivos (10%) e de espermatozoides com a membrana plasmática íntegra (59%) em relação as outras amostras obtidas. Warner e colaboradores (1974) observaram em seu estudo com eletroestimulação retal em grandes símios, animais que ejacularam mesmo sem registrar momentos de ereção. Aparentemente isso é possível, pois apesar de serem comumente associados, ereção e ejaculação são frutos de estímulos por diferentes nervos do sistema neurológico. A ereção é estimulada pelo cérebro sob ação dos nervos erigentes do sistema nervoso parassimpático, já a emissão de ejaculado é proveniente do nervo hipogástrico, pelo sistema nervoso simpático (MARBERGER, 1974). Deste modo, diferentes fatores podem ter influenciado nesta ocorrência, até mesmo relacionado ao estímulo elétrico, quanto a região ou corrente elétrica.

Outro fator a se levar em consideração é a insuficiência erétil, como já relatado em *Macaca fascicularis*. No relato de Adams e colaboradores (1984), os animais com disfunção erétil não apresentavam alterações de comportamento sexual e concentração de testosterona, frente aos demais. Todavia, achados de necropsia puderam constatar obstruções de lúmen arterial dos tecidos urogenitais devido à aterosclerose, que tinha potencial de influenciar diretamente no fluxo sanguíneo regional, justificando seus resultados. Não foi possível afirmar no presente estudo a ocorrência de disfunção erétil, podendo ser passível de uma futura investigação clínica.

A taxa de sucesso da obtenção de amostras, ou seja, o número de ejaculados obtidos sobre o número de animais estimulados, foi igual a 37% (n = 10 de 27 animais estimulados). Das 10 amostras obtidas, duas foram duplicatas de animais que foram estimulados em semanas diferentes e ejacularam em ambas às vezes, sendo uma delas azoospermica (na segunda estimulação). Este achado azoospermico foi obtido aproximadamente 40 dias após a obtenção de uma amostra com presença de espermatozoides do mesmo animal.

Diversas etiologias estão envolvidas em situações de azoospermia. Wosnitzer e colaboradores (2014) classificaram este fenômeno em obstrutivo e não obstrutivo. As azoospermias obstrutivas podem ser causadas por obstrução iatrogênica, lesão do epidídimo, ruptura de túbulos seminíferos, ausência congênita de vasos deferentes entre outros. Já as não obstrutivas podem compreender insuficiência testicular primária ou secundária, relacionadas a alterações hormonais, hipoplasia ou atrofia testicular, mutações gênicas e em alguns casos de varicocele.

No animal da amostra azoospermica, a avaliação física apresentava um tecido adiposo anormal revestindo todo o testículo esquerdo, que inclusive justificou a não realização da sua biometria. Ao exame ultrassonográfico também foram visualizadas alterações ipsilaterais. No primeiro ejaculado deste indivíduo, os dados de avaliação seminal encontravam-se próximos aos valores da média. Deste modo podemos sugerir que algum tipo de lesão existente o incapacite de ejaculações regulares e normospermicas ou que da segunda vez, o estímulo pode ter sido apenas das glândulas seminais, responsáveis pela produção da maior fração do líquido seminal, resultando na ejaculação incompleta, não atingindo a fase em que os espermatozoides são adicionados ao ejaculado.

Com relação à idade dos animais que ejacularam, cinco deles tinham entre 12 e 13 anos (152 e 165 meses), quatro entre 8 e 9 anos (99 e 118 meses) e apenas um com 4,5 anos (55 meses). Na amostra do ejaculado deste animal mais jovem, foi possível observar

características de imaturidade das células, como gota citoplasmática em grande parte destas. Os animais do grupo 1 não foram incluídos nos procedimentos de colheita de sêmen.

### **5.7 Avaliação seminal**

O aspecto dos ejaculados obtidos foi, em 55% das ocorrências, sem a presença de coágulo seminal e de coloração branco leitoso ou translúcido. Em uma escala variável de 1 a 5, em que 1 corresponde a imóvel e 5 a hipermotilidade, o grau de motilidade encontrado foi de 12,5% grau 4, 62,5% grau 3 e 25% grau 2. A média e desvio padrão de volume e dos demais parâmetros avaliados nos ejaculados obtidos no presente trabalho, em comparação com outros autores, está expressa na Tabela 11.

O objetivo deste estudo não foi comparar os resultados por método de colheita de sêmen, contudo, foi expresso na tabela para servir apenas como base de dados das características encontrada por outros autores, visto que a colheita de sêmen via sonda retal não parece afetar os espermatozoides (DE VILLIERS, 2018).

**Tabela 10 - Características seminais (média  $\pm$  desvio padrão) de *Macaca mulatta* descritos na literatura em comparação com os dados obtidos no presente estudo para os animais do ICTB/ Fiocruz.**

Característica	Média $\pm$ desvio padrão					
	Presente trabalho	De Villiers, 2018	Harrison, 1980	Carvalho, 2016	Sitzmann <i>et al.</i> , 2010	Lanzendorf <i>et al.</i> , 1990
Volume (mL)	0,34 $\pm$ 0,29	0,4 $\pm$ 0,2		0,27 $\pm$ 0,08	0,34 $\pm$ 0,20	0,24 $\pm$ 0,03
pH do ejaculado	8,29 $\pm$ 0,45	7,25			7,9 $\pm$ 0,3	
Motilidade (%)	74,44 $\pm$ 22,17	69,2 $\pm$ 10,2	53,89 $\pm$ 1,60	64,24 $\pm$ 4,96	64 $\pm$ 13	79,9 $\pm$ 1,62
MRP (%)	59,44 $\pm$ 35,31		53,9	51,40 $\pm$ 5,53		
Concentração ( $\times 10^6$ spz/mL)	154,25 $\pm$ 157,98	193,6 $\pm$ 122,9	419,43 $\pm$ 32,7	2686,20 $\pm$ 474,59	47,66 $\pm$ 9,21	250,8 $\pm$ 43,6
IMP (%)	75 $\pm$ 11,25			58,28 $\pm$ 3,13	79 $\pm$ 3,0	
DAB I (%)	83,40 $\pm$ 8,09					
DAB II (%)	13,60 $\pm$ 4,32					
DAB III (%)	7,50 $\pm$ 6,50					
DAB IV (%)	0					
Método de colheita	EER	EER	EER	EEP	EEP	EEP

IMP - integridade de membrana plasmática; DAB – diaminobenzedina (teste para avaliação da atividade mitocondrial) graus I - todas mitocôndrias ativas; II - comprometimento parcial das mitocôndrias; III - menos de 50% das mitocôndrias ativas; IV - mitocôndrias completamente inativas; EER – Eletroestimulação retal; EEP – Eletroestimulação peniana.

Todos os parâmetros foram bem próximos aos encontrados em outros trabalhos, com destaque para a porcentagem de motilidade e motilidade retilínea progressiva que foi maior no presente trabalho, independentemente do método de colheita. A média de concentração obtida foi próxima à encontrada por De Villiers (2018), contudo, o desvio padrão obtido foi acima do valor de média, devido os valores individuais terem variado de 27 a  $469 \times 10^6$  spz/mL.

O animal, já mencionado anteriormente na discussão, que teve duas amostras sendo uma azoospermica e outra com presença de espermatozoides, teve a menor concentração do experimento ( $5 \times 10^6$  spz/mL) e foi excluído das médias devido à suspeita de patologia que pudesse comprometer a concentração espermática.

Uma outra amostra com baixa concentração ( $27 \times 10^6$  spz/mL) era do animal mais jovem (4,5 anos). Zamboni e colaboradores (1974) verificaram uma grande quantidade de macrófagos fagocitando os espermatozoides nas análises microscópicas em seu estudo, em um animal que tinha em média 3 anos de idade, fora do período reprodutivo, podendo justificar amostras com baixa concentração. Os pesquisadores também relataram alterações frequentes como atrofia e desorganização dos túbulos seminíferos dos animais fora da estação reprodutiva, uma vez que os animais púberes estão no início do processo de espermatogênese (DIXSON, 2015).

Embora Mann e colaboradores (1998) tenham encontrado boas médias nas concentrações espermáticas de macacos rhesus de 4 anos de idade, o seu estudo foi conduzido durante a estação reprodutiva, o que influencia diretamente na qualidade seminal e concentração espermática (HARRISON *et al.*, 1977; DE VILLIERS, 2018).

Um animal de 12 anos com amostra contendo baixa concentração em relação à média ( $25 \times 10^6$  spz/ mL) apresentava evidências sugestivas de acentuada assimetria testicular.

Harrison e colaboradores (1977) em seu experimento, analisaram sêmen de macacos rhesus maduros não submetidos à vasectomia, bilateral ou unilateral, e observaram que os dados obtidos para o grupo de vasectomia unilateral variaram bastante em comparação ao grupo não submetido à cirurgia. Com isso, os autores levantaram a hipótese de que o eletrodo, de acordo com o posicionamento na ampola retal, poderia estimular mais um lado da genitália interna do que o outro, e esta estimulação seletiva poderia explicar as concentrações espermáticas muito diferentes entre os animais deste estudo.

Nenhum animal, no presente estudo, possuía diagnóstico primário de insuficiência do sistema reprodutivo quanto à fisiologia do testículo, epidídimo e/ou ductos para justificar uma melhor produção de um lado em relação ao outro, contudo, a discrepância de tamanho entre os testículos neste indivíduo poderia estar relacionada a algum tipo de deficiência na produção espermática.

Por fim, o último animal com a concentração ( $30 \times 10^6$  spz/ mL) e MRP (10%) relativamente baixos, foi também um animal já supracitado, que obteve amostra de maior volume de ejaculado, contudo, sem nenhum sinal de ereção ao estímulo retal. Schafer e colaboradores (1989) revisa em seu trabalho, que a concentração espermática é afetada diretamente pela secreção das glândulas acessórias, no que diz respeito ao volume do ejaculado. Esta amostra foi a que obteve maior volume do presente trabalho (1 mL), porém o animal não teve ereção em nenhum momento durante os estímulos, deixando a dúvida se este não teve um estímulo completo ou se poderia ser portador de alguma patologia como disfunção erétil, conforme discutido anteriormente.

Uma hipótese para justificar o maior volume expelido neste caso seria uma possível contaminação da amostra por urina, como já relatado em felinos, peixes, quatis e macacos (ÁVILA *et al.*, 2012; BARROS *et al.*, 2009; DREANNO *et al.*, 1998; LAZENDORF *et al.*, 1990). No estudo de Barros e colaboradores (2009), os animais foram sedados com cetamina + xilazina, assim como no presente trabalho. O relaxamento muscular promovido pela xilazina, pode ter sido excessivo e estar diretamente relacionado com a contaminação das amostras por urina, como já observado em outras classes de sedativos (HOWARD, 1993). Dreanno e colaboradores (1998) também constataram o percentual de motilidade progressiva reduzido, na avaliação seminal de peixes, devido a contaminação por urina, contudo, no presente estudo, não foram empregadas análises específicas na amostra para esta constatação, deste modo, apenas levantando a possibilidade de tal ocorrência.

Não foi encontrado na literatura revisada, nenhuma referência sobre a avaliação mitocondrial de espermatozoides em macacos rhesus por meio da coloração de DAB. Esta avaliação não parece ser muito comum no que diz respeito a estudos nesta espécie. Hung e colaboradores (2008) utilizaram um corante vermelho fluorescente (MitoTracker® Red CMXRos) para esta avaliação com espermatozoides de rhesus, e verificaram três graus diferentes de atividade mitocondrial, de acordo com a coloração observada na microscopia, classificando como ativo, parcialmente ativo e inativo e suas respectivas porcentagens. No entanto, essa coloração necessita de um equipamento de microscopia de fluorescência e, portanto, mais sofisticado, nem sempre disponível nos laboratórios de andrologia. Alguns pesquisadores já utilizaram, com sucesso, a coloração de DAB descrita por Hrudka (1987) para esta análise em outros primatas não humanos (CARVALHO, 2016; KUGELMEIER, 2011; VALLE, 2007; VIANA, 2013). Na tabela 12 estão expressos os dados encontrados pelos autores supracitados em seus estudos.

**Tabela 11 - Percentual de atividade mitocondrial em primatas não humanos descritos na literatura e no presente estudo. Rio de Janeiro, 2020.**

Legenda: DAB – Diaminobenzedina

	Presente estudo ( <i>Macaca mulatta</i> )	Valle, 2007 ( <i>Callithrix jacchus</i> )	Kugelmeier, 2011 ( <i>Saimiri sciureus</i> )	Carvalho, 2016 ( <i>Alouatta caraya</i> )	Viana, 2013 ( <i>Saimiri sciureus</i> )
DAB I (%)	83,40 ± 8,09	18,19 ± 1,95	72,17 ± 4,02	23,42 ± 2,56	68,8 ± 2,4
DAB II (%)	13,60 ± 4,32	55,74 ± 2,40	25,33 ± 3,63	56,92 ± 2,99	28,5 ± 2,2
DAB III (%)	7,50 ± 6,50	14,78 ± 2,15	2,08 ± 0,63	14,00 ± 2,24	2,3 ± 0,5
DAB IV (%)	0	10,81 ± 1,56	0,50 ± 0,33	5,67 ± 1,27	0,8 ± 0,5

Os resultados obtidos neste trabalho embasam a importância de uma avaliação física e andrológica para o monitoramento e manejo reprodutivo de uma criação de primatas não humanos. Um exame andrológico bem aplicado com avaliações de biometrias genital e corporal pode elucidar evidências importantes para a prevenção de comorbidades que influenciam diretamente no sucesso e na qualidade da descendência dos animais, além de trazer informações importantes sobre as características fisiológicas e anatômicas dos animais mantidos sob cuidados humanos, do ponto de vista reprodutivo.

A avaliação seminal caracteriza-se um procedimento usual em criações de animais. No presente trabalho, foi possível obter amostras seminais e avaliar sua

funcionalidade em macacos rhesus por meio de eletroestimulação retal. Além da colheita e avaliação de sêmen, foi a primeira vez que se realizou o procedimento de avaliação andrológica detalhada, inclusive com a utilização da ferramenta de exame ultrassonográfico para avaliação e mensuração de medidas biométricas nos macacos rhesus da criação do ICTB em 88 anos de sua existência.

## 6 CONCLUSÕES

Sob as condições em que se realizaram esse estudo, é possível concluir que:

- A dosagem de testosterona é um bom critério para auxiliar na avaliação do desenvolvimento reprodutivo, ou seja, da puberdade à maturidade sexual e o momento do início da senescência reprodutiva.
- O uso das biometrias testiculares por fita métrica, paquímetro e ultrassonografia são eficazes na seleção de animais com melhor potencial reprodutivo. A ultrassonografia apresenta a vantagem da avaliação do desenvolvimento do parênquima e permite a mensuração da circunferência testicular de macacos rhesus com maior precisão quando comparada à fita métrica.
- É possível obter amostras de sêmen de *M. mulatta* a partir de cinco anos de idade por meio de eletroestimulação pela via retal com boa qualidade seminal, mesmo ao final da estação de acasalamentos.

Em condições ideais, os macacos rhesus avaliados e pré-selecionados na puberdade, com base nos critérios aqui expostos, devem ter seu processo de seleção completado após atingirem a maturidade sexual, para que seja possível correlacionar os achados dos exames clínico, físico e hormonal com a avaliação da qualidade seminal de cada animal. Dessa maneira, classificar os animais em aptos, questionáveis ou inaptos à reprodução e contribuir para a implantação bem-sucedida do programa de manejo reprodutivo.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os procedimentos planejados e executados durante esse estudo geraram subsídios para a elaboração de procedimentos operacionais padronizados (POPs) objetivando o refinamento do programa de manejo reprodutivo da colônia de *Macaca mulatta* do ICTB.

Outras abordagens estavam planejadas para o presente estudo, como a realização dos exames andrológicos e dosagem hormonal em três diferentes momentos: pré-estação de acasalamentos, no meio e no final da estação e avaliação citogenética. Contudo, com a instalação da pandemia da COVID-19, as atividades consideradas não emergenciais

precisaram ser suspensas, impossibilitando a continuidade desta projeção, o que não exclui a necessidade e planejamento de futuros estudos nessa área.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, M. R.; KAPLAN, J. R.; KORITNIK, D. R.; WEAVER, D. S.; BOND, M. G. Erectile failure in cynomolgus monkeys with atherosclerosis of the arteries supplying the penis. **The Journal of Urology**. Linthicum. v. 131, n. 3, p. 571-573. 1984. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)50506-6](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)50506-6) . Acesso em: 29 jun. 2020.

AGCA, Y.; MULLEN, S.; LIU, J.; JOHNSON-WARD, J.; GOULD, K.; CHAN, A.; CRITSER, J. Osmotic tolerance and membrane permeability characteristics of rhesus monkey (*Macaca mulatta*) spermatozoa. **Cryobiology**. Columbus, v. 51, n. 1, p. 1-14, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2005.04.004> . Acesso em: 21 jun. 2020.

AMANN, R. P.; JOHNSON, L.; THOMPSON JR, D. L.; PICKETT, B. W. Daily spermatozoal production, epididymal spermatozoal reserves and transit time of spermatozoa through the epididymis of the rhesus monkey. **Biology of Reproduction**, Oxford, v. 15, n. 5, p. 586-592. New York. 1976.

ANDRADE, M. C. R.; PENEDO, M. C. T.; WARD, T.; SILVA, V. F.; BERTOLINI, L. R.; ROBERTS, J. A.; CABELLO, P. H. Determination of genetic status in a closed colony of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **Primates**, Inuyama, v. 45, n. 3, p. 183-186, 2004a. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10329-004-0084-x.pdf> . Acesso em 13 jun. 2020.

ANDRADE, M. C. R.; RIBEIRO, C. T.; DA SILVA, V. F.; MOLINARO, E. M.; GONÇALVES, M. A. B.; MARQUES, M. A. P.; CABELLO, P. H.; LEITE, J. P. G. Biologic data of *Macaca mulatta*, *M. fascicularis*, and *Saimiris sciureus* used for research at the Fiocruz primate center. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 6, p. 584-589, 2004b. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762004000600009> . Acesso em: 25 jun. 2019.

ARAÚJO, G. R.; PAULA, T. A. R.; DECO-SOUZA, T.; MORATO, R. G.; BERGO, L. C. F.; SILVA, L. C.; JORGE-NETO, P. N.; SAMPAIO, B. F. B. Colheita farmacológica de sêmen de onças-pardas (*Puma concolor*: Mammalia: Carnivora: *Felidae*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte. v. 72, n. 2, p. 437-442, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-11030> . Acesso em: 18 jun. 2020.

ARRUDA, R. P., CELEGHINI, E. D. C., ALONSO, M. A., CARVALHO, H. F., OLIVEIRA, L. Z., NASCIMENTO, J., JAIMES, J. D. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. **Revista Brasileira**

**de Reprodução Animal**, Belo horizonte, v. 35, n. 2, p. 145-151, 2011. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v35n2>. Acesso em 24 abr 2020

ARTEAGA, ANDRES A.; BARTH, ALBERT D.; BRITO, LEONARDO FC. Relationship between semen quality and pixel–intensity of testicular ultrasonograms after scrotal insulation in beef bulls. **Theriogenology**, Stoneham, v. 64, n. 2, p. 408-415, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.12.008>. Acesso em 13 jul 2020

ASQUITH, M.; HABERTHUR, K.; BROWN, M.; ENGELMANN, F.; MURPHY, A.; AL-MAHDI, Z.; MESSAOUDI, I. Age-dependent changes in innate immune phenotype and function in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **Pathobiology of Aging Age-related Diseases**, Bethesda, v. 2(1), p. 18052, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3402/pba.v2i0.18052> . Acesso em: 20 jun. 2020.

ÁVILA, E. C.; PAULA, T. A. R.; DECO-SOUZA, T.; TRINDADE, T. F. S. L.; MASCARENHAS, R. M.; ARAUJO, G. R.; POLLI, G. O.; CSERMAK JR, A. C. Protocolos de coleta de sêmen por eletroejaculação em jaguatiricas (*Leopardus pardalis*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v 36, p 260-263. 2012. Disponível em: [http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v36n4/p260-263%20\(RB418\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v36n4/p260-263%20(RB418).pdf). Acesso em: 30 jun. 2020.

BARBOSA, R. T.; MACHADO, R. A importância do exame andrológico em bovinos. **Embrapa Pecuária Sudeste-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, São Carlos, p 1-13. 2005. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/47256/1/Circular41.pdf>. Acesso em: 21 mar 2019.

BARNABE, R. C.; GUIMARÃES, M. A. D. B. V.; OLIVEIRA, C. A. D.; BARNABE, A. H. Analysis of some normal parameters of the spermogram of captive capuchin monkeys (*Cebus apella* Linnaeus, 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo. v. 39, p. 331-333. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-95962002000600010> . Acesso em: 02 jun. 2020.

BARR, A. B. Timing of spermatogenesis in four nonhuman primate species. **Fertility and Sterility**, New York, v. 24, n. 5, p. 381-389, 1973. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4633401/>. Acesso em: 28 jan. 2019.

BARROS, F. F. P. C.; QUEIROZ, J. P. A. F.; SANTOS, E. A. A.; PAULA, V. V.; FREITAS, C. I. A.; SILVA, A. R. Use of two anesthetic combinations for semen collection by electroejaculation from captive coatis (*Nasua nasua*). **Theriogenology**, Stoneham, v. 71, n. 8 p. 1261-1266, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.01.003> . Acesso em: 02 jun. 2020.

BASARIA, S. Reproductive aging in men. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, [S.l.] v. 42, n. 2, p. 255-270, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2013.02.012> . Acesso em: 19 jun. 2020.

BENNETT, B. T.; ABEE, C. R.; HENRICKSON, R. Important biological features. In: FORTMAN, K. D.; HEWETT, T. A.; BENNETT, B. T. **The laboratory Nonhuman Primate**. 2 ed. London. Academic Press; Boca Raton. 2002, p. 1-77.

BERCOVITCH, F. B. Dominance rank and reproductive maturation in male rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **Reproduction**, [S.l.], v. 99, n. 1, p. 113-120, 1993.

BERCOVITCH, F. B.; RODRIGUEZ, J. F. Testis size, epididymis weight, and sperm competition in rhesus macaques. **American journal of primatology**, Nova Jersey, v. 30, n. 2, p. 163-168, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ajp.1350300208>. Acesso em 9 ago 2019

BERCOVITCH, F. B.; WIDDIG, A.; TREFILOV, A.; KESSLER, M. J.; BERARD, J. D.; SCHMIDTKE, J.; NÜRNBERG, P.; KRAWCZAK, M. A longitudinal study of age-specific reproductive output and body condition among male rhesus macaques, *Macaca mulatta*. **Naturwissenschaften**, Durhan. v. 90, n. 7, p. 309-312, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00114-003-0436-1> . Acesso em: 23 jan. 2019.

BERGSTEIN, T. G.; WEISS, R. R.; BICUDO, S. D. Técnicas de análise de sêmen. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo horizonte, v. 38, n. 4, p. 189-194, 2014. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v38n4>. Acesso em: 25 jul 2020

BERMAN, C. M. Effects of being orphaned: A detailed case study of an infant rhesus. In: HIND, A. R. **Primate social relationships: An integrated approach**. Oxford. Blackwell Scientific, p. 79-81, 1983.

BERNSTEIN, I. S., RUEHLMANN, T. E., JUDGE, P. G., LINDQUIST, T., WEED, J. L. Testosterone changes during the period of adolescence in male rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **American journal of primatology**, Nova Jersey, v. 24, n. 1, p. 29-38, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ajp.1350240104>. Acesso em: 15 mai 2020

BICUDO, S. D.; SIQUEIRA, J. B.; MEIRA, C. Patologias do sistema reprodutor de touros. **Biológico**, Botucatu. v. 69, n. 2, p. 43-48, 2007. Disponível em: [http://www.biológico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v69\\_2/p43-48.pdf](http://www.biológico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v69_2/p43-48.pdf). Acesso em: 18 jun. 2020.

BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nordisk veterinærmedicin**, Chicago. v. 25, p. 383-391, 1973. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4768226/>. Acesso em: 8 jun. 2020.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Anexo à Resolução Normativa nº 28, de 13 de novembro de 2015. [Dispõe sobre primatas não humanos em instalações de ensino e pesquisa]. **Diário Oficial da União**: Seção I: Brasília, DF, p. 44, 16 nov. 2015. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. D.O.U. de 16/11/2015, Seção I, p 44. Brasília, 2015.

CARVALHO, F. M. **Criopreservação de sêmen de primatas não-humanos**. 2016. São Paulo: Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, 2016. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde-27092016-153001/pt-br.php> Acesso em 03 jun. 2020.

CARVALHO, J. C. d.; SILVA, F. E. d.; RIZZOTO, G.; DADALTO, C. R.; ROLIM, L. S.; MAMPRIM, M. J.; SOUZA, F. F. d.; TEIXEIRA, C. R.; KASTELIC, J. P.; FERREIRA, J. C. P. Semen collection, sperm characteristics and ultrasonographic features of reproductive tissues in crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). **Theriogenology**, Stoneham, v 155, n. 1, p. 60-60, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.06.016> . Acesso em: 05 jul. 2020.

CHAMPION, Richard H.; WEGRZYN, John. Congenital *os penis*. **The Journal of Urology**, Ridgewood, Washington DC, v. 91, p. 663, 1964. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14172255/>. Acesso em: 23 março 2019.

CHANDOLIA, R. K.; LUETJENS, C. M.; WISTUBA, J. YEUNG, CHING-HEI; NIESCHLAG, E.; SIMONI, M. Changes in endocrine profile and reproductive organs during puberty in the male marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). **Reproduction**, [S.l.], v. 132, p. 355–363, 2006. Disponível em: <https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/132/2/1320355.xml>. Acesso em: 05 julho de 2020.

CHAUHAN, R. N.; JHA, D. K. Role of sonography imaging in male infertility. **International Journal of Medical and Biomedical Studies (IJMBS)**, Ontario, v. 3, n. 10, p. 305-310, 2019. Disponível em: <https://www.ijmbs.info/index.php/ijmbs/article/view/710/560>. Acesso em: 05 julho de 2020.

COLD, C. J.; MCGRATH, K. A. Anatomy and histology of the penile and clitoral prepuce in primates. *In: Male and female circumcision*. Boston: Springer, 1999. p. 19-29. Disponível em: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-585-39937-9\\_3](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-585-39937-9_3). Acesso em: 4 jan 2019.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Organizado por Marc Henry, Jairo Pereira Neves e Maria Inês Mascarenhas Jobim. 3<sup>a</sup>. ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013, 104 p.

CUMMINS, J. M.; WOODALL, P. F. On mammalian sperm dimensions. **Reproduction**, [S.l.] v. 75, n. 1, p. 153-175, 1985. Disponível em: [https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/75/1/jrf\\_75\\_1\\_019.xml](https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/75/1/jrf_75_1_019.xml). Acesso em: 19 jun 2020.

CUNHA, D. M. S.; SOUZA, M. B. d.; BRITO, B. F.; TORRES, V. L.; NUNES, T. G. P.; TAVARES, S. S.; VIANA, D. d. A.; SILVA, L. D. M. d.; PEREIRA, L. M. C.; TEIXEIRA, D. Í. A. Testicular Morphological and Ultrasonographic Characterization of Male Gray Brocket Deers (*Mazama gouazoubira*) in Different Reproductive Status. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre. v. 47, p. 1712, 2019. Disponível em: <https://www.seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/98311>. Acesso em: 5 jul. de 2020.

DA CUNHA SOUSA, P., SAMPAIO, W. V., LEÃO, D. L., DOMINGUES, S. F. S., 2018. Belém. **Anais do IX Congresso Norte e Nordeste de Reprodução Animal**. Pará. Disponível em: [http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v42/n3-4/p196-201%20\(RB761\)](http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v42/n3-4/p196-201%20(RB761)). Acesso em 22 jun 2019

DE ARAÚJO, L. L.; DE LIMA, J. S.; OLIVEIRA, K. G.; MUNIZ, J. A. P. C.; DO VALLE, R. D. R.; DOMINGUES, S. F. S. Uso de solução à base de água de coco a 37° C como diluidor de sêmen de *Cebus apella* (macaco-prego) mantido em cativeiro. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia. v. 10, n. 2, p. 588-594. Goiás. 2009. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/2739>. Acesso em: 19 jun 2020.

DE ARRUDA, R. P., CELEGHINI, E. C. C., GARCIA, A. R., SANTOS, G. D. C., LEITE, T. G., OLIVEIRA, L. Z., LANÇONI, R., RODRIGUES, M. D. P. Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. **Revista Brasileira de**

**Reprodução Animal**. Belo Horizonte. v.39, n.1, p.47-60, 2015. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1029298>. Acesso em: 12 ago 2020.

DE MIRANDA, C. B.; CABALA, R. W.; ATAN, J. B. C. D.; MÜLLER, L. C. C. M.; SILVA, P. C.; DE MAGALHÃES VIVAS, L. A.; FERREIRA, M. L. Contenção farmacológica em primatas não-humanos com emprego de ketamina e xilazina. Uma revisão bibliográfica. **PUBVET**. Maringá. Art-1043. 2011. Disponível em: <https://www.pubvet.com.br/artigo/1503/contenccedilatildeo-farmacoloacutegica-em-primatas-natildeo-humanos-com-emprego-de-ketamina-e-xilazina-uma-revisatildeo-bibliograacutefica#:~:text=Facebook%20Twitter%20WhatsApp,.Conten%C3%A7%C3%A3o%20farmacol%C3%B3gica%20em%20primatas%20n%C3%A3o%2Dhumanos%20com%20emprego%20de%20ketamina,Uma%20revis%C3%A3o%20bibliogr%C3%A1ficatext=Descreve%2Dse%20um%20estudo%20do,de%20animais%20de%20vida%20livre>. Acesso em: 05 jun 2020

DE VILLIERS, C. A. Comparison between the semen and sperm parameters from the captive bred Vervet monkey (*Chlorocebus aethiops*) and Rhesus monkey (*Macaca mulatta*). **Journal of Medical Primatology**, Basel, v. 47, n. 4, p. 211-216, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29693257/>. Acesso em: 3 abril 2019.

DENIS, L. T.; POINDEXTER, A. N.; RITTER, M. B.; SEAGER, S. W.; DETER, R. L. Freeze preservation of squirrel monkey sperm for use in timed fertilization studies. **Fertility and Sterility**, [S.], v. 27, n. 6, p. 723-729, 1976. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/819313/>. Acesso em: 23 jan 2020.

DIAMOND, Jared. **Why is sex fun? The evolution of human sexuality**. Londres. Basic Books, 1998, 176 p.

DIXSON, A. F. Observations on the evolution of the genitalia and copulatory behaviour in male primates. **Journal of Zoology**, London, v. 213, n. 3, p. 423-443, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1987.tb03718.x>. Acesso em: 26 mar 2020.

DIXSON, A. F. Primate sexuality. **The international encyclopedia of human sexuality**, Haboken. Wiley-Blackwell, 2015, p. 861-1042.

DIXSON, A. F. Sexual Selection and Evolution of the Seminal Vesicles in Primates. **Folia Primatologica**, Basel, v. 69, n. 5, p. 300-306, 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9751836/>. Acesso em: 30 mai. 2019.

DIXSON, A. F. Sexual selection and the evolution of copulatory behavior in nocturnal prosimians. In: **Creatures of the Dark.**, Boston: Springer, p. 93-118. 1995. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/264936216\\_Sexual\\_Selection\\_and\\_the\\_Evolution\\_of\\_Copulatory\\_Behavior\\_in\\_Nocturnal\\_Prosimians](https://www.researchgate.net/publication/264936216_Sexual_Selection_and_the_Evolution_of_Copulatory_Behavior_in_Nocturnal_Prosimians). Acesso em: 15 março 2019.

DIXSON, A. F.; ANDERSON, M. J. Sexual selection, seminal coagulation and copulatory plug formation in primates. **Folia Primatologica**, Basel, v. 73, n. 2-3, p. 63-69, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12207054/>. Acesso em: 30 mai. 2019.

DIXSON, A. F.; NEVISON, C. M. The socioendocrinology of adolescent development in male rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **Hormones and Behavior**, New York, v. 31, n. 2, 126-135, 1997. Acesso em 10 de julho de 2020.

DOMINGOS, T. C. S.; SALOMÃO, M. C. Meios de diagnóstico das principais afecções testiculares em cães: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Minas Gerais, v. 35, n. 4, p. 393-399, 2011. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v35n4/pag393-399.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2020.

DONG, Q.; RODENBURG, S. E.; HUANG, C.; VANDEVOORT, C. A. Cryopreservation of rhesus monkey (*Macaca mulatta*) epididymal spermatozoa before and after refrigerated storage. **Journal of Andrology**, Philadelphia, v. 29, n. 3, p. 283-292, 2008.

DREANNO, C.; SUQUET, M.; DESBRUYERES, E.; COSSON, J.; LE DELLIU, H.; BILLARD, R. Effect of urine on semen quality in turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture**, London, 169(3-4), p. 247-262. 1998. Disponível em: <https://europepmc.org/article/agr/ind21987747>. Acesso em: 30 jun. 2020.

DUBUC, C.; ALLEN, W. L.; MAESTRIPIERI, D.; HIGHAM, J. P. IS MALE RHESUS MACAQUE RED COLOR. Is male rhesus macaque red color ornamentation attractive to females? **Behavioral ecology and sociobiology**, [S.l.], v. 68, n. 7, p. 1215-1224, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00265-014-1732-9>. Acesso em: 18 jun. 2020.

DURAN-REYNALS, F.; BUNTING, H.; VAN WAGENEN, G. Studies on the sex skin of *M. mulatta*. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York. v. 52, n. 7, p. 1006-1014, 1950. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15426117/>. Acesso em: 5 jan. 2019.

DURRANT, B. S. Semen collection, evaluation, and cryopreservation in exotic animal species: maximizing reproductive potential. **ILAR Journal**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 2-10, 1990. Disponível em: <https://academic.oup.com/ilarjournal/article/32/1/2/849731>. Acesso em: 3 mai 2019

ELY, J. J.; MANIS, G. S.; KEELING, M. E.; STONE, W. H. Maintenance of genetic variability in a specific pathogen-free breeding colony. **Laboratory Animal Science**, Braga, v. 44, n. 3, p. 211, 1994. Disponível: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7933965/>. Acesso em: 5 jan. 2019.

ESTRADA, A.; GARBER, P. A. Comparative perspectives in the study of South American Primates: Research Priorities and Conservation Imperatives. *In*: GARBER, P. A.; ESTRADA, A.; BICCA-MARQUES, J. C.; HEYMANN, E. W.; STRIER, K. B. **South American primates: comparative perspectives in the study of behavior ecology and conservation**. New York: Springer. p. 506-531. 2009.

EVANS, A. C.; PIERSON, R. A.; GARCIA, A.; MCDUGALL, L. M.; HRUDKA, F.; RAWLINGS, N. C. Changes in circulating hormone concentrations, testes histology and testes ultrasonography during sexual maturation in beef bulls. **Theriogenology**, Stoneham, v. 46, n. 2, p. 345-357, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(96\)00190-2](https://doi.org/10.1016/0093-691X(96)00190-2). Acesso em: 20 jun. 2020.

FEDIGAN, L. M. **Primate paradigms: Sex roles and social bonds**. University of Chicago Press, 1992. 386 p.

FERRAZ, F. S. **Morfofisiologia testicular de saguis híbridos de vida livre (*Callitrichidae: Primatas*)**, 2015. Rio de Janeiro. Dissertação: (*Magister Scientiae*) – Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Federal de Viçosa. 2015. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/6380>. Acesso em: 3 Out 2019.

FOLHADELLA, I. M. **Perfil proteico do sêmen e fertilidade de touros da raça Gir**. Belo Horizonte. Tese de doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais. 2007. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/SSLA-7TWGSJ>. Acesso em: 6 jan 2019.

FONSECA, V. O.; SANTOS, N. R.; MALINSKI, P. R. Classificação andrológica de touros zebus (*Bos taurus indicus*) com base no perímetro escrotal e características morfo-físicas do sêmen. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 21, n. 2, p. 36-39, 1997. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/44670/32949>. Acesso: 6 jan. 2019.

FOODEN, J. Ecogeographic segregation of macaque species. **Primates**. Inuyama v. 23, n. 4, p. 574-579, 1982. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02373969>. Acesso em: 20 abril 2019.

FORTMAN, J. D.; HEWETT, T. A.; HALLIDAY, L. C. **The laboratory nonhuman primate**. London. CRC press, 2017. 366 p.

FRÓIS, A. R. C. **Degeneração testicular em machos equinos**. Universidade Federal do Rio grande do Sul. Trabalho de Conclusão de Curso. Veterinária. Rio Grande do Sul. 2015. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/133669>. Acesso em: 19 jun. 2020.

FUI, M. N. T., DUPUIS, P., GROSSMANN, M. Lowered testosterone in male obesity: mechanisms, morbidity and management. **Asian journal of andrology**, Xangai, v. 16, n. 2, p. 223, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3955331/>. Acesso em 10 jul 2020,

FURTHNER, E., CORDONNIER, N., LE DUDAL, M., FONTBONNE, A., FREICHE, V. Is electroejaculation a safe procedure in cats? An endoscopic and histological prospective blinded study. **Theriogenology**, v. 119, p. 69-75, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.06.013> Acesso em: 08 mar 2019

GAGE, M. J. G.; FRECKLETON, R. P. Relative testis size and sperm morphometry across mammals: no evidence for an association between sperm competition and sperm length. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: **Biological Sciences**, São Paulo. v. 270, n. 1515, p. 625-632, 2003. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.2002.2258>. Acesso em: 25 out 2019.

GARCIA, A. R. Degeneração testicular: um problema superado ou ainda um dilema? **Embrapa Pecuária Sudeste**, São Carlos. 2017. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/166796/1/GARCIA-2017-Degeneracao-Testicular.pdf> Acesso em: 20 jun. 2020.

GELBARD, M. K. Dystrophic penile calcification in Peyronie's disease. **The Journal of Urology**. Washington Dc. v. 139, n. 4, p. 738-740, Elsevier. 1988, 451 p. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022534717426176>. Acesso em: 21 abril 2019.

GILCHRIST, ROBERT B.; NAYUDU, PENELOPE L.; KEITH HODGES, J. Maturation, fertilization, and development of marmoset monkey oocytes in vitro.

**Biology of reproduction**, Oxford, v. 56, n. 1, p. 238-246, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/biolreprod56.1.238> Acesso em: 16 abr 2019

GODINHO, C.; RODRIGUES, I. Comparison of free testosterone results by a radioimmunoassay and a chemiluminescent assay. *In*: 19th European Congress of Endocrinology. **BioScientifica**, Bristol. 2017. Acesso em 20 de julho de 2020.

GONÇALVES, P. B. D.; DE FIGUEIREDO, J. R.; DE FIGUEIRÊDO FREITAS, V. J. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. Editora Roca, 2008. 395 p.

GONDOKUSUMO, J. B.; BUTANEY, M.; BALASUBRAMIAN, A.; BEILAN, J. A.; TATEM, A. J.; THIRUMAVALAVAN, N.; PASTUSZAK, A. W.; LIPSHULTZ, L. I. The use of scrotal ultrasound in the evaluation of varicoceles: A survey study of reproductive specialists. **Canadian Urological Association Journal (CUAJ)**, Dorval, v. 14, n. 8, 2020. Disponível em: <https://cuaj.ca/index.php/journal/article/view/6147/4351>. Acesso em: 05 julho de 2020.

GOULD, K. G.; WARNER, H.; MARTIN, D. E. Rectal probe electroejaculation of primates. **Journal of Medical Primatology**, Basel, v. 7, p. 213-222, 1978. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/Abstract/459881>. Acesso em: 14 set 2019.

GROVES, Colin P. **Order primates**. Mammal species of the world, 2005.

GROVES, Colin P. **Primate taxonomy**. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 2001, 350 p.

GUPTA, G. R. Gender, sexuality, and HIV/AIDS: The what, the why, and the how. **Canadian HIV AIDS Policy & Law Review**, [S.l.] v. 5, n. 4, p. 86-93, 2000.

HARCOURT, A. H. Sexual selection and sperm competition in primates: what are male genitalia good for? **Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews**, [S.l.] v. 4, n. 4, p. 121-129, 1995. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/evan.1360040404> Acesso em: 5 ago 2019.

HARDIN, C. J.; LIEBHERR, G.; FAIRCHILD, O. Artificial insemination in chimpanzees. **International Zoo Yearbook**, [S.l.] v. 15, n. 1, p. 132-134, 1975. Disponível em: <https://zslpublications.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1748-1090.1975.tb01376.x>. Acesso em: 28 de set 2019.

HARRISON, R. M., DOMINGUE, G. J., HEIDGER JR, P. M., ROBERTS, J. A., SCHLEGEL, J. U. Vasectomy in rhesus monkeys I. Surgical techniques and gross observations. **Urology**, Ridgewood, v. 9, n. 6, p. 639-644, 1977. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0090-4295\(77\)90310-7](https://doi.org/10.1016/0090-4295(77)90310-7). Acesso em 13 abr 2020.

HARRISON, R. M.; KUBISCH, H. M. Male reproduction and fertilization. In: WOLFE – COOTE, S. **The laboratory primate**, London, *Elsevier*, 2005. p. 119-132.

HARTMAN, C. G. **Studies in the reproduction of the monkey *Macacus (Pithecus) rhesus*, with special reference to menstruation and pregnancy**. Contributions to Embriology, Washington, v. 134, p. 3-160, 1932.

HARTMAN, H. C. The reproductive systems. In: STRAWS, JR.; **The anatomy of the Rhesus Monkey (*Macaca mulatta*)**. New York. Hartnor publishing Co. 1933. p. 231-247.

HENDRICKX, A. G. DUKELOW, W. R. Reproductive Biology. In: BENNET, B. T.; ABEE, C. R. HENRICKSON, R. BENNET, B. T.; ABEE, C. R. HENRICKSON, R. **Nonhuman Primates in Biomedical Research: biology and management**. San Diego: Academic Press, 1995, 536 p.

HERSHKOVITZ, P. **Living new world monkeys (*Platyrrhini*)**. University of Chicago Press, 1977, 1132 p.

HOWARD, J. G. Semen Collection and Analysis in Carnivores. In: FOWLER, M. E. **Zoo and Wild Animal Medicine**. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders. p. 390-398. 1993. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/abmvz/v64n2/a10v64n2.pdf> Acesso em: 05 jun 2020.

HRUDKA, F. Cytochemical and ultracytochemical demonstration of cytochrome c oxidase in spermatozoa and dynamics of its changes accompanying ageing or induced by stress. **International Journal of Andrology**, Philadelphia, v. 10, n. 6, p. 809-828, 1987. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2828243/>. Acesso em: 6 ago 2019.  
<https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2007.00232.x>. Acesso em: 20 de jul. 2020.

HUNG, P. H.; MILLER, M. G.; MEYERS, S. A.; VANDEVOORT, C. A. Sperm mitochondrial integrity is not required for hyperactivated motility, zona binding, or acrosome reaction in the rhesus macaque. **Biology of Reproduction**, Oxford. v. 79, n. 2, p. 367-375, 2008. Disponível: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18480469/> Acesso em: 04 jul. 2020.

KANAZAWA, M. Y.; SCOTT, C.; WILGES, C. H. D. M.; DIAS, L. G. G. G.; SOUZA, F. F. D. Correlação da circunferência escrotal, citologia testicular e parâmetros do sêmen do epidídimo de touros. **Enciclopédia Biosfera**, São Paulo. v. 201, n. 8, p. 517-527, 2012. Acesso em: 13 de jul. 2020.

KAR, R. N.; DAS, R. K. Induction of sperm head abnormalities in mice by three tranquilizers. **Cytobios**, [United Kingdom](#) v. 36, n. 141, p. 45-51, 1983. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6132780/>. Acesso em: 04 jun 2020.

KEMNITZ, J. W.; GOY, R. W.; FLITSCH, T. J.; LOHMILLER, J. J.; ROBINSON, J. A. Obesity in Male and Female Rhesus Monkeys: Fat Distribution, Glucoregulation, and Serum Androgen Level. **The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**, Oxford, v. 69, n. 2, p. 287-293, 1989. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2666427/>. Acesso em: 12 maio 2019.

KUEDERLING, I., MORRELL, J. M.; NAYUDU, P. L. Collection of semen from marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*) for experimental use by vaginal washing. **Laboratory animals**, Memphis v. 30, n. 3, p. 260-266, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1258/002367796780684845>. Acesso em: 2 ago 2020

KUGELMEIER, T. **Colheita e análise do sêmen de macaco de cheiro (*Saimiri sciureus*) por vibroestimulação: do condicionamento ao coágulo seminal**. 2011. São Paulo: Tese (Doutorado em Ciência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, 2011. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde-08102012-153339/en.php>. Acesso em: 21 jul. 2018.

KUGELMEIER, T.; VALLE, RODRIGO DEL RIO; MONTEIRO, F. O. B. Biologia da reprodução. In: ANDRADE, A; ANDRADE, M. C. R.; MARINHO, A. M.; FERREIRA FILHO, J. **Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2010, p. 57-107.

LANZENDORF, S. E.; GLIESSMAN, P. M.; ARCHIBONG, A. E.; ALEXANDER, M.; WOLF, D. P. Collection and quality of rhesus monkey semen. **Molecular Reproduction and Development**, [S.l.] v. 25, n. 1, p. 61-66. 1990. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mrd.1080250111>. Acesso em: 30 jun 2020.

LEAL, G. M. **Avaliação de dados morfométricos de macacos rhesus (*Macaca mulatta*, ZIMMERMAN, 1780), curva de crescimento e indícios de obesidade na**

**criação em cativeiro**. 2016. Rio de Janeiro. Monografia. (Bacharel em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”. Duque de Caxias. 2016.

LEMOS, G. G.; CUNHA, I. C. N.; CONFORTI, V. A.; BASTOS, R.; QUIRINO, C. R.; FAES, M. R. Concentração dos metabólitos de estradiol e progesterona fecais no cachorro-do-mato-vinagre (*Speothos venaticus*) (Lund, 1842) pelos métodos de radioimunoensaio e quimioluminescência. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte. v. 39, p. 289-295, 2015. Disponível em: [http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v39n2/pag289-295%20\(RB518\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v39n2/pag289-295%20(RB518).pdf). Acesso em 20 de julho de 2020.

LINDBURG, D. G. The rhesus monkey in North India: an ecological and behavioral study. **Primate behavior: developments in field and laboratory research**, [S.l.] v. 2, p. 1-106, 1971.

LOPES, F. G.; GUIMARÃES, J. D.; COSTA, E. P. D.; CARVALHO, G. R. D.; MIRANDA NETO, T. Avaliação andrológica por pontos e comportamento sexual em touros da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 6, p. 1018-1025, 2009. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S15165982009000600007script=sci\\_abstractlng=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S15165982009000600007script=sci_abstractlng=pt) Acesso em: 4 de fev 2019.

LOWENSTINE, Linda J.; MCMANAMON, R.; TERIO, K. A. Comparative pathology of aging great apes: bonobos, chimpanzees, gorillas, and orangutans. **Veterinary Pathology**, Basel, v. 53, n. 2, p. 250-276, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26721908/> Acesso em: 18 jun. 2020.

MANN, D. R.; AKINBAMI, M. A.; GOULD, K. G.; PAUL, K.; WALLEN, K. Sexual maturation in male rhesus monkeys: importance of neonatal testosterone exposure and social rank. **Journal of Endocrinology**, London, v. 156, n. 3, p. 493-501, 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9582506/>. Acesso em: 30 jun. 2020.

MARBERGER, H. The mechanisms of ejaculation. *In: Physiology and genetics of reproduction*. Boston: Springer, p. 99-110, 1974. Disponível em: [https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4684-2892-6\\_7](https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4684-2892-6_7) Acesso em: 29 jun. 2020.

MARSON, J., GERVAIS, D., MEURIS, S., COOPER, R. W., JOUANNET, P. Influence of ejaculation frequency on semen characteristics in chimpanzees (*Pan troglodytes*). **Reproduction**, v. 85, n. 1, p. 43-50, 1989. Disponível em:

[https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/85/1/jrf\\_85\\_1\\_005.xml](https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/85/1/jrf_85_1_005.xml). Acesso em: 16 abr 2019

MARTIN, D. E.; GOULD, K. G. The male ape genital tract and its secretions. In: GRAHAM, C. E. **Reproductive biology of the great apes: comparative and biomedical perspectives**, [S.l.] Elsevier, 1981, p. 127-161.

MASTROIANNI JR, L.; MANSON JR, W. A. Collection of monkey semen by electroejaculation. **Proceedings of the society for experimental biology and medicine**, [S.l.] v. 112, n. 4, p. 1025-1027, 1963. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.3181/00379727-112-28242>. Acesso em: 15 out. 2019.

MATSUBAYASHI, K. Comparison of the two methods of electroejaculation in the Japanese monkey (*Macaca fuscata*). **Experimental Animals**, Tokyo, v. 31, n. 1, p. 1-6, 1982. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7075683/>. Acesso em: 02 jun. 2020.

MCDONNELL, S. M. Ejaculation: physiology and dysfunction. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, [S.l.] v. 8, n. 1, p. 57-70, 1992. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1576554/> Acesso em: 05 jun. 2020.

MEHLMAN, P. T.; HIGLEY, J. D.; FERNALD, B. J.; SALLEE, F. R.; SUOMI, S. J.; LINNOILA, M. CSF 5-HIAA, testosterone, and sociosexual behaviors in free-ranging male rhesus macaques in the mating season. **Psychiatry research**, Boston, v. 72, n. 2, p. 89-102, 1997. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016517819700084X> . Acesso em: 04 jun. 2020.

MELNICK, D. J.; PEARL, M. C.; RICHARD, A. F. Male migration and inbreeding avoidance in wild rhesus monkeys. **American Journal of Primatology**, Nova Jersey. 7, n. 3, p. 229-243, 1984. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajp.1350070303>. Acesso em 5 abr. 2019.

MILLER, R. E.; BOEVER, W. J. Testicular torsion and neoplasia in a black lemur (*Lemur macaco*). **The Journal of Zoo Animal Medicine**, [S.l.] v. 18, n. 4, p. 148-150, 1987. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/20094828?seq=1>. Acesso em: 19 jun. 2020.

MITTERMEIER, R. A.; KONSTANT, W. R.; MAST, R. B. Use of Neotropical and Malagasy primate species in biomedical research. **American Journal of Primatology**,

Nova Jersey, v. 34, n. 1, p. 73-80, 1994. Disponível em:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31936987/>. Acesso em: 07 jan. 2020.

MITTERMEIER, R. A.; RYLANDS, A. B.; KONSTANT, W. R. Primates of the world: an introduction. **Walker's Primates of the World**, [S.l.] The Johns Hopkins University Press, 1999. p. 1-52.

MØLLER, A. P. Ejaculate quality, testes size and sperm competition in primates. **Journal of Human Evolution**, London, v. 17, n. 5, p. 479-488, 1988.

MORRELL, J. M.; KÜDERLING, I.; HODGES, J. K. Influence of semen collection method on ejaculate characteristics in the common marmoset, *Callithrix jacchus*. **Journal of Andrology**, Philadelphia, v. 17, n. 2, p. 164-172, 1996.

MUEHLENBEIN, M. P.; CAMPBELL, B. C.; MURCHISON, M. A.; PHILLIPPI, K. M. Morphological and hormonal parameters in two species of macaques: impact of seasonal breeding. **American Journal of Physical Anthropology**, Philadelphia, v. 117, n. 3, p. 218-227, 2002. Disponível em:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajpa.10030> . Acesso em: 03 jun 2020.

MUROYAMA, Y.; SHIMIZU, K.; SUGIURA, H. Seasonal variation in fecal testosterone levels in free-ranging male Japanese macaques. **American Journal of Primatology**, Nova Jersey, v. 69, n. 6, p. 603-610, 2007. Disponível em:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17245756/> Acesso em: 04 jul. 2020.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**, Memphis, 8 ed. Washington: National Academy Press, 2011, 220 p. Disponível em <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf> Acesso em: 04 jul 2020.

NEVISON, C. M.; RAYMENT, F. D. G.; SIMPSON, M. J. A. Birth sex ratios and maternal social rank in a captive colony of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **American Journal of Primatology**, Nova Jersey, v. 39, n. 2, p. 123-138. 1996. Disponível em:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/%28SICI%291098-2345%281996%2939%3A2%3C123%3A%3AAID-AJP4%3E3.0.CO%3B2-0>. Acesso em: 20 dez. 2019.

NOWAK, R M.; WALKER, E. P. **Walker's Primates of the World**. London: Johns Hopkins University Press, 1999, 232 p.

O'KELLY, F., MANECKSHA, R. P., CULLEN, I. M., MCDERMOTT, T. E., FLYNN, R., GRAINGER, R. Electroejaculatory stimulation and its implications for male infertility in spinal cord injury: a short history through four decades of sperm retrieval (1975-2010). **Urology**, Ridgewood, v. 77, n. 6, p. 1349-1352, 2011. Disponível em: <https://doi:10.1016/j.urology.2011.01.05>. Acesso em: 12 jul 2020

OLIVEIRA, K. G.; CASTRO, P. H. G. D.; MUNIZ, J. A. P. C.; DOMINGUES, S. F. S. Semen conservation and seminal clot liquefaction of capuchin monkey (*Cebus apella*) in powdered coconut water extender (PCW) at different temperatures. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 40, n. 3, p. 617-621, 2010. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_abstractpid=S0103-84782010000300019&lng=pt&nrm=isot&lng=en](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstractpid=S0103-84782010000300019&lng=pt&nrm=isot&lng=en). Acesso em: 20 março 2019.

PISSINATI, A., GOLDSCHMIDT, B., SOUZA, I. V. **Taxonomia**. In: ANDRADE, A.; ANDRADE, M. C. R.; MARINHO, A. M.; FERREIRA FILHO, J. **Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2010. p. 41-56.

PISSINATI, A.; ANDRADE, M. C.R. Histórico. In: ANDRADE, A.; ANDRADE, M. C. R.; MARINHO, A. M.; FILHO, J. F.; **Biologia, manejo e medicina de primatas não humanos na pesquisa biomédica**, cap.1. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 21-39, 2010.

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**, Stoneham, v. 99, p. 134-145, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.05.031>. Acesso em: 20 dez. 2019.

PRAKASH, S; KAMAKSHI, K.; MUTHUSAMY, R. Spermatic granulomas in bonnet monkeys (an ultrasonographic study). **Folia Veterinaria**, Košice, v. 46, n. 1, p. 44-48, 2002. Disponível em: <http://www.uvlf.sk/document/fovia-veterinaria-volume-46-issue-1.pdf#page=45>. Acesso em 5 julho de 2020.

PTASZYNSKA, M. **Compêndio de Reprodução Animal**. Reprodução de cães. Ed. Intervet. p. 11, 2007.

RAMM, S. A.; STOCKLEY, P. Sperm competition and sperm length influence the rate of mammalian spermatogenesis. **Biology Letters**, v. 6, n. 2, p. 219-221, 2010. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsbl.2009.0635>. Acesso em: 15 março 2019.

RHODES, L.; ARGERSINGER, M. E.; GANTERT, L. T.; FRISCINO, B. H.; HOM, G.; PIKOUNIS, B.; RHODES, W. L. Effects of administration of testosterone, dihydrotestosterone, oestrogen and fadrozole, an aromatase inhibitor, on sex skin colour in intact male rhesus macaques. **Reproduction**, [S.l.], v. 111, n. 1, p. 51-57, 1997. Disponível em: <https://ohsu.pure.elsevier.com/en/publications/effects-of-administration-of-testosterone-dihydrotestosterone-oes-2>. Acesso em: 20 jun 2020.

ROBINSON, J. A.; SCHEFFLER, G.; EISELE, S. G.; GOY, R. W. Effects of age and season on sexual behavior and plasma testosterone and dihydrotestosterone concentrations of laboratory-housed male rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **Biology of Reproduction**, Oxford, v. 13, n. 2, p. 203-210, 1975. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/816396/>. Acesso em: 04 jul 2020.

ROSELLI, C. E., WEST, N. B., BRENNER, R. M. Androgen receptor and 5 $\alpha$ -reductase activity in the ductuli efferentes and epididymis of adult rhesus macaques. **Biology of reproduction**, Oxford, v. 44, n. 4, p. 739-745, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/biolreprod44.4.739>. Acesso em: 2 ago 2019

RUCH, T.C. “Bibliographica Primatologica” Part I. Thomas, Springfield, IL, 1941.

RUIZ DE ELVIRA, MC; HERNDON, JG; WILSON, ME Influência de fêmeas tratadas com estrogênio no comportamento sexual e nos níveis de testosterona masculina de um grupo social de macacos rhesus durante a estação não reprodutiva. **Biology of Reproduction**, Oxford, v. 26, n. 5, p. 825-834, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/biolreprod26.5.825> Acesso em 20 de julho de 2020.

RUIZ DE ELVIRA, M. C.; HERNDON, J. G.; WILSON, M. E. Influence of estrogen-treated females on sexual behavior and male testosterone levels of a social group of rhesus monkeys during the nonbreeding season. **Biology of reproduction**, Oxford, v. 26, n. 5, p. 825-834, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/biolreprod26.5.825>. Acesso em 31 jul 2020

RUSSELL, N. J.; FOSTER, S.; CLARK, P.; ROBERTSON, I. D.; LEWIS, D.; IRWIN, P. J. Comparison of radioimmunoassay and chemiluminescent assay methods to estimate canine blood cortisol concentrations. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v. 85, n. 12, p. 487-494, 2007. Disponível em:

RYLANDS, A. B.; MITTERMEIER, R. A. The diversity of the New World primates (Platyrrhini): an annotated taxonomy. *In: South American Primates*. New York: Springer, 2009, p. 23-54. Disponível em:

[file:///C:/Users/lara/Downloads/The Diversity of the New World Primates Platyrrhin.pdf](file:///C:/Users/lara/Downloads/The%20Diversity%20of%20the%20New%20World%20Primates%20Platyrrhin.pdf).  
Acesso em: 22 mai 2020.

SANTOS, D. O.; SIMPLÍCIO, A. A. Parâmetros escroto-testiculares e de sêmen em caprinos adultos submetidos à insulação escrotal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v. 35, n. 9, p. 1835-1841, 2000. Disponível em:  
[https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-204X2000000900016](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2000000900016).  
Acesso em: 20 jun. 2020.

SARASON, R. L.; VANDEVOORT, C. A.; MADER, D. R.; OVERSTREET, J. W. Electro-ejaculation by direct penile stimulation of restrained but unanesthetized macaques. **Journal of Medical Primatology**, Basel, v. 20, p. 122-125, 1991.

SCHAFFER, N.; CRANFIELD, M.; MEEHAN, T.; KEMPSKE, S. Semen collection and analysis in the conservation of endangered nonhuman primates. **Zoo Biology**, [S.l.] v. 8, S1, p. 47-60, 1989. Disponível em:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/zoo.1430080507>. Acesso em: 20 jun. 2020.

SCHMIDT, L. H. Problems and opportunities of breeding primates. *In*: Beveridge, W.I.B. **Breeding Primates**. Karger Publishers, 1971, p. 1-22. Acesso em: 21 julho 2019.

SCHURICH, M., AIGNER, F., FRAUSCHER, F., & PALLWEIN, L. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 144, p. S192-S198, 2009.  
Disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301211509001511>  
Acesso em 14 out 2020

SCHWARTZ, S. M., KEMNITZ, J. W., HOWARD, C. F. J. Obesity in free-ranging rhesus macaques. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity*, California, v. 17, n. 1, p. 1-9. 1992. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8383634/>. Acesso em 14 nov 2018

SEPPAN, P.; KRISHNASWAMY, K. Long-term study of vasectomy in *Macaca radiata* – histological and ultrasonographic analysis of testis and duct system. **Systems Biology in Reproductive Medicine**, [S.l.] v. 60, n. 3, p. 151–160, 2014. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.3109/19396368.2014.896957>. Acesso em: 5 jul. 2020.

SETCHELL, J. M.; DIXSON, A. F. Changes in the secondary sexual adornments of male mandrills (*Mandrillus sphinx*) are associated with gain and loss of alpha status. **Hormones and Behavior**, New York, v. 39, n. 3, p. 177-184, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0018506X00916283>. Acesso em: 20 jun. 2020.

SHIRAI, N.; EVANS, M. G. Testicular microlithiasis in a clinically healthy cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). **Journal of Toxicologic Pathology**, Tokyo, p. 2017-0065, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5938216/> Acesso em: 18 jun. 2020.

SILVA, A. E. D. F.; UNANIAN, M. M.; CORDEIRO, C. M. T.; FREITAS, A. R. D. Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade do sêmen em touros da raça Nelore, PO. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa. v. 31, n. 3, p. 1157-1165, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbz/v31n3/13067>. Acesso em 13 de julho de 2020.

SILVA, C. Contenção química de animais selvagens: revisão de literatura. **Ciências Agrárias e da Saúde**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 96-99, 2002. Disponível em: [http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/VTjtBxufIaNUM9k\\_2013-5-29-12-37-40.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/VTjtBxufIaNUM9k_2013-5-29-12-37-40.pdf). Acesso em: 05 jun. 2020.

SILVA, K. S. M. **Avaliação andrológica e criopreservação de sêmen de Ateles (macaco aranha) mantidos em cativeiro**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2005. Disponível em: <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/4796>. Acesso em: 03 dez. 2018.

SILVA, Maria do Carmo Madeira Santos. **Criopreservação de oócitos: efeito de diferentes protocolos na viabilidade pós-vitrificação**. 2015. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente) – Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, 2015. Disponível em: [https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/22588/1/ulfc116020\\_tm\\_Maria\\_Carmo\\_Silva.pdf](https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/22588/1/ulfc116020_tm_Maria_Carmo_Silva.pdf). Acesso em: 06 jun 2019.

SITZMANN, B. D.; LEONE, E. H.; MATTISON, J. A.; INGRAM, D. K.; ROTH, G. S.; URBANSKI, H. F.; OTTINGER, M. A. Effects of moderate calorie restriction on testosterone production and semen characteristics in young rhesus macaques (*M. mulatta*). **Biology of Reproduction**, Oxford. v. 83, n. 4, p. 635-640, 2010. Disponível em: [https://watermark.silverchair.com/biolreprod0635.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAArswggK3BgkqhkiG9w0BBwagggKoMIIcPAlBADCCAp0GCSqG\\_SlB3DQEHATAeBgIghkGBZQMEEAS4wEQQMvkmTQeOMe5gdg0N-AgEQgIIcboNQM-Ud-gWZsv13dNbNdUmTAFMXu1SBMMG3dXpZJeXZZu5Ev92rutLLBF\\_Q9B3XMzRiRA1SAf9nQJ8XfPp\\_UnnzvAy8h9LSbi9WMjUyARweu49u2A7\\_FSEvjyUhf47SSvJpNrUJj31RJh-](https://watermark.silverchair.com/biolreprod0635.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAArswggK3BgkqhkiG9w0BBwagggKoMIIcPAlBADCCAp0GCSqG_SlB3DQEHATAeBgIghkGBZQMEEAS4wEQQMvkmTQeOMe5gdg0N-AgEQgIIcboNQM-Ud-gWZsv13dNbNdUmTAFMXu1SBMMG3dXpZJeXZZu5Ev92rutLLBF_Q9B3XMzRiRA1SAf9nQJ8XfPp_UnnzvAy8h9LSbi9WMjUyARweu49u2A7_FSEvjyUhf47SSvJpNrUJj31RJh-)

[Ywu2U4SqY9I8L11jTlw-XQLrnlp3tT\\_Clz7GTyI3JbbOol8rzGlpBmzW2iiSKvU1vM2RVfKMfXXB4QrYJz8oMwl6ZdS4QcJhbD Ez7bZ2w0fuLj1-AffoxlGosBltuYQCn4lwHVZyL4StxBVtUGkolQW7Is8JR6SqYoJ6eALSPCvnhshgsaWZM1Elyn3NOJ MWUL7Zrm\\_zfAwHpFmadhHCzUKqr0HWsPGuxjETdrhvjj\\_X-4tp6KnWdkaEZFegIPY5GTag98rNycS1ULNRde-Aalt1iZ3AQCX7jp4e89KPHyNm3BGimPkY-O02ZdqO3WyJ2rFSUel0Mg\\_Pi5a2BQpFgk\\_oIIQS5LdwGDdBkiFdVGqDRrKYsi0jmHKGNCNKH8Ou wZ5kuHGH8GR6zLeTq04pEU---OQHK4sPqLZfZq8mOBA5SMUa3hssdvg0TVq-C04mF9O2I5etNI\\_3-xPMI365hnVBwx4uXRrGILoG9RhiNNydrfiq1h3x-X3lkfgo7fjeR8JiKR9XKdWkxIpyC\\_0NvXfP20GDpziy37zdnigTkP0gRUDVTq-xtVV0zkvBx-tkziqgm脾Xo7i1HQcJVQjQIehUSDy0fe26O7BOo2uLwV7gSRdA5E5NQG8IMSt40xXeZYniGCyXrB 5izyOsVywARFPn0Wr62nz4NRs9HUKY03FQ74. Acesso em: 24 fev 2019.](#)

SMITH, D. G. Use of genetic markers in the management of captive groups of rhesus monkeys at the California Primate Research Center, USA. *Japanese journal of medical science & biology*, v. 38, n. 1, p. 44-48, 1985. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/4021178>. Acesso em: 04 abr 2019

SMITH, R. J.; JUNGERS, W. L. Body mass in comparative primatology. **Journal of Human Evolution**, London, v. 32, n. 6, p. 523-559, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/jhev.1996.0122>. Acesso em: 01 março 2020

SOUTHWICK, C. H.; SIDDIOI, M. F.; FAROOQUI, M. Y.; PAL, B. C. Effects of artificial feeding on aggressive behaviour of rhesus monkeys in India. **Animal Behaviour**, London, v. 24, n. 1, p. 11-15, 1976. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003347276800930>. Acesso em 01 fev 2019.

TAKASU, M., MORITA, N., TAJIMA, S., ALMUNIA, J., MAEDA, M., KAMIGUCHI, T. Cryopreservation of lar gibbon semen collected by manual stimulation. **Primates**, Inuyama, v. 57, n. 3, p. 303-307, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10329-016-0543-1> Acesso em: 16 abr 2019

TARDIF, S.; BALES, K.; WILLIAMS, L.; MOELLER, E.L.; ABBOTT, D.; SCHULTZ-DARKEN, N.; MENDOZA, S.; MASON, W.; BOURGEOIS, S.; RUIZ, J. Preparing New World Monkeys for Laboratory Research. **ILAR Journal**, Oxford, v. 47, n. 4, 2006. 9 p. Disponível em:

[69LrncGKkUbQdG22A617RHo0eajxHrvhb7G9z1G3CgzYLVjLCQg86sO\\_wjmfFCDOJiCzjANRIJIS\\_uJ2xGCnvKDoSoqUKSOc\\_i1tkbVVlygeN\\_4uoZ6IY3RnKokv0vfx9nM9GjGJ48PJ\\_3IX3BBkKzDa5oW\\_j1Y8F5F0C\\_tWsAhists5La9yevaABU-7sk6xoWNxpTHMW9DWZF4LCBJJHyMMQUh9GINGKET422g9J-NW3ETnJ5IqdVHLkgC9yO3hAji1o16kzJT5\\_ARGCNE0IhsYPAWkSvizrWPXvL8-UIX-tazTP1iflaBUjfCDi1DBCrSHanX1s8DLMfld\\_Pjzpw2UT3pdvi6J79MUOuew2qKkf-NiFPL1WFnqHCcz\\_9efoD3chUMsKn9iU1N\\_Y8ovBtG5v0S7F56Ty-Lc82WsTV6xHHewJ7oaS2ewYWcyVnPqzUT2NiYZDthGQahVIU9NJ-AnIFU0OGWgPsLgIkHGSTnrL1KLGJgo3I94pMOAIQU2lpW](https://www.researchgate.net/publication/338111111)

TEAS, J. Population patterns and behavioural ecology of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) in Nepal. **The macaques: studies in ecology, behavior and evolution**, 1980. Disponível em: <https://ci.nii.ac.jp/naid/10015027378/>. Acesso em: 26 de mai. 2019.

THOMSEN, R. Non-invasive collection and analysis of semen in wild macaques. **Primates**, Inuyama, v. 55, n. 2, p. 231-237, 2014.

TIJANI, K. H.; OYENDE, B. O.; AWOSANYA, G. O.; OJEWOLA, R. W.; YUSUF, A. O. Assessment of testicular volume: A comparison of fertile and sub fertile West African men. **African Journal of Urology**, [S.l.] v. 20, n. 3, p. 136–140, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110570414000654>. Acesso em: 30 de jan. 2019.

TURNQUIST, J. E.; MINUGH-PURVIS, N. Functional Morphology. In: ABEE, C. R.; MANSFIELD, K.; TARDIF, S.; MORRIS, T.; Nonhuman Primates in Biomedical Research, Vol. 1: **Biology and Management**, 2nd ed.; Chapter 4, Waltham: Academic Press. 2012. Disponível em: <https://www.elsevier.com/books/nonhuman-primates-in-biomedical-research/abee/978-0-12-381365-7>. Acesso em: 21 jan 2020.

VALE FILHO, V.R.; PINTO, P.A.; FONSECA, J.; SOARES, L.C.O.V. **Patologia do sêmen; diagnóstico andrológico e classificação de *Bos taurus* e *Bos indicus* quanto à fertilidade para uso como reprodutores em condições de Brasil - de um estudo de 1088 touros**. Belo Horizonte: Universidade Federal, 1979. Disponível em: <https://www.worldcat.org/title/patologia-do-semen-diagnostico-andrologico-e-classificacao-de-bos-taurus-e-bos-indicus-quanto-a-fertilidade-para-uso-como-reprodutores-em-condicoes-de-brasil-de-um-estudo-em-1088-touros/oclc/710866771>. Acesso em: 18 jun. 2020.

VALLE, R. D. R. **Colheita, análise e criopreservação de sêmen de uma espécie modelo de primata neotropical, Sagui-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*)**. 2007. São Paulo. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade de São Paulo. 2007. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde-21052007-103859/pt-br.php> Acesso em: 04 jul. 2020.

VALLE, R. D. R.; NAYUDU, P. L.; LEAL, C. L. V.; GARCIA-HERREROS, M. Sperm head morphometry in ejaculates of adult marmosets (*Callithrix jacchus*): a model for studying sperm subpopulations and among-donor variations. **Theriogenology**, Stoneham, v. 78, n. 5, p. 1152-1165, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22763070/>. Acesso em: 04 jul. 2020.

VALLE, R. R., VALLE, C. M. R., NICHI, M., MUNIZ, J. A. P. C., NAYUDU, P. L., GUIMARÃES, M. A. B. V. Validation of non-fluorescent methods to reliably detect acrosomal and plasma membrane integrity of common marmoset (*Callithrix jacchus*) sperm. **Theriogenology**, Stoneham, v. 70, n. 1, p. 115-120, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.03.011>. Acesso em: 5 jul 2020

VAN PELT, L. F. Clinical assessment of reproductive function in female rhesus monkeys: individual physical examination. **Laboratory Animals**, Memphis, v. 8, n. 2, p. 199-212, 1974. Disponível: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4208817/>. Acesso em: 22 abr. 2019.

VANDEBERG, J. L. Genetics of nonhuman primates. **Nonhuman primates in biomedical research: biology and management**. San Diego: Academic Press, p. 129-146, 1995. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3814396/>. Acesso em: 31 mai. 2020.

VANDEVOORT, C. A. High quality sperm for nonhuman primate ART: production and assessment. **Reproductive Biology and Endocrinology**, Suíça. v. 2, n. 1, p. 33, 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC436066/>. Acesso em: 16 mar. 2019.

VANDEVOORT, C. A.; NEVILLE, L. E.; TOLLNER, T. L.; FIELD, L. P. Noninvasive semen collection from an adult orangutan. **Zoo Biology**, [S.l.] v. 12, n. 3, p. 257-265, 1993. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/zoo.1430120303>. Acesso em: 22 abr. 2019.

VARNER, D. D. Developments in stallion semen evaluation. **Theriogenology**, Stoneham, v. 70, n. 3, p. 448-462, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.023>. Acesso em: 11 nov 2019

VIANA, C. F. **Características do sêmen, perfil da concentração de testosterona no extrato fecal, variação da massa corporal e volume testicular de micos-de-cheiro (*Saimiri sciureus*, Linnaeus, 1758) mantidos em cativeiro sob condições ambientais controladas**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense.

Campos dos Goytacazes - RJ. 2013. Disponível em:  
<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vtt-618>. Acesso em: 20 fev. 2019.

VIANA, C. F., LEAL, G. M., KUGELMEIER, T., CAMPOS, D. P., FILHO, J. B. L., PINTO, A. C. A., NASCIMENTO, W. S., VIANA, D. N., OLIVEIRA, R., LIMA, N. G. Curva de ganho de massa corporal de macacos rhesus (*Macaca mulatta*-Zimmermann, 1780) e implicações para sua utilização na pesquisa biomédica. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v. 4, n. 1, p. 52-52. 2016.

Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Curva-de-ganho-de-massa-corporal-de-macacos-rhesus-Viana-Leal/579848b0a318777b390e172384969fffbcaea01a>. Acesso em 22 abr 2019.

WALKER, W. H. Testosterone signaling and the regulation of spermatogenesis. **Spermatogenesis**, [S.l.] v. 1, n. 2, p. 116-120, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.4161/spmg.1.2.16956> . Acesso em: 29 jun. 2020.

WARNER, H.; MARTIN, D. E.; KEELING, M. E. Electroejaculation of the great apes. **Annals of biomedical engineering**, Suíça. v. 2, 1974. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02368098>. Acesso em: 29 jun. 2020.

WEATHEALL, D. The use of nonhuman primates in research. A working group report chaired by Sir David Weatheall. **Academic of Medical Science**; London. 2006. Disponível em: <https://mrc.ukri.org/documents/pdf/the-use-of-non-human-primates-in-research/>. Acesso em: 05 fev 2019.

WEISBROTH, S.; YOUNG, F. A. The collection of primate semen by electroejaculation. **Fertility and Sterility**, New York, v. 16, n. 2, p. 229-235, 1965. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14261227/>. Acesso em: 14 jun. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 2010. Fifth Edition. Geneva: WHO Press; 2010

WICKINGS, E. J.; NIESCHLAG, E. Seasonality in endocrine and exocrine testicular function of the adult rhesus monkey (*Macaca mulatta*) maintained in a controlled laboratory environment. **International Journal of Andrology**, Philadelphia, v. 3, n. 1-6, p. 87-104, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.1980.tb00099.x> Acesso em: 13 de jul. 2020.

WOSNITZER M.; GOLDSTEIN, M.; HARDY, M. P. "Review of azoospermia." **Spermatogenesis**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. e28218, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.4161/spmg.28218> . Acesso em: 29 jun. 2020.

YEOMAN RR, RICKER RB, WILLIAMS LE, SONKSEN J, ABEE CR. Vibratory stimulation of ejaculation yields increased motile spermatozoa, compared with electroejaculation, in squirrel monkeys (*Saimiri boliviensis*). **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, Memphis. v. 36, n. 1, p. 62-64, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12456187/>. Acesso em: 5 abril 2019.

YEOMAN RR, SONKSEN J, GIBSON SV, RIZK BM, ABEE CR. Penile vibratory stimulation yields increased spermatozoa and accessory gland production compared with rectal electroejaculation in a neurologically intact primate (*Saimiri boliviensis*). **Human Reproduction**, Oxford. v. 13, n. 9, p. 2527-2531, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/humrep/13.9.2527> . Acesso em: 24 out. 2019.

ZAMBONI, L.; CONAWAY, C. H.; VAN PELT, L. Seasonal changes in production of semen in free-ranging rhesus monkeys. **Biology of Reproduction**, Oxford. v. 11, n. 3, p. 251-267, 1974. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/biolreprod11.3.251> . Acesso em: 30 jun. 2020.

ZONDERVAN, K.; CARDON, L.; DESROSIERS, R.; HYDE, D.; KEMNITZ, J.; MANSFIELD, K.; ROBERTS, J.; SCHEFFLER, J.; WEEKS, D. E.; KENNEDY, S. The genetic epidemiology of spontaneous endometriosis in the rhesus monkey. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 955, n. 1, p. 233-238, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb02784.x> . Acesso em: 13 de julho de 2020.

**APÊNDICE A – Formulário para certificado de exame andrológico.**

		Formulário para Certificado de Exame Andrológico						
DADOS DO ANIMAL								
Data:	Espécie:	Identificação:	Recinto:					
Microchip:	Nascimento:	Idade:						
Avó materna:	Avó materno:	Avó paterno:	Avó paterno:					
EXAME CLÍNICO GERAL								
1- Histórico e Anamnese (Histórico reprodutivo; estado sanitário; ocorrências clínicas relevantes; grupos social)								
2- Sedação (Fármacos, tempo para ação e de duração do efeito):								
3- Peso (Kg):	4- Comprimento cabeça e corpo (m):		5- Score:					
6- Pele e pelagem:								
7- Avaliação oral/ mucosas/ conjuntivas:								
8- Ausculta cardiopulmonar:								
9- Palpação abdominal/linfonodos:								
10- Temperatura retal:		10.1- Temperatura testículo/ escroto - direito:		esquerdo:				
EXAME CLÍNICO ESPECIAL								
11 - BIOMETRIA E AVALIAÇÃO DA GENITÁLIA								
Parâmetro (Indicar unidade de medida)	11.1 Testículo direito / Bolsa escrotal				11.2 Testículo esquerdo / Bolsa escrotal			
	1	2	3	média	1	2	3	média
DL ( )								
DLL ( )								
DT ( )								
Circunferência ( )								
Inspeção/palpação:	Simetria	Forma	Consistência	Posição	Simetria	Forma	Consistência	Posição
	Mobilidade	Coloração	Aspecto		Mobilidade	Coloração	Aspecto	
Observações:								
Parâmetro (Indicar unidade de medida)	11.3 Cauda do epidídimo direito				11.4 Cauda do epidídimo esquerdo			
	1	2	3	média	1	2	3	média
DL ( )								
DLL ( )								
Inspeção/palpação:	Simetria	Forma	Consistência	Aspecto	Simetria	Forma	Consistência	Aspecto
Observações:								
Parâmetro (Indicar unidade de medida)	11.5 Pênis e base do pênis				Inspeção/palpação:			
	1	2	3	média	Coloração	Mobilidade	Aspecto	Forma
DL ( )								
DLL ( )								
DT ( )					Obs.:			
Parâmetro (Indicar unidade de medida)	11.6 Glande/prepúcio				Inspeção/palpação:			
	1	2	3	média	Coloração	Mobilidade		Forma
DL ( )								
DLL ( )								
DT ( )					Obs.:			
Legenda espécies: Mm: Macaca mulatta ; Mf: Macaca fascicularis ; Ss: Saimiri sciureus ; Su: Saimiri ustus      S/A: Sem alteração Legenda medidas: DL: Diâmetro Longitudinal; DLL: Diâmetro latero-lateral; DT: Diâmetro transversal. Legenda inspeções e palpções: Simetria: 1. Simétrico; 2. Assimétrico    Forma: 1. Regular; 2. Irregular    Consistência: 1. Firme; 2. Macio; 3. Endurecido. Posição: 1. Bolsa; 2. Inguinal; 3. Abdominal    Mobilidade: 1. Móvel; 2. Fixo ou aderido; 3. Endurecido; Coloração: 1. Roso; 2. Necrose; 3. Anêmico; 4. Ictérico; 5. Hiperêmico; 6. Cianótico    Aspecto: 1. Liso; 2. Rugoso; 3. Cicatriz/Lesão; 4. Mancha								

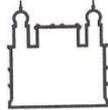
		Formulário para Certificado de Exame Andrológico							
EXAMES COMPLEMENTARES									
12 - ULTRASSONOGRÁFICO									
Parâmetro (indicar unidade de medida)	12.1 Testículo direito				12.2 Testículo esquerdo				
	1	2	3	média	1	2	3	média	
DL ( )									
DLL ( )									
DT ( )									
Circunferência ( )									
Área ( )									
Aspecto Ultrassonográfico:	Textura	Forma	Ecogenicidade		Textura	Forma	Ecogenicidade		
Observações:									
Parâmetro (indicar unidade de medida)	12.3 Cauda do epidídimo direito				12.4 Cauda do epidídimo esquerdo				
	1	2	3	média	1	2	3	média	
DL ( )									
DLL ( )									
Aspecto Ultrassonográfico:	Textura	Forma	Ecogenicidade		Textura	Forma	Ecogenicidade		
Observações:									
Parâmetro (indicar unidade de medida)	12.5 Corpo/cabeça do epidídimo direito				12.6 Corpo/cabeça do epidídimo esquerdo				
	1	2	3	média	1	2	3	média	
DLL ( )									
Aspecto Ultrassonográfico:	Textura	Forma	Ecogenicidade		Textura	Forma	Ecogenicidade		
Observações:									
Parâmetro (indicar unidade de medida)	12.7 Vesícula seminal direita				12.8 Vesícula seminal esquerdo				
	1	2	3	média	1	2	3	média	
DL ( )									
DLL ( )									
DT ( )									
Aspecto Ultrassonográfico:	Textura	Forma	Ecogenicidade		Textura	Forma	Ecogenicidade		
Observações:									
Parâmetro (indicar unidade de medida)	12.9 Próstata				12.10 Glândulas bulbouretrais				
	1	2	3	média	1	2	3	média	
DL ( )									
DLL ( )									
DT ( )									
Aspecto Ultrassonográfico:	Textura	Forma	Ecogenicidade		Textura	Forma	Ecogenicidade		
Observações:									
13 - OUTROS EXAMES (especificar)									
14 - COMPORTAMENTO SEXUAL									
14.1 Monta:									
14.2 Ereção:									
14.3 Ejaculação:									
14.4 Dominância:									
15 - OUTRAS OBSERVAÇÕES RELEVANTES									
Legenda medidas: DL: Diâmetro Longitudinal; DLL: Diâmetro latero-lateral; DT: Diâmetro transversal Legenda aspecto ultrassonográfico: Textura: 1. Homogênea; 2. Heterogênea; Forma: 1. Regular; 2. Irregular Ecogenicidade: 1. Hipocogênico; 2. Ecogênico; 3. Hiperecogênico									



APÊNDICE C – Formulário de análise de sêmen.

 FOCPIZ Fundação Oswaldo Cruz		Serviço de criação de primatas não humanos		 ICTB Instituto de Ciências e Tecnologias Biológicas		
<b>FICHA DE EXAME ANDROLÓGICO</b>						
Identificação:		Espécie:		Idade/Nascimento:		
Colônia:		Recinto:		Data/Hora:		
<b>Exame do sêmen - Análise geral</b>						
	<b>Método (colheita):</b>			<b>Repetição ( n<sup>o</sup>/ano):</b>		
Freq./volt.						
Tempo de incubação						
Aspecto/coágulo						
Volume (uL)						
Coloração						
pH						
[ ] (x 10 <sup>6</sup> /mL)						
Motilidade (%)						
MRP (%)						
MRP (Grau 0, 1, 2, 3, 4 ou 5)						
IMP (%)						
HO (%)						
IA (%)						
DAB (classes I, II, III, IV)						
Outros:						
<b>Exame do sêmen - Morfologia</b>						
Cab. Sub-desenv./dupla						
Piriforme / estreita base						
Cauda dupla/enrolada						
Cab. Isolada / Cab. + P.I.						
Grânulo/vacúolo acros.						
CFD/CFE						
GCD/GCP						
CDEG						
Cab. Gigante/delgada						
Total defeitos maiores						
Total defeitos menores						
Observações/ Conclusão:						
Veterinário responsável pela colheita:						
Veterinário responsável pelo laboratório:						
<b>Legenda:</b>						
Freq. = Freqüência			Cab. = Cabeça			
Amp. - Amplitude			P. I. = Peça intermediária			
Volt. = Voltagem			Acros. = Acrossomo			
[ ] = Concentração			CFD = Cauda fortemente dobrada			
MRP = Motilidade Retilínio Progressivo			CFE = Cauda fortemente enrolada			
IMP = Membrana plasmática íntegra			GCD = Gota citoplasmática distal			
HO = Hiposmótico			GCP = Gota citoplasmática proximal			
IA = Integridade de acrossoma			CDEG = Cauda dobrada ou enrolada com gota			
DAB = Atividade mitocondrial						

**ANEXO A - Licença da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-Fiocruz)**



Ministério da Saúde  
FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz  
Vice-presidência de Pesquisa e  
Laboratórios de Referência



Comissão de Ética  
no Uso de Animais

LICENÇA

LW-5/16

Certificamos que o protocolo (P-8/14.5), intitulado “**CRIAÇÃO, PRODUÇÃO E MANUTENÇÃO DE PRIMATAS NÃO HUMANOS NO CENTRO DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO/CECAL PARA ATENDER AOS PROGRAMAS E PROJETOS DESENVOLVIDOS NA FIOCRUZ**”, sob a responsabilidade de **CARLA DE FREITAS CAMPOS** atende ao disposto na Lei 11794/08, que dispõe sobre o uso científico no uso de animais, inclusive, aos princípios da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). A referida licença não exige a observância das Leis e demais exigências legais na vasta legislação nacional.

Informamos que todos os animais encaminhados para experimento devem ser testados previamente para tuberculose e os proponentes deverão informar imediatamente à Comissão de Ética no Uso de Animais da Fiocruz o surgimento de animais positivos para a doença.

Esta licença tem validade até 29/02/2020 e inclui o uso total de:

***Macaca mulatta***

- 163 machos.
- 335 fêmeas.

***Macaca fascicularis***

- 19 machos.
- 39 fêmeas.

***Saimiri sciureus***

- 91 machos.
- 145 fêmeas.

***Saimiri ustus***

- 10 machos.
- 04 fêmeas.

Rio de Janeiro, 29 de fevereiro de 2016.

  
Etelcia M. Molinaro  
Vice - Coordenadora  
CEUA/FIOCRUZ  
SIAPE 0463096