

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DE OVINOS (*Ovis aries*)
SUBMETIDOS A TRATAMENTOS COM
DIMETIL SULFÓXIDO (DMSO)**

MARCOS VINÍCIUS FERRARI

Tese apresentada à Universidade Federal do
Paraná para a obtenção do Título de Mestre
em Ciências Veterinárias.

CURITIBA

1995

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DE OVINOS (*Ovis aries*)
SUBMETIDOS A TRATAMENTOS COM
DIMETIL SULFÓXIDO (DMSO)

Marcos Vinicius Ferrari

Tese apresentada à Universidade Federal do
Paraná para obtenção do Título de Mestre
em Ciências Veterinárias.

Curitiba
1995

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a tese

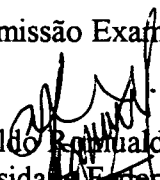
CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DE OVINOS (*Ovis aries*) SUBMETIDOS A
TRATAMENTOS COM DIMETIL SULFÓXIDO (DMSO).

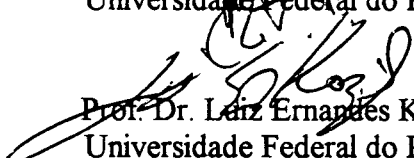
Elaborada por

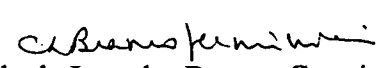
MARCOS VINÍCIUS FERRARI

como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Curso de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias, área de Patologia Veterinária, da Universidade Federal do Paraná

Comissão Examinadora:


Prof. Dr. Romildo Romualdo Weiss/ Orientador
Universidade Federal do Paraná


Prof. Dr. Luiz Ernandes Kozicki
Universidade Federal do Paraná


Profa. Dra. Clotilde de Lourdes Branco Germiniani
Universidade Federal do Paraná

“... Não deixe enfim de ter disposto
ninguém a grandes obras sempre o peito,
que por esta ou por outra qualquer via
não perderá seu preço e sua valia.”

(LUSÍADAS - CANTO V)

À minha mãe e minha filha, Lílians,
que sempre acreditaram.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Romildo R. Weiss, pela orientação e auxílio na condução deste trabalho.

Ao prof. Amadeu Bona Filho, pela inestimável amizade e colaboração.

À profª Drª Clotilde de Lourdes Branco Germiniani, por seu incansável apoio a seus pupilos e luta pelo ensino da Medicina Veterinária.

Ao prof. Dr. Ivan de Conto, diretor do Hospital Veterinário, pelo incentivo e amizade.

Ao Dr. Pedro Jamur, colega por profissão e amigo nas horas em que mais precisei.

À Drª Alessandra Folador, por ser muito mais do que uma companheira.

Ao prof. Dr. Metry Bacila, por sua inesgotável energia em prol do Curso e dos alunos de Pós-graduação.

Ao prof. Dr. Carlos Eugênio Kantek, pelo auxílio.

Ao Dr. José Kazumassa Tahira, pela valiosa co-orientação.

À Universidade Federal do Paraná e ao Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), que me possibilitaram a realização do trabalho.

Aos alunos de graduação do Curso de Medicina Veterinária pela valiosa colaboração e amizade.

Aos funcionários do Hospital Veterinário, pelo auxílio.

CONTEÚDO

I. INTRODUÇÃO.....	1
II. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Características Físicas, Químicas e Biológicas do DMSO.....	4
2.2. Propriedades Fisiológicas e Farmacológicas.....	5
2.2.1. Absorção/Penetração.....	5
2.2.2. Atividade Carreadora/Potencializadora.....	6
2.2.3. Atividade de Eliminador de Radicais.....	7
2.2.4. Efeitos sobre Enzimas.....	7
2.2.5. Atividade Crioprotetora/Criopreservativa.....	8
2.2.6. Atividade Radioprotetiva.....	9
2.2.7. Proteção Antiisquêmica.....	9
2.2.8. Atividade Antimicrobiana.....	9
2.2.9. Atividade Antiinflamatória.....	10
2.2.10. Efeitos Analgésicos.....	11
2.2.11. Efeitos na Coagulação Sangüínea.....	11
2.2.12. Propriedades Diversas.....	11
2.2.13. Efeitos do DMSO na Reprodução.....	12
2.3. Toxicidade do Dimetil Sulfóxido.....	13
III. MATERIAL E MÉTODO.....	16
3.1. Animais e Manejo Alimentar.....	17
3.2. Plano Experimental.....	17
3.2.1. Período Preliminar.....	17
3.2.2. Período Experimental.....	18
3.2.2.1. Tratamentos.....	18
3.2.2.2. Avaliação dos Grupos.....	18
3.3. Exames Reprodutivos.....	18
3.3.1. Exame Semiológico dos Órgãos Genitais Palpáveis.....	18
3.3.2. Comportamento Sexual.....	19
3.3.3. Colheita do Sêmen.....	19
3.3.3.1. Avaliação do Sêmen.....	19
3.3.3.2. Características Seminais Avaliadas.....	19
3.3.3.3. Volume do Ejaculado.....	20
3.3.3.4. Aspecto e Cor.....	20
3.3.3.5. pH.....	20
3.3.3.6. Turbilhonamento.....	20
3.3.3.7. Motilidade Espermática Individual.....	20
3.3.3.8. Vigor Espermático.....	21
3.3.3.9. Concentração Espermática.....	21
3.3.3.10. Número Total de Espermatozóides.....	21
3.3.3.11. Morfologia Espermática.....	21
3.4. Análise Estatística.....	23
IV. RESULTADOS.....	24
4.1. Circunferência Escrotal e Consistência Testicular.....	25
4.2. Comportamento Sexual.....	25
4.2.1. Tempo Transcorrido até a 1ª Falsa Monta (Tt).....	25
4.2.2. Tempo Transcorrido até a colheita do Sêmen (Tc).....	25
4.2.3. Reflexo de Flehmen.....	26
4.3. Características Seminais.....	26

4.3.1. Volume.....	26
4.3.2. Aspecto e Cor.....	26
4.3.3. pH.....	26
4.3.4. Turbilhonamento.....	27
4.3.5. Motilidade Individual.....	27
4.3.6. Vigor.....	27
4.3.7. Concentração e Número Total de Espermatozóides.....	27
4.3.8. Morfologia Espermática.....	28
V. DISCUSSÃO.....	36
5.1. Exame Semiológico dos Órgãos Genitais Palpáveis.....	38
5.2. Comportamento Sexual.....	38
5.3. Características Seminais.....	39
5.3.1. Volume.....	39
5.3.2. Turbilhonamento.....	39
5.3.3. Aspecto e Cor.....	39
5.3.4. Motilidade Individual e Vigor.....	40
5.3.5. Concentração e Número Total de Espermatozóides.....	40
5.3.6. Morfologia Espermática.....	41
VI. CONCLUSÕES.....	42
VII. ILUSTRAÇÕES.....	44
VIII. RESUMO.....	49
IX. SUMMARY.....	51
X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Medidas da Circunferência Escrotal (C.E.) e Consistência Testicular (C.T.) Avaliadas Bissemanalmente.....	32
Tabela 2 - Resultados da Avaliação do Comportamento Sexual Realizada Bissemanalmente.....	33
Tabela 3 - Média (X) e Desvio Padrão (DP) dos Valores Encontrados para as Características Seminais por Grupos. Período Preliminar.....	34
Tabela 4 - Média (X) e Desvio Padrão (DP) dos valores Encontrados para as Características Seminais por Grupos. Período Experimental.....	35
Tabela 5 - Média (X) e Desvio Padrão (DP) dos Valores Encontrados para as Características Seminais Individualmente. Período Preliminar e Experimental.....	36

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Variações Semanais do Volume entre os Grupos, Período Preliminar e Experimental.....	37
Gráfico 2 - Variações Semanais da Motilidade Individual entre os Grupos, Período Preliminar e Experimental.....	37
Gráfico 3 - Variações Semanais da Concentração entre os Grupos, Período Preliminar e Experimental.....	37
Gráfico 4 - Variações Semanais do Nº Total de Espermatozóides no Ejaculado, Período Preliminar e Experimental.....	38
Gráfico 5 - Variações Semanais dos Defeitos Espermáticos Totais, Período Preliminar e Experimental.....	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Metodologia de Contenção e Aplicação do DMSO na Bolsa Escrotal.....	48
Figura 2 - Metodologia de Contenção e Aplicação do DMSO no Jarrete.....	48
Figura 3 - Exame Semiológico dos Órgãos Genitais.....	49
Figura 4 - Avaliação do Comportamento Sexual Reflexo de Flehmen.....	49
Figura 5 - Avaliação do Comportamento Sexual. Falsa Monta.....	49
Figura 6 - Colheita do Sêmen.....	50
Figura 7 - Avaliação do Volume, Aspecto e Cor.....	50
Figura 8 - Avaliação do Turbilhonamento.....	50
Figura 9 - Avaliação da Motilidade Espermática e Vigor.....	51
Figura 10 - Avaliação da Concentração Espermática.....	51
Figura 11 - Avaliação da Morfologia Espermática.....	51

I. INTRODUÇÃO

Originalmente utilizado como solvente industrial, o Dimetil Sulfóxido (DMSO) é uma substância incolor que se mistura muito rapidamente com água, álcool etílico e com a maioria dos solventes orgânicos. É extremamente higroscópico e pode atuar tanto como agente redutor quanto oxidante.

A habilidade do DMSO penetrar a pele intacta foi primeiramente reportada em 1964, e a partir daí as pesquisas e o seu uso clínico têm revelado uma ampla variedade de propriedades farmacológicas e terapêuticas, bem como alguns efeitos tóxicos ainda não completamente compreendidos.

Essas propriedades e efeitos tóxicos têm gerado muita controvérsia e ainda não existe um consenso quanto aos benefícios e desvantagens do seu uso na clínica veterinária. A literatura é bastante ampla no que diz respeito aos efeitos da droga em humanos, animais de laboratório, cães e equinos, porém extremamente escassa quanto à sua utilização em outras espécies animais. Não existem estudos relacionando os possíveis efeitos tóxicos do DMSO sobre as características reprodutivas de machos de qualquer espécie, o que leva a limitações e temerosidades na sua utilização, frente a situações clínicas específicas em animais destinados à reprodução.

A parte disso, a utilização do DMSO Veterinário tem-se expandido e generalizado, contudo sem controle e critérios lógicos de prescrição e sem que sejam considerados parâmetros científicos de avaliação dos benefícios e desvantagens da droga sobre os diversos sistemas do organismo animal.

Com base nesses fatos, decidiu-se realizar o presente estudo com o objetivo de se verificar os possíveis efeitos tóxicos do Dimetil Sulfóxido, na dose de 1g/Kg peso vivo, nas características reprodutivas de machos da espécie ovina, considerando-se a biometria testicular, o comportamento sexual, e as características seminais dos reprodutores.

II. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS E BIOLÓGICAS DO DMSO

O DIMETIL SULFÓXIDO (DMSO), de fórmula $(\text{H}_3\text{C})_2\text{S}=\text{O}$, é um líquido incolor originalmente utilizado como um poderoso solvente industrial (ALSUP, 1984; BRAYTON, 1986; BRAYTON, 1995). É um solvente aprótico e bipolar que se mistura rapidamente com a água, álcool etílico e com a maioria dos solventes orgânicos. Pode atuar tanto como agente redutor quanto oxidante (ALSUP, 1984).

É extremamente higroscópico e se dilui rapidamente em concentrações de 66 a 67% quando exposto ao ambiente, e por isso deve ser mantido bem fechado (BRAYTON, 1995). A hidratação do DMSO é exotérmica e o calor pode ser detectado quando soluções com concentrações iguais ou superiores a 90% são misturadas à água ou aplicadas sobre a pele (ALSUP, 1984; BRAYTON, 1986; BRAYTON, 1995).

O DMSO atua como um anticongelante em concentrações de 20% (5M) ou mais baixas, porque a sua ligação com o hidrogênio da molécula de água interfere com a formação de gelo. É bastante eficaz na criopreservação de células e tecidos (LOVELOCK & BISHOP, 1959; ZIMMERMAN, MAUDE & MOLDAUER, 1964; BALDINI, 1975; TERVILL & GOOLD, 1984; FRANKS et al, 1985; BRAYTON, 1986).

É um eficaz eliminador de radicais hidroxila e tem alta capacidade de se ligar ao hidrogênio (BRAYTON, 1986; JACOB & HERSCHLER, 1986). Penetra a pele e as células sem causar danos irreversíveis às membranas (RAMMLER & ZAFFARONI, 1967; KLIGMAN, 1975a, 1975b, ALSUP, 1984) e tem a propriedade de carrear moléculas não ionizadas de baixo peso molecular através da pele intacta, tendo, por isso, recebido a alusão de ser uma “INJEÇÃO SEM AGULHA” (ALSUP, 1984).

O DMSO inibe ou estimula várias enzimas in vitro e in vivo, dependendo de sua concentração. É um poderoso inibidor de colinesterases e da álcool desidrogenase (JACOB

& HERSCHLER, 1986; BRAYTON, 1995). Tem a capacidade de interagir com moléculas orgânicas sem alterar permanentemente a sua fórmula ou estrutura. Apresenta uma grande afinidade por moléculas de água e pode substituí-las nos sistemas biológicos.

A excreção do DMSO é primariamente via urina (KOLB et all, 1967). Menos do que 2% é excretado nas fezes e menos do que 3% é exalado como DIMETIL SULFITO (DMS). A meia vida do DMSO em ratos é de 6 a 8 horas e a aplicação cutânea a prolonga em cerca de 2 horas (BRAYTON, 1986).

2.2. PROPRIEDADES FISIOLÓGICAS E FARMACOLÓGICAS

2.2.1. ABSORÇÃO/PENETRAÇÃO

O DIMETIL SULFÓXIDO penetra rapidamente a pele. Dentro de 5 minutos após aplicação cutânea, níveis sanguíneos já podem ser detectados e um hálito de alho característico, devido à sua redução para DIMETIL SULFITO, pode ser notado. Dentro de 20 minutos, o DMSO pode ser detectado em todos os órgãos, e em uma hora após aplicação na pele, pode ser detectado nos ossos e dentes (KOLB et all, 1967). O produto penetra a pele mais efetivamente em concentrações de 80 a 100%, e em concentrações menores é rapidamente hidratado (DAVID, 1972; MISCH & MISCH, 1975; KHARASCH & THYAGARAJAN, 1983). O DMSO também penetra as mucosas, barreira hematoencefálica (KOCISIS, HARKAWAY & VOGEL, 1968; FOX & FOX, 1983; JACOB & HERSCHLER, 1983), organelas celulares (FOX & FOX, 1983; KHARASCH & THYAGARAJAN, 1983), e membranas microbianas (RAMMLER & ZAFFARONI, 1967; FOX & FOX, 1983).

Contrariamente à maioria dos solventes, a penetração e absorção do DMSO não está associada a danos irreversíveis às membranas (RAMMLER, 1967; KLIGMAN, 1975a, 1975b).

2.2.2. ATIVIDADE CARREADORA/POTENCIALIZADORA

O DMSO facilita a penetração de muitas substâncias através das membranas. Em 1967, FRANZ & VAN BRUGEN mostraram que o DMSO aumenta a taxa de influxo de várias moléculas através da pele íntegra de sapos. A penetração de esteróides é significativamente aumentada com o DMSO, conforme demonstraram DJKAN & GUNBERG (1967), MAIBACH & FELDMAN (1967) E WOOD & WOOD (1975). A nível celular, o DMSO pode exercer um efeito sinérgico com esteróides (BERLINER & RUHMAN, 1967).

As soluções de DMSO aumentam significativamente a penetração cutânea de insulina, heparina, sulfadiazina e fenilbutazona (POTTS, RAMPEY & BENJAMIN, 1967; JIMENEZ & WILKENS, 1982). Agentes anestésicos, cardioativos e anticolinesterásicos podem ter sua penetração aumentada ou sua atividade modificada na presença do DMSO (BANTHORPE & LAMONT, 1967; BRAUDE & MONROE, 1967; SMITH, MASON & EPSTEIN, 1967; STEINBERG, 1967; RUBIN, 1975; YELLOWLEES, GREENFIELD & MCINTYRE, 1980).

Há um aumento na penetração pela pele e mucosas de tetraciclina, testosterona, e curare, segundo BRAYTON (1995). Os efeitos da insulina são potencializados quando o DMSO é aplicado tópicamente ou parenteralmente (BRAYTON, 1986). A penetração e toxicidade de organofosforados é marcadamente aumentada quando administrado com

DMSO (KNOWLES, 1967). BRAYTON (1995) demonstrou resultados letais em equinos após aplicação tópica de DMSO e mercúrio.

A aplicação tópica de DMSO conjuntamente com corticosteróides, causa níveis elevados e efeitos sistêmicos característicos destes últimos (KLIGMAN, 1965; DAVID, 1972; BRAYTON, 1986). Quando a hidrocortisona foi utilizada diluída no DMSO, houve um aumento de 10 vezes no seu efeito antiinflamatório (ALSUP, 1984).

2.2.3. ATIVIDADE DE ELIMINADOR DE RADICAIS

A capacidade de eliminação de radicais demonstrada pelo DMSO e pelo seu metabólito DMS é responsável por algumas de suas propriedades antiinflamatórias, crioprotetoras, e antiisquêmicas (BRAYTON, 1986) quando usado in vivo, tópica ou parenteralmente. O DMSO elimina radicais hidroxila (-OH) e o DMS radicais livres oxigênio (-O) (ASHWOOD-SMITH, 1967; RAMMLER & ZAFFARONI, 1967; FOX & FOX, 1983; HILL et al, 1983; ROSEMBLUM, 1983).

2.2.4. EFEITOS SOBRE ENZIMAS

O DMSO inibe ou estimula enzimas in vitro e in vivo (MALLACH, 1967; MONDER, 1967; PERLMAN & WOLFF, 1968). In vitro, em diferentes concentrações do produto e de íons hidrogênio, o DMSO tem efeitos opostos sobre as enzimas (MALLACH, 1967; MONDER, 1967). O DMSO provavelmente exerce seu efeito primário através da alteração da configuração enzimática protéica (RAMMLER & ZAFFARONI, 1967). SAMS (1967) elucidou a inibição da acetilcolinesterase pelo DMSO. Ele notou que, in vitro, o DMSO causa: depressão da resposta do músculo diafragmático e fasciculação; aumento no tônus da musculatura gástrica lisa; aumento da amplitude da contração do

músculo atrial; e redução do limiar vagal do coração. Análises enzimáticas revelaram que o DMSO, em concentração de 4%, já inibe 45% da atividade da colinesterase. In vivo, o DMSO tem efeitos cardioativos e cardiovasculares que são atribuídos à sua atividade anticolinesterásica (HAMEROFF et al, 1983; SHLAFER, 1983). O produto inibe a álcool desidrogenase in vitro (PERLMAN & WOLFF, 1968) e in vivo (MALLACH, 1967), e pode aumentar ou diminuir a dose letal do etanol em ratos, dependendo da dose e frequência de aplicações (MALLACH, 1967). A ingestão simultânea de álcool e DMSO reduz significativamente a expiração de DMS e a halitose característica, e elimina quase completamente o odor do álcool (MALLACH, 1967).

2.2.5. ATIVIDADE CRIOPROTETORA/CRIOPRESERVATIVA

O DMSO tem sido utilizado como um criopreservativo de plaquetas (BALDINI, 1975; SCHIFFER, AISNER & DUTCHER, 1983), células tumorais (GRAHAM, 1975), e células de cultura de tecidos (DOUGHERTY, 1962; PORTERFIELD & ASHWOOD-SMITH, 1962; ASHWOOD, 1967). Plaquetas congeladas por meses em solução de DMSO foram utilizadas em pacientes autoimunizados (BALDINI, 1975; SCHIFFER, AISNER & DUTCHER, 1983). Células de mamíferos podem crescer normalmente após serem mantidas em solução de DMSO por um mês, a -120 graus celsius (DOUGHERTY, 1962; PORTERFIELD & ASHWOOD-SMITH, 1962).

A atividade de crioproteção é atribuída primariamente à incorporação celular do DMSO e à desagregação de cristais de gelo, e, secundariamente, à capacidade do DMSO eliminar os radicais que são liberados e danam as células durante o processo de congelação (SHLAFER, 1983).

2.2.6. ATIVIDADE RADIOPROTETIVA

A exposição dos tecidos à radiação ionizante causa liberação de radicais livres danosos às células (ASHWOOD, 1967; ROSEMBLUM, 1983). In vitro, o DMSO e, em menor escala, o DMS protegem as células e órgãos da radiação. Aplicações tópicas de DMSO 5 minutos previamente a uma dose letal de radiação ionizante, protegeu camundongos da morte (ASHWOOD, 1967).

2.2.7. PROTEÇÃO ANTIISQUÊMICA

As isquemias nos tecidos causam liberação de radicais livres (ROSEMBLUM, 1983; SHLATER, 1983) e, como nos casos de radiação, a propriedade de eliminação desses radicais apresentada pelo DMSO é responsável pela proteção dos tecidos frente a situações isquêmicas. A proteção somente é efetiva se as aplicações do DMSO forem prévias ou concomitantes às isquemias (FINNEY et al, 1967; ALBIN, BUNEGIN & HELSEL, 1983; JAMES et al, 1983; KEDAR et al, 1983; RAVID et al, 1983).

2.2.8. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

In vitro, em concentrações variando de 5 a 50%, o DMSO mostrou atividade bacteriostática ou bactericida contra muitas bactérias patogênicas, incluindo *M. tuberculosis*, *Streptococcus spp*, *Salmonella spp*, *Proteus spp*, e *E. coli* (KLIGMAN, 1965; POTTS, RAMPEY & BENJAMIN, 1967; SEIBERT, FARRELY & SHEPHERD, 1967; WOOLEY, GILBERT & SHOTTS, 1982). In vivo, o DMSO reduz a população da flora oral normal (KUTSHER, ZEGARELLI & EVERETT, 1967), e flora axilar normal (KLIGMAN, 1965). Na clínica, o DMSO é considerado como um agente antimicrobiano muito fraco. Nos casos de endotoxemias, onde os benefícios da capacidade do DMSO

eliminar radicais livres são esperados, pode ocorrer uma exacerbação dos efeitos hipotensivos e hipoglicêmicos das endotoxinas (SEMRAD, 1993).

2.2.9. ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA

Em situações clínicas, os benefícios antiinflamatórios da terapia com o DMSO são alcançados nos casos de lesões musculoesqueléticas agudas (BROWN, 1967; DEMOS et al, 1967; KNOWLES, 1967; STEINBERG, 1967; DUBINSKI, 1975; BROWN, 1982; GRANT, 1982; REED, 1983), e nas desordens traumáticas e inflamatórias agudas do sistema nervoso central (MAYHEW & MACKAY, 1982; LEE, 1983; REED, 1983).

Nas inflamações crônicas, os resultados alcançados são menos consistentes. Alguns sucessos foram relatados no tratamento de doenças reumáticas (MATSUMOTO, 1967; VAN RIJSWIJK, 1981; JIMENEZ & WILKENS, 1982), artrites crônicas (BLUMENTHAL & FUCHS, 1967; JOHN & LAUDAHN, 1967), e cistite intersticial (PERSKI & STEWART, 1967; BRAYTON, 1986). O mecanismo primário da ação do DMSO na inflamação aguda é possivelmente a eliminação de radicais, o que pode contribuir para manter a microcirculação e reduzir os danos aos tecidos (GOROG & KOVACS, 1975; DE LA TORRE, 1983).

Pesquisadores reportaram as seguintes capacidades do DMSO: inibição da migração de células inflamatórias (ANTONY, SAHN & REPINE, 1983), modulação da resposta imune célula-mediada (BARTFELD & GOLDSTEIN, 1975), inibição da produção de anticorpos (PESTRONK & DRACHMAN, 1980), e inibição da proliferação de fibroblastos (TIEGLAND, 1967).

2.2.10. EFEITOS ANALGÉSICOS

Após estudarem os efeitos do DMSO em camundongos, HAMEROFF et all (1983) relataram a ocorrência de efeitos analgésicos comparáveis aos obtidos pela utilização da morfina. Muitos estudos clínicos atestam a eficácia do DMSO na eliminação da dor causada por desordens musculoesqueléticas agudas e crônicas (BLUMENTHAL & FUCHS, 1967; DEMOS et all, 1967; PAUL, 1967).

In vitro, em concentrações maiores que 25%, a velocidade de condução no nervo é diminuída e pode ser completamente eliminada, e este efeito pode ser revertido com a remoção do DMSO do meio (BRECHNER, COHEN & PRETSKY, 1967; SANS 1967).

2.2.11. EFEITOS NA COAGULAÇÃO SANGÜÍNEA

O DMSO reduz a agregação plaquetária, protege o endotélio e, assim, reduz a formação de trombos plaquetários nos locais de anastomoses das pequenas veias (DUJOVNY et all, 1983). Além disso, a capacidade antiisquêmica e de eliminação de radicais apresentada pelo DMSO, protege os tecidos circunjacentes ao local da trombose (MCGRAW 1983).

A prevenção de aderências intestinais pelo DMSO indicam a sua capacidade, ou efeitos, hipocoagulativos (MAYER et all, 1965; PACE, KOVACS & KLEVANS, 1983).

2.2.12. PROPRIEDADES DIVERSAS

O efeito primário no sistema respiratório é o aumento da taxa e profundidade da respiração, quando altas doses de DMSO são administradas a cães (PETERSON & ROBERTSON, 1967; CLIFFORD, LEE & LEE, 1983).

O DMSO causa **diurese** após aplicação tópica, oral, ou parenteral, e o mecanismo de ação predominante é provavelmente a própria excreção renal rápida do DMSO associada à sua natureza altamente higroscópica (PETERSON & ROBERTSON, 1967).

O DMSO causa **liberação de histamina** pelos mastócitos e este efeito é responsável pela vasodilatação local e sensibilidade cutânea comumente observada após a aplicação do produto (KLIGMAN, 1965; SULZBERGER et al, 1967).

Aplicações intravenosas de DMSO reduzem as doses de cloralose e methohexital necessárias para manter anestesia em cães (PETERSON, 1967). Há um aumento no período de sono induzido pelo hexobarbital em ratos (KOCISIS, HARKAWAY & VOGEL, 1968). Um **aumento subjetivo** no status mental e conformação física de crianças mentalmente retardadas, incluindo aquelas com trissomia do cromossomo 21, tem sido atribuído à terapia com DMSO (BRAYTON, 1986).

2.2.13. EFEITOS DO DMSO NA REPRODUÇÃO

Na reprodução, os efeitos do DMSO restringem-se a duas de suas propriedades, basicamente.

A capacidade crioprotetora levou à utilização da droga na congelação de espermatozóides e embriões (LOVELOCK & BISHOP, 1959; ZIMMERMAN, MAUDER & MOLDAUER, 1964; TERVILL & GOOLD, 1984; FRANKS et al, 1985).

Em trabalhos pioneiros, LOVELOCK & BISHOP (1959) encontraram melhores resultados na congelação do sêmen quando compararam o DMSO com o glicerol. TERVILL & GOLD (1984) e FRANKS et al (1985) conseguiram bons resultados na congelação de embriões bovinos e ovinos utilizando soluções de 1,0 e 2,0 M de DMSO, com desenvolvimento normal dos embriões após descongelação das estruturas.

Baseados na capacidade antiinflamatória do DMSO, LEY et all (1989) verificaram a eficácia de infusões intrauterinas de soluções contendo 10 a 30% de DMSO em éguas inférteis, e encontraram uma significativa melhora nas características histológicas do endométrio, nas éguas que receberam soluções com 30% de DMSO, quando comparadas àquelas que receberam infusões de solução salina. Houve acentuada redução da fibrose periglandular e redução de infiltrados crônicos de células inflamatórias, com conseqüente melhora na classificação através da biópsia uterina. Posteriormente, LEY et all (1990) notaram que infusões intrauterinas de solução com 30% de DMSO não causam nenhuma diminuição nos parâmetros funcionais de defesa uterina ou na atividade fagocitária dos neutrófilos, quando comparados com infusão salina.

2.3. TOXICIDADE DO DIMETIL SULFÓXIDO

A toxicidade do DMSO é considerada baixa pela maioria dos autores. Doses letais (DL_{50}) aplicadas tópica, oral ou parenteralmente em animais de laboratório são altas (CAUJOLLE et all, 1967; SMITH, 1967; RUBIN, 1975). A LD_{50} , em aplicações endovenosas únicas em ratos, camundongos, gatos, cães, e macacos está entre 2,5 e 8,9 gramas/quilo de peso vivo. A dose terapêutica endovenosa é próxima a 1,0 grama/quilo, em soluções de 10 a 45% e em administrações lentas, em gatos (HOERLEIN et all, 1983), eqüinos (MAYHEW & MACKAY, 1982; REED, 1983) e cães. Com doses letais de DMSO, a morte é usualmente precedida de prostração, convulsões, dispnéia, hipotensão e edema pulmonar (CAUJOLLE, et all, 1967; SMITH, HADIDIAN & MASON, 1967).

As reações de pele são comumente observadas em todas as espécies (GOLDMAN, IGELMAN & KITZMILLER, 1967; BROBYN, 1975; RUBIN, 1975; SEHTMAN, 1975). O calor é formado pela reação do DMSO com a água atmosférica e tecidual (BRADHAM

& SAMPLE, 1967). A vasodilatação local devido à liberação de histamina também contribui para o efeito térmico (KLIGMAN, 1965). Ressecamento, endurecimento e descamação da pele podem ocorrer com aplicações tópicas repetidas, porém, isoladamente, não é suficiente para causar desconfortos sérios (KLIGMAN, 1965a, 1965b).

Reações alérgicas podem ocorrer em aplicações tópicas, acarretando vesiculações e urticária (GOLDMAN, 1967). Ainda não está claro se estas reações são causadas pelo próprio DMSO ou se resultam da apresentação de alérgenos ao sistema imunológico pelo DMSO (BRAYTON, 1986).

Toxicidade ocular causada pelo DMSO foi registrada por RUBIN (1975) que verificou que altas doses diárias, tópicas ou orais, produziram alterações oculares em coelhos jovens. Investigações subseqüentes demonstraram alterações oculares similares em cães, após 9 semanas de doses diárias de 5,0 a 20,0 gramas/quilo de peso vivo (KLEBERGER, 1967; RUBIN, 1983). As alterações oculares ocorreram mais rapidamente e com maior frequência em animais jovens (RUBIN & BARNETT, 1967; WOOD et al, 1967). Em coelhos, cães, e suínos as alterações características foram diminuição na relucência do cristalino, tornando o animal míope (KLEBERGER, 1967; RUBIN & BARNETT, 1967).

Hemólise causada pelo DMSO pode ser verificada tanto in vitro quanto in vivo (DISTEFANO & KLAHN, 1965; GERHARDS & GIBIAN, 1967; WALLER, TANABE & PAXTON, 1983). In vivo, o grau de hemólise depende da concentração do DMSO, da velocidade de administração e da osmolaridade da solução. O efeito hemolítico in vivo é exacerbado quando a administração endovenosa é rápida e em soluções com concentrações maiores que 4% (BRAYTON, 1995).

Nefrotoxicidade causada pela administração oral ou endovenosa foi documentada em camundongos, ratos, cães, e gatos (CAUJOLLE et al, 1967; SMITH, HADIDIAN & MASON, 1967). Os sinais observados incluíram hematúria, hemoglobinúria e nefrose dos túbulos. KEDAR et al (1983), porém, demonstraram efeito protetor na aplicação de solução a 20% de DMSO na base de 3,0 gramas/quilo, previamente ou logo após causarem insultos isquêmicos nos rins de ratos e cães. O tratamento com o DMSO melhorou dramaticamente a função renal e os animais sobreviveram.

Efeitos teratogênicos do DMSO foram registrados em aves e mamíferos. CAUJOLLE et al (1967) produziram uma alta porcentagem de anomalias em pintinhos através da injeção de 1,0 a 30,5 miligramas de DMSO, em solução a 50%, em embriões de galinha de 72 a 96 horas de incubação. Da mesma forma, a aplicação de 4,0 a 10 gramas/quilo de peso vivo de DMSO oral ou intraperitoneal, em doses repetidas, em fêmeas de camundongos e coelhos com gestação precoce, causou abortos e crias com defeitos de desenvolvimento. A contraindicação da bula do produto nacional (DIMESOL) a animais destinados à reprodução possivelmente baseia-se nos resultados desses trabalhos. Contudo, a administração de 5- gramas/quilo de peso vivo de DMSO para fêmeas e machos de camundongos, por 7 dias consecutivos e previamente ao acasalamento, não resultou em alterações de fertilidade ou efeitos teratogênicos (ALSUP, 1984).

Os principais efeitos tóxicos de DMSO provavelmente derivam da sua combinação com outros elementos que são carregados ou potencializados (KNOWLES, 1967; DAVID, 1972; RUBIN, 1983; BRAYTON, 1986; SCHUH, ROSS & MESCHTER, 1988). Tais combinações podem ocorrer: não intencionalmente; devido à contaminação dos materiais pelos quais o DMSO é administrado; devido à contaminação da pele; ou devido à terapias concomitantes.

III. MATERIAL E MÉTODO

3.1. ANIMAIS E MANEJO ALIMENTAR

Nove ovinos da raça Hampshire Down, oriundos do mesmo criatório, de 16 meses de idade e peso vivo médio de 50 quilos, foram utilizados no estudo.

Durante o experimento, os animais foram mantidos em baias individuais e receberam alimentação padronizada de silagem de milho, feno de alfafa desintegrado, sal mineralizado e ração com nível de 14% de proteína bruta, em quantidades suficientes para a manutenção. Todos os animais foram submetidos à avaliação clínico-andrológica anteriormente ao início do trabalho e foram classificados como aptos à reprodução, de conformidade com as normas do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA). Os animais foram mantidos no setor de Ovinocultura da Estação Experimental do Canguiri - UFPR e identificados com brincos auriculares numerados de 1 a 9.

3.2. PLANO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido durante a estação reprodutiva, de janeiro a maio, e dividido em dois períodos distintos:

3.2.1. Período Preliminar

Nesta fase, os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos com 3 animais cada, sendo denominados de Grupo Controle (T) (animais 1, 4, 7), Grupo Experimental I (GEN) (animais 2, 5, 9), e Grupo Experimental II (GEN) (animais 3, 6, 8). Os animais de cada grupo foram submetidos a exames reprodutivos semanais durante 9 semanas consecutivas, abrangendo uma espermatogênese completa. Este período serviu para a padronização das médias para as várias características estudadas, para cada grupo.

3.2.2. Período Experimental

3.2.2.1. Tratamentos

Após o período preliminar, o Grupo Controle recebeu aplicações de **solução salina** na região do **jarrete e bolsa escrotal**. O GEI recebeu aplicações de 1,0 grama/quilo de peso vivo/dia de DMSO* na **bolsa escrotal**, e o GEII recebeu a mesma quantidade da droga, após prévia depilação, na região do **jarrete**.

Para todos os grupos, as doses diárias totais foram divididas em duas aplicações, com intervalo de 12 horas, e efetuadas durante 7 dias consecutivos e realizadas com o uso de luvas plásticas, fazendo-se movimentos de fricção até alcançar a sensação de calor característica.

3.2.2.2. Avaliação dos Grupos

Após a aplicação dos produtos, os grupos foram submetidos a exames reprodutivos semanais, também durante 9 semanas consecutivas, para avaliação dos efeitos da droga durante uma espermatogênese.

3.3. EXAMES REPRODUTIVOS

3.3.1 Exame Semiológico dos Órgãos Genitais Palpáveis

Durante o experimento, foram realizadas mensurações bissemanais da Circunferência Escrotal (CE) e da Consistência Testicular, conforme preconizado por MORROW (1986).

* DIMESOL GEL (Laboratório Marcolab)

3.3.2. Comportamento Sexual

Os animais foram avaliados quanto ao comportamento sexual através da monitoração dos seguintes parâmetros: Tempo Transcorrido (Tt) até a primeira falsa monta; Tempo Transcorrido (Tc) entre a primeira falsa monta e a colheita efetiva do sêmen; e número de Reflexos de FLEHMEN (RF) observados até a primeira falsa monta.

Para cada animal, foi possibilitado a realização de 3 falsas montas em manequim vivo, antes da colheita do sêmen.

3.3.3. Colheita do Sêmen

O sêmen foi colhido com vagina artificial modelo Mies Filho, utilizando-se tubos coletores de vidro individuais para cada animal.

3.3.3.1. Avaliação do Sêmen

As amostras de sêmen foram avaliadas imediatamente após as colheitas, seguindo-se as normas e procedimentos do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1992).

3.3.3.2. Características Seminais Avaliadas

As características avaliadas foram: volume, aspecto e cor, pH, turbilhonamento, motilidade individual, vigor, concentração, nº total de espermatozóides, e morfologia espermática.

3.3.3.3. Volume do Ejaculado

O volume foi aferido através da simples verificação do copo coletor, graduado de 0 a 3,0 mililitros, decimalmente.

3.3.3.4. Aspecto e Cor

O aspecto do sêmen foi classificado de acordo com MIES FILHO (1987), e a coloração foi avaliada por comparação com os matizes de cores existentes.

3.3.3.5. pH

O pH foi medido com fita específica, que mede variações de 0 a 14. Após cada colheita, a fita foi imersa em pequena amostra do ejaculado e imediatamente comparada ao padrão.

3.3.3.6. Turbilhonamento

O turbilhamento foi avaliado através do exame de pequena gota de sêmen puro, observada sob aumento de 40 vezes. A classificação foi feita em escala de 0 a 5, onde o primeiro valor indica acinesia completa, e o último ondas extremamente móveis e bem formadas.

3.3.3.7. Motilidade Espermática Individual

A motilidade foi avaliada em gota pendente entre lâmina e lamínula, previamente diluída em solução de citrato de sódio a 2,9% e observada em aumento de 100 vezes.

Somente foram classificados os espermatozóides com motilidade progressiva, rotatória ou oscilatória. Os resultados foram expressos em porcentagem, pela média de 4 campos de observação.

3.3.3.8. Vigor Espermático

O vigor foi avaliado subjetiva e concomitantemente com a motilidade individual. A classificação foi feita em escala de 0 a 5, com este representando a força máxima de deslocamento.

3.3.3.9. Concentração Espermática

A concentração espermática por mm^3 foi aferida em câmara de Neubauer, com o sêmen diluído em formol salina, na proporção 1:200, diretamente em pipeta de hematimetria (série vermelha).

3.3.3.10. Número Total de Espermatozóides

Através da multiplicação do valor do volume do ejaculado pelo número de espermatozóides por ml, foi calculado o nº total de espermatozóides do ejaculado, expresso em unidade de bilhões de espermatozóides.

3.3.3.11. Morfologia Espermática

A morfologia dos espermatozóides foi avaliada em esfregaço celular, Corado conforme CEROVSKI (1976) e classificada de acordo com BLOM (1973) em Defeitos Maiores, Defeitos Menores, e Defeitos Totais, como segue:

DEFEITOS MAIORES
GPP
Delgado Base
Piriforme
Contorno Anormal
Pequeno Anormal
Defeitos Membrana
Defeito Acrossoma
Cabeça Isolada Anormal
PI Edema, Fratura, Desfibrilação
Cauda Enrolada Cabeça
Cauda Fortemente Dobrada/Enrolada
Formas Duplas
Formas Teratológicas
DEFEITOS MENORES
GPD
Cabeça Isolada Normal
Cabeça DEL, LG, GI, CURTA
Abaxial, Retro Axial
Cauda Dobrada, Enrolada Simples
TOTAL DEFEITOS

Os resultados foram expressos em porcentagem após a contagem de 200 células, observadas em 8 campos diferentes e sob aumento de 1.000 vezes.

3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram efetuados os cálculos da Média Aritmética (\bar{X}), Desvio Padrão (DP) e Análise de Variância (5%) em delineamento completamente casualizado, entre os tratamentos.

IV. RESULTADOS

4.1. CIRCUNFERÊNCIA ESCROTAL E CONSISTÊNCIA TESTICULAR

Os animais iniciaram o experimento com circunferência escrotal média de 33,22 cm e terminaram com 34,30 com todos eles apresentando crescimento testicular (tabela 1). No início, o menor e o maior valor foram 32,0 e 34,0 cm, respectivamente e, ao final, foram 34,0 e 35,0 cm.

A consistência testicular manteve-se fixa para todos os animais durante todo o experimento, sendo classificada como firme-elástica.

4.2. COMPORTAMENTO SEXUAL

4.2.1. Tempo transcorrido até a 1ª falsa monta (Tt)

Até a 4ª avaliação, houveram variações com o valor mínimo de zero e o máximo de 120 segundos até os animais efetuarem a 1ª monta (tabela 2). Posteriormente, os animais apresentaram tempo zero para a característica, efetuando a monta imediatamente, uma vez colocados junto ao manequim. Para todas as avaliações, o tempo médio gasto até a 1ª monta foi de 42,5 segundos.

4.2.2. Tempo transcorrido até a colheita do sêmen (Tc)

O tempo mínimo foi de 60 segundos e o máximo de 240, até a colheita efetiva do sêmen (tabela 2). O tempo médio gasto até a colheita foi de 89,63 segundos, para todas as colheitas.

4.2.3. Reflexo de Flehmen

Os animais apresentaram o reflexo somente no início do experimento. O nº máximo de reflexos foi 3 e o mínimo zero, até a 5ª semana (tabela 2). Durante todo o experimento, a média de reflexos foi de 0,47 por colheita.

4.3. CARACTERÍSTICAS SEMINAIS

4.3.1. Volume

As tabelas de nº 3 e 4 contêm, respectivamente, os resultados médios obtidos para o volume do ejaculado dos grupos, no Período Preliminar e Período Experimental. A tabela nº 5 contêm os resultados das médias encontradas por animal durante todo o estudo. Em 162 observações, a média global do volume foi $1,11 \pm 0,16$ ml (tabela 5), com variação de $0,80 \pm 0,06$ a $1,34 \pm 0,04$ mililitros. A comparação entre os valores médios obtidos para os grupos, durante os 2 períodos, estão apresentadas no gráfico 1.

4.3.2. Aspecto e Cor

O aspecto cremoso repetiu-se em todas as amostras, bem como a coloração branco pérola, nos 2 períodos do experimento.

4.3.3. pH

O teste do pH indicou valores entre 6 e 7 para todas as colheitas, efetuadas nos 2 períodos.

4.3.4. Turbilhonamento

Os valores obtidos para o turbilhão foram muito semelhantes tanto entre animais como entre grupos. As tabelas 3, 4 e 5 contêm, respectivamente, os valores médios do turbilhão para os grupos no período preliminar, período experimental, e durante todo o experimento. Na média geral, o turbilhão foi $4,90 \pm 0,13$ com variações entre $4,60 \pm 0,23$ e 5,00.

4.3.5. Motilidade Individual

Os valores médios mínimos e máximos encontrados durante o experimento foram $72,22 \pm 1,61$ e $80,55\%$, respectivamente, com média global de $78,71 \pm 2,67\%$ (tabela 5). Para os grupos, os resultados estão apresentados nas tabelas 3 e 4 e a comparação entre os resultados do Período Preliminar e Experimental está apresentada no gráfico 2.

4.3.6. Vigor

A média para o Vigor foi 5,00 para todos os animais, durante todo o experimento.

4.3.7. Concentração e Número Total de Espermatozóides

As tabelas de número 3 e 4 contêm, respectivamente, os resultados médios obtidos para a concentração espermática por mm^3 ($\times 10^3$) e o nº total de espermatozóides ($\times 10^6$) por ejaculado para cada grupo, nos 2 períodos. Nos gráficos 3 e 4 estão representadas as comparações das duas características entre os grupos. A tabela 5 mostra as médias globais obtidas para todos os animais durante o experimento completo.

4.3.8. Morfologia Espermática

Nas tabelas 3 e 4 estão apresentados os valores médios da porcentagem de Defeitos Maiores e Menores, bem como de Defeitos Totais, encontrados para os grupos, no período preliminar e experimental, respectivamente. As médias globais dos defeitos maiores, menores e totais foram $1,18 \pm 0,39$, $1,36 \pm 0,34$ e $2,53 \pm 0,65$, respectivamente (tabela 5). O gráfico 5 mostra a comparação dos defeitos totais entre os grupos, durante os 2 períodos.

**TABELA 1 MEDIDAS DA CIRCUNFERÊNCIA ESCROTAL (C.E.) E CONSISTÊNCIA TESTICULAR (CT),
AVALIADAS BISSEMANALMENTE**

NIMAL	C.E.	C.T.	C.E.	C.T.	C.E.	C.T.	C.E.	C.T.	C.E.	C.T.	C.E.	C.T.	C.E.	C.T.	C.E.	C.T.	C.E.	C.T.	C.E.	C.T.
1	33,0	FE	33,0	FE	33,0	FE	33,5	FE	33,5	FE	33,5	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE
2	33,0	FE	33,0	FE	33,0	FE	33,0	FE	33,0	FE	33,0	FE	33,5	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE
3	33,0	FE	33,0	FE	33,0	FE	33,0	FE	33,5	FE	33,5	FE	33,5	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE
4	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,5	FE	34,5	FE	34,5	FE	35,0	FE	35,0	FE	35,0	FE	35,0	FE
5	33,0	FE	33,0	FE	33,0	FE	33,5	FE	33,5	FE	33,5	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE
6	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,5	FE	34,5	FE	34,5	FE
7	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,5	FE	34,5	FE	35,0	FE	35,0	FE	35,0	FE	35,0	FE
8	33,0	FE	33,0	FE	33,0	FE	33,0	FE	33,0	FE	33,0	FE	33,5	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE
9	32,0	FE	32,0	FE	32,0	FE	32,5	FE	33,0	FE	33,5	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE	34,0	FE
	1ª SEMANA		3ª SEMANA		5ª SEMANA		7ª SEMANA		9ª SEMANA		11ª SEMANA		13ª SEMANA		15ª SEMANA		17ª SEMANA		18ª SEMANA	

MS.: Circunferência medida em cm
FE= Firme Elástico

TABELA 2 RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO SEXUAL
REALIZADA BISSEMANALMENTE

ANI- MAL	CARACTERÍSTICAS																										
	Tt	TC	RF	Tt	TC	RF	Tt	TC	RF	Tt	TC	RF	Tt	TC	RF	Tt	TC	RF	Tt	TC	RF	Tt	TC	RF	Tt	TC	RF
1	60	120	2	30	90	1	30	90	1	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0
2	60	120	2	30	90	1	30	90	1	30	90	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0
3	120	180	3	60	120	2	60	120	1	30	90	0	0	90	0	0	90	0	0	90	0	0	90	0	0	90	0
4	60	120	2	30	90	1	30	90	1	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0
5	90	180	3	60	180	2	30	120	1	30	120	0	0	120	0	0	120	0	0	120	0	0	120	0	0	120	0
6	60	120	2	60	120	2	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0
7	60	120	1	60	120	1	30	90	0	30	90	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0
8	120	240	2	90	150	1	0	90	0	0	90	0	0	90	0	0	90	0	0	90	0	0	90	0	0	90	0
9	90	180	2	90	180	2	30	60	0	30	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0	0	60	0
X	80	153,33	2,11	53,33	126,66	1,56	23,33	90,0	0,55	16,67	80,0	0	0	73,33	0	0	73,33	0	0	73,33	0	0	73,33	0	0	73,33	0
DP(±)	25,98	43,59	0,6	29,15	36,11	0,53	20,0	21,21	0,53	15,81	21,21	0	0	21,80	0	0	21,80	0	0	21,80	0	0	21,80	0	0	21,80	0
	1ª SEMANA			3ª SEMANA			5ª SEMANA			7ª SEMANA			9ª SEMANA			12ª SEMANA			15ª SEMANA			17ª SEMANA			18ª SEMANA		

OBS.: Tt = tempo transcorrido até a 1ª falsa monta (segundos)
Tc = Tempo transcorrido até a colheita do sêmen (segundos)
RF = Reflexo de Flehmen

TABELA 3 MÉDIA (X) E DESVIO PADRÃO (DP) DOS VALORES ENCONTRADOS PARA AS CARACTERÍSTICAS SEMINAIS POR GRUPOS. PERÍODO PRELIMINAR

GRUPO	CARACTERÍSTICAS															
	VOLUME (ml)		TURBILHÃO (1-5)		MOTILIDADE %		CONCENTRAÇÃO (X10 ³ mm ³)		Nº TOTAL DOS ESPERMATOZÓIDES (x10 ⁶)		Def. Ma		Me		Tot	
	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP
Gt (nº 9)	1,06 ^a	±0,28	4,73 ^a	±0,25	76,48 ^a	±4,72	2308,63 ^a	±189,99	2427,50	±575,97	1,18 ^a	±0,18	1,22 ^a	±0,31	2,40 ^a	±0,48
GEI (nº 9)	1,14 ^a	±0,09	5,00 ^a	±0,00	80,18 ^a	±0,32	2420,36 ^a	±6,81	2781,93	±227,14	0,90 ^a	±0,23	1,26 ^a	±0,21	2,16 ^a	±0,31
GEII (nº 9)	1,15 ^a	±0,15	4,89 ^a	±0,19	76,48 ^a	±4,72	2371,11 ^a	±93,18	2740,70	±314,13	1,14 ^a	±0,94	1,68 ^a	±0,50	3,09 ^a	±1,43
TOTAL (nº 27)	1,10	±0,06	4,93	±0,05	77,71	±2,14	2366,70	±55,99	2650,04	±193,83	1,07	±0,15	1,39	±0,25	2,55	±0,48

OBS.: Os números entre parênteses representam o nº de colheitas analisadas

^a médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente (p>0,05)

TABELA 4 MÉDIA (X) e DESVIO PADRÃO (DP) dos valores encontrados para as características seminais por grupos.
Período Experimental

GRUPO	CARACTERÍSTICAS															
	VOLUME (ml)		TURBILHÃO (1-5)		MOTILIDADE %		CONCENTRAÇÃO (X10 ³ mm ³)		Nº TOTAL DOS ESPERMATOZÓIDES (x10 ⁶)		Def. Ma		Me		Tot	
	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP
Gt (nº 9)	1,06 ^a	±0,21	4,88 ^a	±0,12	77,22 ^a	±3,38	2303,33 ^a	±197,01	2417,82	±393,57	1,63 ^a	±0,37	1,27 ^a	±0,44	2,83 ^a	±0,93
GEI (nº 9)	1,06 ^a	±0,14	4,96 ^a	±0,07	80,36 ^a	±0,32	2441,85 ^a	±32,51	2582,74	±289,71	0,74 ^a	±0,28	1,11 ^a	±0,31	1,85 ^a	±0,28
GEII (nº 9)	1,17 ^a	±0,22	4,96 ^a	±0,07	79,07 ^a	±0,32	2387,77 ^a	±103,88	2786,74	±457,46	1,22 ^a	±0,31	1,63 ^a	±0,09	2,85 ^a	±0,37
TOTAL (nº 27)	1,10	±0,06	4,93	±0,05	78,88	±1,61	2377,65	±69,81	2595,77	±184,81	1,21	±0,45	1,34	±0,31	2,51	±0,57

OBS.: Os números entre parênteses representam o nº de colheitas analisadas

^a Médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente (p>0,05)

TABELA 5 Média (X) e Desvio Padrão (DP) dos valores encontrados para as características seminais individualmente
Período Preliminar e Experimental

GRUPO	CARACTERÍSTICAS													
	VOLUME (ml)		TURBILHÃO (1-5)		MOTILIDADE %		CONCENTRAÇÃO (X10 ³ mm ³)		Def. Ma (%)		Def. Me (%)		Def. Tot. (%)	
	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP	X	DP
1	1,20	±0,07	4,60	±0,23	72,22	±1,61	2406,77	±37,55	1,55	±0,24	1,53	±0,04	3,08	±0,21
2	0,80	±0,06	4,88	±0,00	79,72	±0,41	2426,61	±36,93	1,53	±0,59	1,35	±0,27	2,88	±0,87
3	1,21	±0,01	4,94	±0,08	78,61	±0,39	2084,99	±11,78	1,14	±0,08	0,85	±0,12	1,88	±0,16
4	1,17	±0,08	4,94	±0,08	80,55	±0,00	2426,11	±10,22	0,80	±0,21	1,47	±0,04	2,27	±0,23
5	0,97	±0,09	5,00	±0,00	80,00	±0,00	2446,11	±44,78	0,58	±0,11	1,11	±0,08	1,69	±0,19
6	1,17	±0,00	5,00	±0,00	80,28	±0,39	2421,11	±9,43	1,08	±0,04	0,97	±0,14	2,05	±0,24
7	1,34	±0,04	4,94	±0,08	79,99	±0,78	2280,55	±3,93	0,83	±0,71	1,36	±0,35	2,19	±1,06
8	1,17	±0,04	4,83	±0,24	76,94	±2,74	2476,66	±11,00	1,64	±0,28	1,88	±0,23	3,52	±0,51
9	0,98	±0,05	5,00	±0,00	79,95	±1,58	2381,11	±28,28	1,51	±0,83	1,72	±0,23	3,19	±1,06
X	1,11	±0,16	4,90	±0,13	78,71	±2,67	2371,89	±120,66	1,18	±0,39	1,36	±0,34	2,53	±0,65

OBS.: Resultados médios obtidos em 162 colheitas.

Variações Semanais do Volume entre os Grupos. Período Preliminar e Experimental

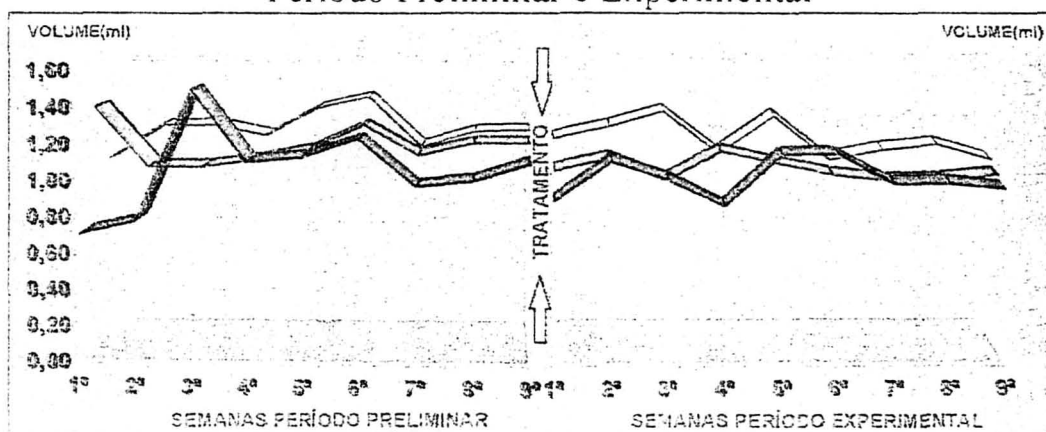


GRAFICO 1

— G_T — Ge_I — Ge_{II}

Variações Semanais da Motilidade Individual entre os Grupos. Período Preliminar e Experimental

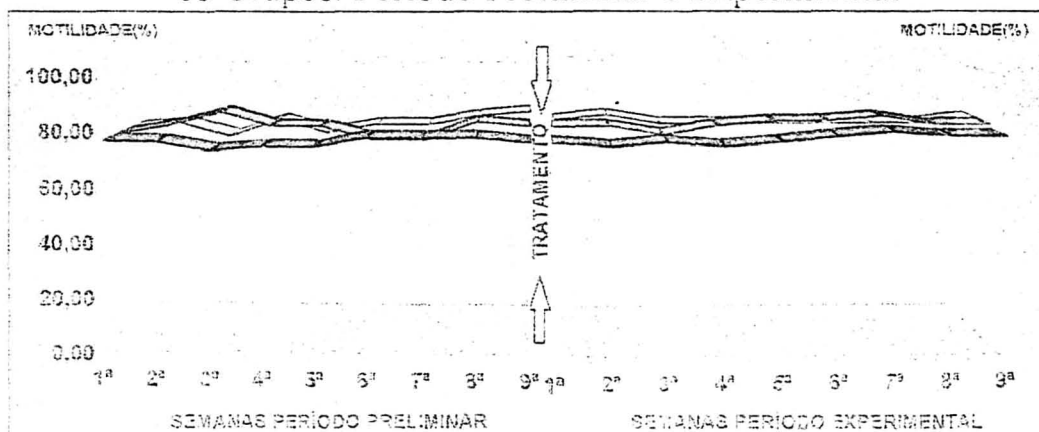


GRAFICO 2

— G_T — Ge_I — Ge_{II}

Variações Semanais da Concentração entre os Grupos. Período Preliminar e Experimental

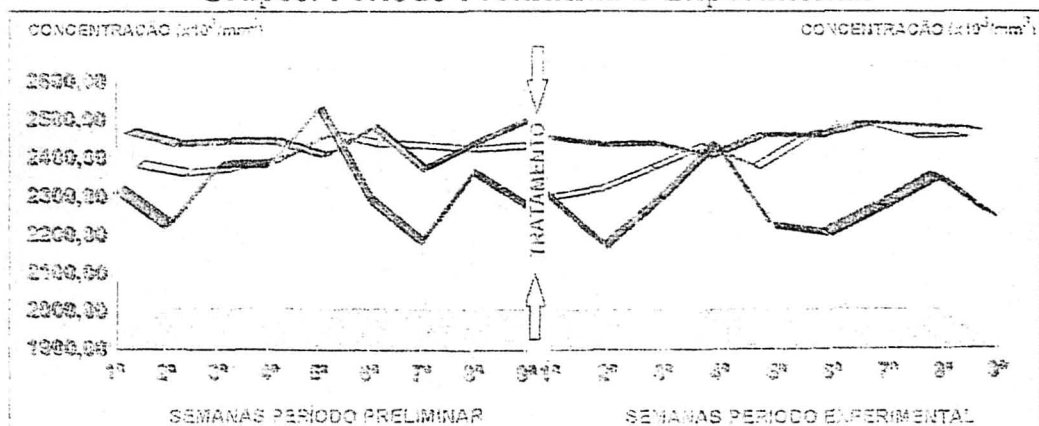


GRAFICO 3

— G_T — Ge_I — Ge_{II}

Variações Semanais do nº total de Espermatozóides,
no ejaculado. Período Preliminar e Experimental

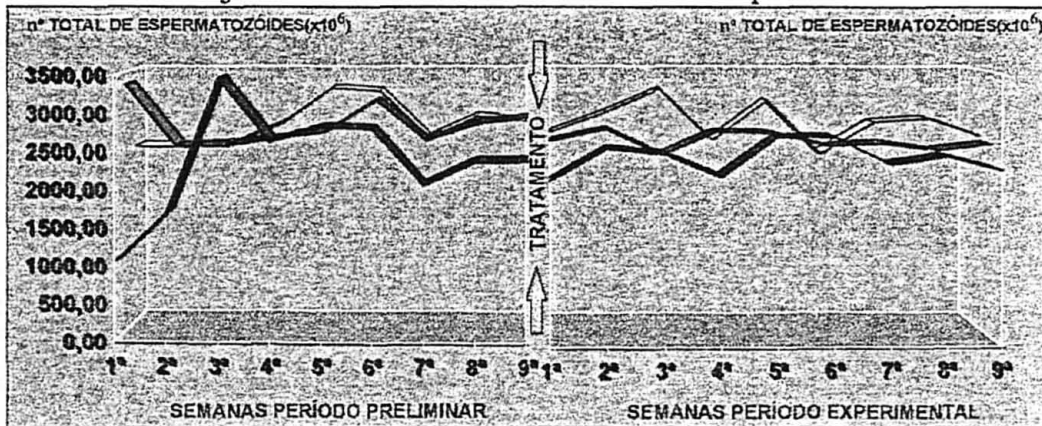


GRAFICO 4

G_T Ge_I Ge_{II}

Variações Semanais dos Defeitos Espermáticos Totais.
Período Preliminar e Experimental

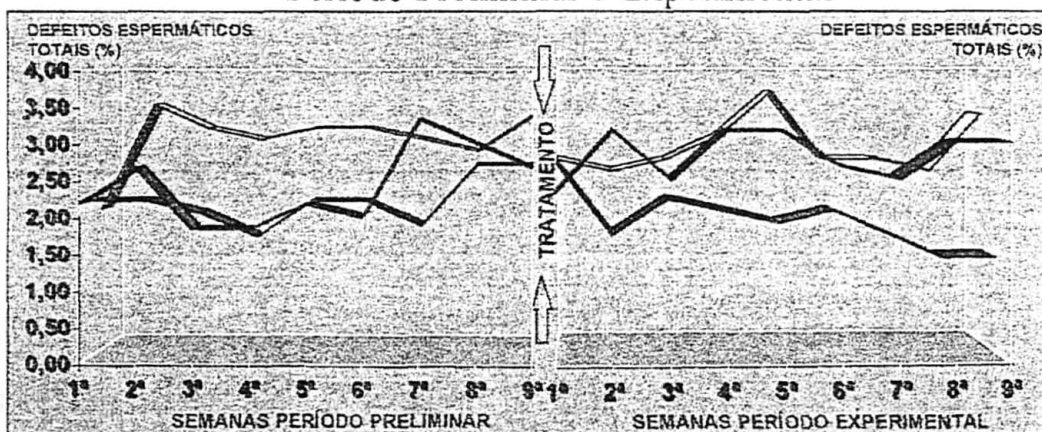


GRAFICO 5

G_T Ge_I Ge_{II}

V. DISCUSSÃO

Devido à completa inexistência de estudos relacionando o uso do DMSO com as características reprodutivas de machos de qualquer espécie animal, o presente experimento tem caráter inédito e os dados obtidos somente podem ser comparados com valores médios citados por outros autores, no que se refere às diversas características reprodutivas da espécie ovina.

A **reação exotérmica** produzida pela fricção da droga foi verificada em todos os animais submetidos à sua aplicação (GEI e GEII), porém foi passageira e não causou desconforto. O odor característico foi percebido em todas as aplicações. **Reações de pele**, tais como ruborização e formação de pequenas escaras, somente foram percebidas em um indivíduo do grupo II (GEII), porém como o animal foi submetido à depilação, não se pode determinar se tais alterações foram causadas única e exclusivamente pelo DMSO, pela depilação, ou por ação de ambos.

Quanto à aplicação, o uso de luvas plásticas não se mostrou eficaz na proteção do operador, pois que, após a retirada das mesmas, foi possível perceber o odor da droga que persistiu mesmo após a lavagem das mãos.

Os animais estudados eram uniformes na idade e peso, o que possibilitou uma avaliação representativa para a raça estudada. Não houveram diferenças significativas entre os grupos de animais submetidos aos diferentes tratamentos, para todas as características avaliadas e, em conjunto, os resultados médios obtidos durante os 2 períodos indicaram amostras de sêmen de alta qualidade (COLE & CUPPS, 1984; MIES FILHO, 1987; MACDONALD & PINEDA, 1989; FONSECA et al, 1992) e de alto poder fecundante, conforme citado por HULET & ERCAN BRACK(1962) que encontraram alta correlação entre as características estudadas e a fertilidade, medida pela porcentagem de ovelhas gestantes 25 dias após o acasalamento.

5.1. EXAME SEMIOLÓGICO DOS ÓRGÃOS GENITAIS PALPÁVEIS

A fricção da droga e da solução salina, bem como a própria manipulação dos animais, não foi suficiente para causar alterações nas medidas da Circunferência Escrotal e Consistência Testicular. Os valores encontrados para a Circunferência Escrotal estão de acordo com JOBIN, OBGERST & WALD (1990), FERRARI et all (1992), SCHWARTZ et all (1992) e DA SILVA et all (1995). Houve crescimento testicular em todos os animais e isto deveu-se, provavelmente, à sazonalidade (ABELLA, 1993). A consistência testicular manteve-se constante durante o experimento, e pode ser classificada como muito boa, segundo MIES FILHO (1987).

5.2. COMPORTAMENTO SEXUAL

A aplicação da droga e a manipulação dos animais não interferiu com o comportamento sexual. Os carneiros mostraram desejo sexual pronunciado durante todo o experimento, e efetuavam a monta num curto espaço de tempo após serem colocados juntos ao manequim. Reações tipicamente masculinas de agressividade, tais como bater de patas, tentativas de dar cabeçadas e vocalização foram verificadas em todos os animais durante todo o experimento. Os reflexos de Flehmen somente foram verificados até a 5ª semana do período preliminar, após a qual os reprodutores efetuavam as montas muito rapidamente e sem realizá-los, refletindo, muito provavelmente, um excelente condicionamento à colheita do sêmen e não uma diminuição no desejo sexual.

5.3. CARACTERÍSTICAS SEMINAIS

5.3.1. Volume

Para os grupos, houve certa homogeneidade entre as amostras, com um coeficiente de variação de apenas 17%. Na média geral, o valor de $1,11 \pm 0,16$ mililitros, com limites de $0,80 \pm 0,06$ e $1,34 \pm 0,04$ está de acordo com a maioria dos autores (COLE e CUPPS, 1984; COUTINHO & SILVA, 1989; LAING, MORGAN & WAGNER, 1988; MACDONALD & PINEDA, 1989; FONSECA et al, 1992; SPEEDY, 1992; ABELLA, 1993; e DEL CAMPO, 1993), e dentro da faixa de variação proposta por MIES FILHO (1987).

5.3.2. Turbilhonamento

Nesta característica houveram pequeníssimas variações, com as médias entre os grupos muito próximos ao valor máximo (5), indicando amostras com alta concentração associada à excelente motilidade e vigor espermáticos, conforme FONSECA et al (1992).

5.3.3. Aspecto, Cor e pH

Para essas características, os resultados encontrados foram fixos durante todo o experimento e concordam com as informações de MIES FILHO (1987) e MACDONALD & PINEDA (1989).

5.3.4. Motilidade Individual e Vigor

A avaliação da motilidade é considerada como um dos exames mais importantes na classificação do sêmen, pois tem alta correlação com a taxa de fecundação, tanto no sêmen fresco quanto no congelado (HULET & ERCANBRACK, 1962; CASAGRANDE, 1979; VALE FILHO, 1989; SPEEDY, 1992).

Amostras do sêmen considerados aceitáveis e dentro dos padrões recomendados pelo CBRA (1992), têm variações da motilidade individual entre 55,17 e 100,00%. Os resultados obtidos no experimento aproximam-se daqueles de COLE & CUPPS (1984), MIES FILHO (1987), MACDONALD & PINEDA (1989), e FREITAS & NUNES (1992), são superiores aos de MORAIS, SILVA & SCHUCH (1976) e SCHWARTZ et al (1992), e enquadram-se na faixa de variação proposta pelos autores.

Quanto ao vigor, os valores obtidos foram máximos, indicando movimentos vigorosos e rápidos dos espermatozóides, típicos de motilidade rotatória progressiva (VALE FILHO, 1989).

5.3.5. Concentração e número total de espermatozóides

Os resultados das médias dos grupos, durante os 2 períodos, e global para a concentração espermática ($\times 10^3/\text{mm}^3$) estão dentro da faixa de variação proposta por MIES FILHO (1987) e abaixo da média mais comum para a espécie, conforme COLE & CUPPS (1984), MIES FILHO (1987), e MACDONALD & PINEDA (1989), porém muito próximos dos resultados de MORAIS, SILVA & SCHUCH (1976) e SCHWARTZ et al (1992).

Muito embora não exista um limite mínimo de concentração, os valores obtidos podem ser considerados normais para a espécie.

Da mesma forma, o nº total de espermatozóides por ejaculado está muito próximo dos valores citados por COLE & CUPPS (1984) e MACDONALD & PINEDA (1989).

5.3.6. Morfologia Espermática

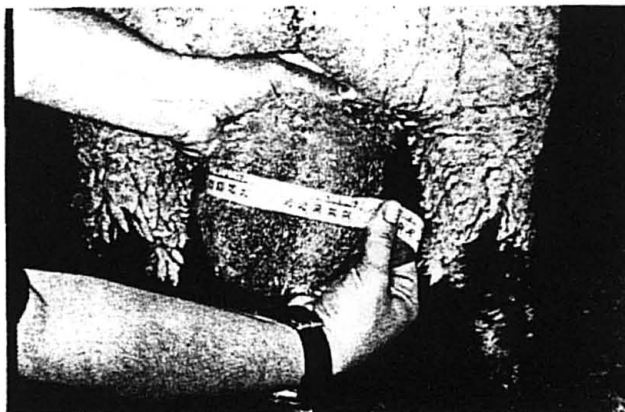
Através da comparação dos resultados médios encontrados nos grupos, entre o período preliminar e experimental, não houveram variações significativas nas porcentagens de defeitos maiores, menores e totais. Os valores estão dentro dos limites estabelecidos para a espécie, próximos aos de SCHWARTZ et al (1992) e DA SILVA et al (1995) e indicam carneiros de fertilidade normal (SPEEDY, 1993).

VI. CONCLUSÕES

Os resultados da avaliação da influência do **Dimetil Sulfóxido** sobre as características reprodutivas de ovinos permitem as seguintes conclusões:

- No protocolo posológico empregado, o DMSO não interferiu na biometria testicular, comportamento sexual e características seminais de ovinos.
- O calor ocasionado pela fricção do DMSO na bolsa escrotal não causou alterações na gametogênese.
- O DMSO causou halitose e cheiro característicos nos animais submetidos à sua aplicação.
- Há necessidades de maiores estudos sobre o efeito da droga ao organismo animal.

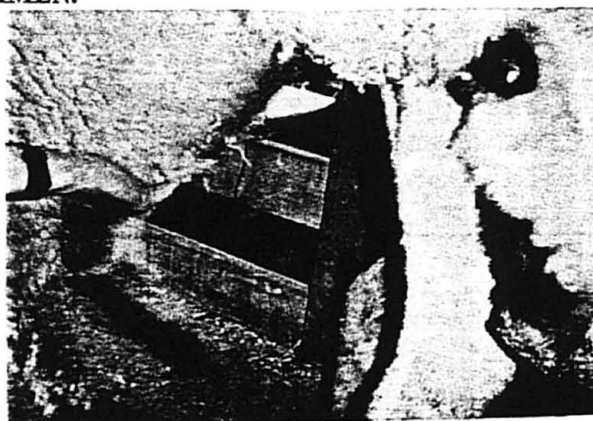
VII. ILUSTRAÇÕES



**FIGURA 3. EXAME SEMIOLÓGICO
DOS ÓRGÃOS GENITAIS.**



**FIGURA 4. AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO
SEXUAL. REFLEXO DE FLEHMEN.**



**FIGURA 5. AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO
SEXUAL. FALSA MONTA.**

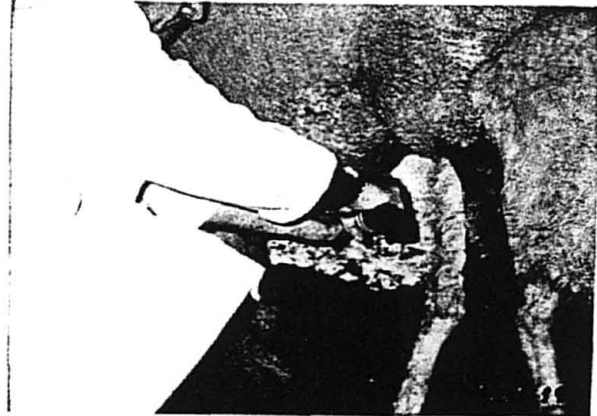
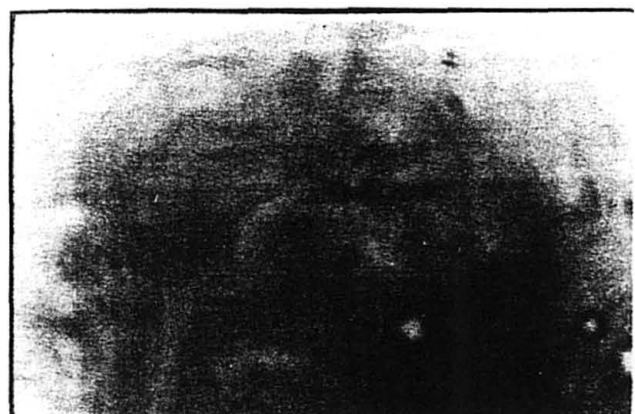


FIGURA 6. COLHEITA DO SÊMEN.



**FIGURA 7. AVALIAÇÃO DO VOLUME,
ASPECTO E COR.**



**FIGURA 8. AVALIAÇÃO DO
TURBILHONAMENTO.**

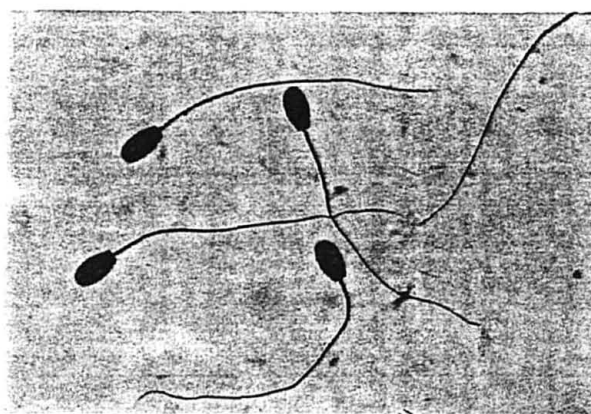
**FIGURA 9. AVALIAÇÃO DA MOTILIDADE
ESPERMÁTICA E VIGOR.**



**FIGURA 10. AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO
ESPERMÁTICA.**



**FIGURA 11. AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA
ESPERMÁTICA.**



VIII. RESUMO

Com o objetivo de se comparar os efeitos da aplicação tópica de Dimetil Sulfoxido, na dose de 1g/kg peso vivo, e da solução salina sobre as características reprodutivas de ovinos, 9 reprodutores Hampshire Down de 16 meses de idade e peso vivo médio de 50 kg, foram utilizados no estudo.

Os animais foram divididos em três grupos com 3 animais em cada, e as avaliações foram realizadas semanalmente, durante 18 semanas consecutivas, abrangendo duas gametogêneses.

O experimento foi dividido em 2 períodos: o período preliminar serviu ao condicionamento dos animais à colheita do sêmen e padronização das características estudadas, e abrangeu as 9 primeiras semanas; o período experimental serviu à comparação entre os efeitos da droga e da solução salina sobre as características reprodutivas. Este período abrangeu as 9 semanas restantes do experimento, após os animais terem recebido aplicações tópicas na bolsa escrotal e jarrete.

O grupo controle recebeu solução salina no jarrete e bolsa escrotal, o grupo experimental I recebeu DMSO na bolsa, e grupo experimental II o recebeu no jarrete. A dose total diária foi dividida em duas aplicações com intervalo de 12 horas, durante 7 dias consecutivos.

Não houveram diferenças significativas entre os grupos para quaisquer das características avaliadas. A biometria testicular, o comportamento sexual, e as características seminais não sofreram alterações após a aplicação do DMSO e solução salina e a fertilidade dos reprodutores, medida pelos resultados das características estudadas, manteve-se alta durante todo o experimento.

IX. SUMMARY

With the objective of comparing the effects of the topical application of dimethyl sulphoxyde (DMSO), at the dosage of 1 g/Kg, and saline solution over the reproductive characteristics of the ovine, nine sixteen-month-old Hampshire Down rams, with an average Weigth of 50 Kg, were used in the study.

The animals were divided into three groups of three animals each, the evaluations were carried out weekly, during 18 consecutive weeks, comprehending two gametogenesis.

The experiment was divided into two periods: the preliminary period was used for the conditioning of the animals to the collecting of the semen and the standartization of the characteristics studied. That took the first 9 weeks. The experimental period served to the comparing of drug effects and of the saline solution over the reproductive characteristics. This period took the remaining 9 weeks of the experiment, after the animals had received the topical applications in the scrotum and in the hock.

The control group was given saline solution in the hock and in the scrotum, the experience group I was given DMSO in the scrotum, and the experience group II was given it the hock. The total daily intake was divided into two applications every 12 hours, during seven consecutives days.

There have not been significant changes in the groups for any of the evaluated characteristics. The testicle biometry, the sexual behavior and the seminal characteristics have not suffered alterations after the application of the DMSO and the saline solution. The fertility level of the rams, measured by the results of the characteristics studied, has kept high all during the experiment.

X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELLA, D. F. **Princípios de fisiologia reprodutiva ovina**, 1ª edição, ed. Emisferio Sur, 1993.
- ALBIN, M. S.; BUNEGIN, L.; HELSEL, P. Dimethyl sulfoxide and other therapies in experimental pressure induced cerebral focal ischemia. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.261-268, 1983.
- ALSUP, E. M. Dimethyl sulfoxide. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.185, nº9, pg.1011-1014, november, 1984.
- ANTONY, V. B.; SAHN, S. A.; REPINE, J. E. Effect of dimethyl sulfoxide on chemotaxis of phagocytic cells. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.321-323, 1983.
- ASHWOOD-SMITH, M. J. Current concepts concerning the radioprotective and cryoprotective properties of dimethyl sulfoxide in cellular systems. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.45-62, 1967.
- BALDINI, M. J. Discussion paper : dimethyl sulfoxide as a cryoprotective agent for platelet preservation by freezing. **Annals of New York Academic Science**, vol.243, pg.306-307, 1975.
- BANTHORPE, D. V.; LAMONT, D. M. Potential toxicity of solutions of dimethyl sulfoxide. **Nature**, vol.215, pg.1296-1297, 1967.
- BARTFELD, H.; GOLSTEIN, A. Cell mediated immunity : its modulation by dimethyl sulfoxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.243, pg.81-90, 1975.
- BERLINER, D. L.; RUHMAN, A. G. The influence of dimethyl sulfoxide on fibroblastic proliferation. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.159-164, 1967.
- BLOM, E. The ultrastructure of some characteristics sperm defects and a proposal for a new classification of bull spermogram. **Nord. Vet. Med.**, vol. 25, pg.383-391, 1973.
- BLUMENTHAL, L. S.; FUCHS, M. The clinical use of dimethyl sulfoxide on various headaches, musculoskeletal and other general medical disorders. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.572-585, 1967.
- BRADHAM, G. B.; SAMPLE, J. J. The vascular and thermal effects of dimethyl sulfoxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.225-230, 1967.
- BRAUDE, M. C.; MONROE, R. R. Effects of dimethyl sulfoxide and alfagluochloralose on pentylenetetrazol convulsive thresholds in mice. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.248-253, 1967.
- BRAYTON, C. F. Dimethyl sulfoxide (DMSO) : a review. **Cornell Vet.**, v.76, pg.61-90, 1986.
- BRAYTON, C. F. in BONAGURA, J. D. **KIRK'S CURRENT VETERINARY THERAPY XII - Small animal practice**, W. B. SAUNDERS, Philadelphia, 1995.

- BRECHNER, V. L.; COHEN, D. D.; PRETSKY, I. Dermal anesthesia by the topical application of tetracaine base dissolved in dimethyl sulfoxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.524-531, 1967.
- BROBYN, R.D. The human toxicology of dimethyl sulfoxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.243, pg.497-506, 1975.
- BROWN, J. H. Clinical experiences with DMSO in acute musculoskeletal conditions, comparing a non-controlled series with a double blind study. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.496-505, 1967.
- CASAGRANDE, J. F. A influência da motilidade espermática e da velocidade sobre a fertilidade do sêmen. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, III, pg.31-35, 1979.
- CAUJOLLE, F. M. E.; CAUJOLLE, D. H.; CROS, S. B. CALVET, M. J. Limits of toxic and teratogenic tolerance of dimethyl sulfoxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.110-125, 1967.
- CEROVSKI, J. O. A method of the staining of boar spermatozoa for morphological evaluation. **Zivocisma Vyroba**, vol.21, pg.361-365, 1976.
- CLIFFORD, D. H.; LEE, D. C.; LEE, M. O. Effects of dimethyl sulfoxide and acupuncture on the cardiovascular system of dogs. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.84-93, 1983.
- COLE, H. N. and CUPPS, P. T. **Reproduccion de los animales domesticos**. 1ª edição, ed. Acribia, 1984.
- COUTINHO, G. C. & SILVA, L. H. V. Manejo reprodutivo dos ovinos. **Manual técnico - CIDASC**, Florianópolis/SC, 1989.
- DA SILVA, M. A.; FERRARI, M. V.; DE LIMA, M. R. e FOLADOR, A. Características reprodutivas de carneiros Hampshire Down. **Anais 11º Congresso Brasileiro de Reprodução Animal - Belo Horizonte : Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, pg.387, 1995.
- DAVID, N. A. The pharmacology of dimethyl sulfoxide. **Annals Rev. of Pharmacology**, vol.12, pg.353-374, 1972.
- DE LA TORRE, J. C. Role of dimethyl sulfoxide in prostaglandin-tromboxane and platelet systems after cerebral ischemia. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.293-308, 1983.
- DEL CAMPO, A. D. **Manual práctico de reproducción e inseminación artificial em ovinos**. 1ª edição, ed. Emisferio Sur, 1993.

- DEMOS, C. H.; BECKLOFF, G. L.; DONIN, M. N.; OLIVER, P. M. Dimethyl sulfoxide in musculoskeletal disorders. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.517-523, 1967.
- DISTEFANO, V.; KLAHN, J. J. Observations on the pharmacology and hemolytic activity of dimethyl sulfoxide. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, vol.7, pg.660-666, 1965.
- DJKAN, T. I.; GUNBERG, D. L. Percutaneous absorption of two steroids dissolved in dimethyl sulfoxide in the immature female rat. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.406-413, 1967.
- DOUGHERTY, R. M. Use of dimethyl sulfoxide for preservation of culture cells by freezing. **Nature**, vol.193, pg.550-552.
- DUBINSKI, M. B. Experience in the use of dimethyl sulfoxide in the diseases of the supporting motor apparatus and general suppurative surgery. **Annals of New York Academic Science**, vol.243, pg.497-499, 1975.
- DUJOVNY, M.; ROZARIO, R.; KOSOVSKY, N.; DIAZ, F. G.; SEGAL, R. Antiplatelet effects of dimethyl sulfoxide, barbiturates and methylprednisolone. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.234, 1983.
- FERRARI, M. V.; TAHIRA, J. K.; SCHWARTZ, I. V. e MAZZAROLO, A. L. Parâmetros reprodutivos de carneiros da raça Hampshire Down criados no sul do Paraná. **Anais do XXII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, (352), 1992.
- FINNEY, J. W.; URSCHEL, H. C.; BALLA, G. A.; RACE, J. G.; JAY, B. E.; PINGREE, H. P.; DORMAN, H. L.; MALLAMS, J. T. Protection of the ischemic heart with DMSO alone or DMSO with hydrogen peroxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.231-241, 1967.
- FONSECA, V. O.; VALE FILHO, V. R.; MIES FILHO, A e ABREU, J. J. **Procedimentos para exame andrológico e avaliação do sêmen animal**. Belo Horizonte : Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1992.
- FOX, R. B.; FOX, W. K. Dimethyl sulfoxide prevents hydroxyl radical mediated depolymerization of hyaluronic acid. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.14-18, 1983.
- FRANKS, B. C.; COLEY, S. L.; BETTERBEEL, B.; PAGE, R. D. The effects of cryoprotective agents, dilution rates, freezing rates and freezing units on the survival of bovine embryos. **Theriogenology**, vol.23, pg.194, Abstract, 1985.
- FRANZ, T. J.; VAN BURGGEN, J. T. A possible mechanism of action of DMSO. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.302-309, 1967.
- FREITAS, V. J. F. & NUNES, J. F. Parâmetros andrológicos e seminais de carneiros deslanados criados na região litorânea do nordeste brasileiro em estação seca e chuvosa. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, vol.16, nº3-4, pg.95-104, 1992.

- GERHARDS, E.; GIBIAN, H. The metabolism of dimethyl sulfoxide and its metabolic effects in man and animals. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.65-76, 1967.
- GOLDMAN, J. A brief resume of clinical observations in the treatment of superficial burns, trigeminal neuralgia, acute bursitis, and acute musculoskeletal trauma with DMSO. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.653-654, 1967.
- GOLDMAN, L.; IGELMAN, J. I.; KITZMILLER, K. Investigative studies with DMSO in dermatology. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, n°1, pg.428-436, 1967.
- GOROG, P.; KOVACS, I. B. Antiarthritic and antithrombotic effects of topically applied dimethyl sulfoxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.243, pg.91-97, 1975.
- GRAHAM, W. P. A comparison of glycerol and dimethyl sulfoxide as cryoprotective agents for an experimental tumor : a pilot study. **Annals of New York Academic Science**, vol.243, pg.317-319, 1975.
- GRANT, B. D. The skeletal system, in **Equine Medicine and Surgery**, 3^aed., vol.2, Santa Barbara, California, American Veterinary Publications, 1029pp, 1982.
- HAMEROFF, S. R.; OTTO, C. W.; KANEL, J.; WEINSTEIN, P. R.; BLITT, C. D. Acute cardiovascular effects of dimethyl sulfoxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.94-99, 1983.
- HILL, P. K.; DE LA TORRE, J. C.; THOMPSON, S. M.; WESSELS, S. R.; BECKETT, M. L. Ultrastructural studies of rat fasciculi gracilis unmyelinated fibers after contusion and DMSO treatment. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.200-217, 1983.
- HOERLEIN, B. F.; REDDING, R. W.; HOFF, E. J., MCGVIRE, J. A. Evaluation of dexamethasone, DMSO, mannitol and solcoseryl in acute spinal cord trauma. **J. Amer. An. Hosp. Association**, vol. 19, pg.216-226.
- HULET, C. V. & ERCANBRACK, S. A fertility index for rams. **Journal of Animal Science**, Champagne, vol.21, pg.489, 1962.
- JACOB, S. W.; HERSCHLER, R. Introductory remarks : dimethyl sulfoxide after twenty years. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.xiii-xvii, 1986.
- JAMES, H. E.; CORNELL, W.; DEL BIGIO, M.; WERNER, R. Dimethyl sulfoxide in brain edema and intracranial pressure. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.253-260, 1983.
- JIMENEZ, R. H.; WILKENS, R. F. Dimethyl sulfoxide : a perspective of its uses in rheumatic disease. **Journal of Laboratory Clinical Medicine**, vol.100, pg.489-500, 1982.

- JOBIM, M. I. M.; OBGERST, E. A.; WALD, V. B. Biometria testicular em ovinos de raças de corte. 1. Reprodutores racionados. **Revista Bras. Reprod. Anim.**, vol.13, pg.4, 1990.
- JOHN, H.; LAUDAHN, G. Clinical experiences with the topical applications of DMSO in orthopedic diseases : evaluation of 4180 cases. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.506-516, 1967.
- KEDAR, I.; JACOB, E. T.; BAR-NATAN, N.; RAVID, M. Dimethyl sulfoxide in acute ischemia of the kidney. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.131-134, 1983.
- KHARASCH, N.; THYAGARAJAN, B. S. Structural basis for biological activities of dimethyl sulfoxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.391-402, 1983.
- KLEBERGER, K. E. An ophthalmological evaluation of DMSO. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.381-385, 1967.
- KLIGMAN, A. M. Topical pharmacology and toxicology of clinethyl sulfoxide (DMSO). **Journal of American Medical Association**, vol.193, pg.140-148, 1965a.
- KLIGMAN, A. M. Topical pharmacology and toxicology of dimethyl sulfoxide (DMSO). **Journal of American Medical Association**, vol.193, pg.151-156, 1965b.
- KNOWLLES, R. P. Clinical experiences with DMSO in small animal practice. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.478-483, 1967.
- KOCSIS, J. J.; HARKAWAY, S.; VOGEL, W. H. Dimethyl sulfoxide : breakdown of the blood-brain barrier. **Science**, vol.160, pg.1472-1473, 1968.
- KOLB, K. H.; JALNICKE, G.; KRAMER, M.; SHULZE, P. E. Absorption, distribution and elimination of labelled dimethyl sulfoxide in man and animals. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, nº1, pg.85-95, 1967.
- KUTSHER, A. H.; ZEGARELLI, E. V.; EVERETT, F. DMSO in stomatologic research. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.465-470, 1967.
- LEE, S. W. DMSO in treatment of intervertebral disk syndrome in dogs. **Veterinary Medicine/Small animal clinician**, Lenexa, v.78, pg.520, 1983.
- LEY, W. B.; BOWRN, J. M.; SPONENBERG, D. P. and LESSARD, P. N. Dimethyl sulfoxide intrauterine therapy in the mare : effects upon endometrial histological features and biopsy classifications. **Theriogenology**, vol.32, pg.263-276, 1989.

- LEY, W. B.; OCHS, D. L.; METCALF, E. S.; PYLE, N.; PURSWELL, B. J. and BOWEN, J. M. Dimethyl sulfoxide intrauterine therapy in the mare : effect upon uterine-derived neutrophil function. **Theriogenology**, vol.33, n°6, pg.1177-1189, 1990.
- LORING, J. A.; BRINLEY MORGON, W. J. and WAGNER, W. C. **Fertility and infertility in veterinary practice**. 4ª edição, ed. Baillière Tindall, 1988.
- LOVELOCK, J. E. BISHOP, M. W. H. Prevention of freezing damage to cells by dimethyl sulfoxide. **Nature**, v.183, pg.1394-1395, 1959.
- MACGRAW, C. P. Treatment of cerebral infarction with dimethyl sulfoxide in the mongolian gerbil. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.273-285, 1983.
- MAIBACH, H. I.; FELDMAN, R. J. The effect of DMSO on percutaneous penetration of hydrocortizone and testosterone in man. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.471-477.
- MALLACH, H. J. Interaction of DMSO and alcohol. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.471-477, 1967.
- MATSUMOTO, J. Clinical trials of dimethyl sulfoxide in rheumatoid arthritis patients in Japan. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.560-568, 1967.
- MAYER, J. H.; ANIDO, H.; ALMOND, C. H.; SEABER, A. Dimethyl sulfoxide in the prevention intestinal adhesions. **Archives Surgery**, vol.91, pg.920-923, 1965.
- MAYHEW, I. G.; MACKAY, R. J. Neurologic disease. In **Equine Medicine and Surgery**, 3ªed., vol.2, American Veterinary Publications, Santa Barbara, 1209pp, 1982.
- MACDONALD, L. E. and PINEDA, M. H. **Veterinary endocrinology and reproduction**, 4ª edição, ed. Lea & Febiger, 1989.
- MIES FILHO, A. **Inseminação artificial**. 2º volume, 6ª edição, ed. Sulina, 1987.
- MISCH, D. W.; MISCH, M. S.; The effects of dimethyl sulfoxide on a lysosomal membrane. **Annals of New York Academic Science**, vol.243, pg.54-59, 1975.
- MONDER, C. Discussion : effects of DMSO on enzyme activity. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.300-301, 1967.
- MORAIS, J. C. F.; SILVA, J. F. & SCHUCH, L. H. Influência do macho na fertilização do rebanho ovino inseminado artificialmente no RS. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, vol.1, pg.31-38-1976.
- MORROW, D. A. Breeding soundness in rams. in **Current Therapy in Theriogenology II**, Philadelphia, ed. W. B. SAUNDERS, 1986.

- PACE, D. G.; KOVACS, J. L.; KLEVANS, L. R. Dimethyl sulfoxide inhibits platelet aggregation in partially obstructed coronary vessels. *Annals of New York Academic Science*, vol.411, pg.352-356, 1983.
- PAUL, M. M. Interval therapy with dimethyl sulfoxide. *Annals of New York Academic Science*, vol.143, pg.586-598, 1967.
- PERLMAN, R. L. WOLFF, J. Dimethyl sulfoxide : an inhibitor of liver alcohol dehydrogenase. *Science*, vol.160, pg.317-319, 1968.
- PERSKI, L.; STEWART, B. H. The use of dimethyl sulfoxide in the treatment of genitourinary disorders. *Annals of New York Academic Science*, vol.141, pg.551-554, 1967.
- PESTRONK, A.; DRACHMAN, D. B. Dimethyl sulfoxide reduces antibody titers in experimental myasthenia gravis. *Nature*, vol, 193, pg.548-550, 1980.
- PETERSON, C. G.; ROBERTSON, R. G. A pharmacodynamic study of dimethyl sulfoxide. *Annals of New York Academic Science*, vol.141, pg.273-276, 1967.
- PORTERFIELD, J. S.; ASHWOOD-SMITH, M. J. Preservation of cells in tissue culture by glycerol and dimethyl sulfoxide. *Nature*, vol.193, pg.548-550, 1962.
- POTTS, G. E.; RAMPEY, J. H.; BENJAMIN, F. The effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on antibiotic sensitivity of a groups of medically important microorganisms : preliminary report. *Annals of New York Academic Science*, vol.141, pg.261-272, 1967.
- PROCEDIMENTOS PARA EXAME ANDROLÓGICO E AVALIAÇÃO DO SÊMEN ANIMAL.** Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA), Belo Horizonte, 1992.
- RAMMLER, D. H.; ZAFFARONI, A. Biological implications of DMSO based on a review of its chemical properties. *Annals of New York Academic Science*, vol.141, pg.13-23, 1967.
- RAVID, M.; VANDICK, D.; BERNHEIM, J.; KEDAR, I. The protective effect of dimethyl sulfoxide in experimental ischemia of the intestine. *Annals of New York Academic Science*, vol.411, pg.100-104, 1983.
- REED, S. M. Head trauma. In *Current Therapy in Equine Medicine*, Philadelphia, W. B. SAUNDERS, 342pp, 1983.
- ROSENBLUM, W. Dimethyl sulfoxide effects on platelet aggregation and vascular reactivity in pial microcirculation. *Annals of New York Academic Science*, vol.411, pg.110-119, 1983.
- RUBIN, L. F. Toxicity of dimethyl sulfoxide, alone and in combination. *Annals of New York Academic Science*, vol.243, pg.98-103, 1975.

- RUBIN, L. F.; BARNETT, K. C. Ocular effects of oral and dermal applications of dimethyl sulfoxide in animals. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.333-345, 1967.
- RUBIN, L. Toxicity of dimethyl sulfoxide, alone and in combination. **Annals of New York Academic Science**, vol.243, pg.98, 1983.
- SAMS, W. M. Jr. The effects of dimethyl sulfoxide on nerve conduction. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.242-247, 1967.
- SCHIFFER, C. A.; AISNER, J.; DUTCHER, J. P. Platelet cryopreservation using dimethyl sulfoxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.161-169, 1983.
- SCHUCH, J.; ROSS, C. and MESCHTER, C. Concurrent mercuric blister and dimethyl sulfoxide (DMSO) application as a cause of mercury toxicity in two horses. **Equine Vet Journal**, vol.20, pg.68, 1988.
- SCHWARTZ, I. V.; FERRARI, M. V.; TAHIRA, J. K. e MAZZAROLO, A. L. Peso corporal, circunferência escrotal e características do sêmen em carneiros Hampshire Down de oito meses de idade, criados no sul do Paraná, **Anais do XXII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, (353), 1992.
- SEHTMAN, L. Dimethyl sulfoxide therapy in various dermatologic disorders. **Annals of New York Academic Science**, vol.243, pg.395-402, 1975.
- SEIBERT, F. B.; FARRELY, F. K.; SHEPHERD, C. C. DMSO and other combatants against bacteria isolated from leukemia and cancer patients. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, nº1, pg.175-201, 1967.
- SEMRAD, S. Comparison of flunixin, prednisolone, dimethyl sulfoxide, and a lazaroid (U74389F) for treating endotoxemic neonatal calves. **American Journal of Veterinary Research**, vol.54, pg.1517, 1993.
- SHLAFER, M. Cardiac pharmacology of dimethyl sulfoxide and its postulated relevance to organ preservation in ischemic or hypoxic states. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.170-179, 1983.
- SMITH, E. R.; HADIDIAN, Z.; MASON, M. M. The single and repeated dose toxicity of dimethyl sulfoxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.96-109, 1967.
- SMITH, E. R.; MASON, M. M.; EPSTEIN, E. The influence of dimethyl sulfoxide on the dog with emphasis on the ophthalmologic evaluation. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.386-391, 1967.
- SPEEDY, A. W. **Progress in sheep and goat research**. 1ª edição, ed. C.A.B. International, 1992.

- STEINBERG, A. Employment of dimethyl sulfoxide as an antiinflammatory agent and steroid transporter in diversified clinical diseases. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.532-550, 1967.
- SULZBERGER, M. B.; CORTESE, T. A.; FISHMA, L.; WILEY, H. S.; PEYAKOVITCH, P. S. Some effects of DMSO on human skin in vivo. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.417-450, 1967.
- TERVILL, H. R.; GOOLD, P. G. Deep freezing sheep embryos. **Theriogenology**, vol.21(1), pg.268, Abstract, 1984.
- TIEGLAND, M. B. Clinical evaluation of dimethyl sulfoxide in equine application. **Annals of New York Academic Science**, vol.141, pg.471-477, 1967.
- VALE FILHO, V. R. Padrões de sêmen para o Brasil. Análise e sugestões. **8º Congresso Brasileiro de Reprodução Animal - Palestras** : 94-118, 1989.
- VAN RIJSWIJK, M. H. Dimethyl sulfoxide. **Lancet**, vol.41, pg.41.
- WALLER, F.T.; TANABE, C. T.; PAXTON, H. D. Treatment of elevated intracranial pressure with dimethyl sulfoxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.411, pg.286-292, 1983.
- WOOD, D. C.; WOOD, J. Pharmacologic an biochemical considerations of dimethyl sulfoxide. **Annals of New York Academic Science**, vol.243, pg.7-19, 1975.
- WOOLEY, R. E.; GILBERT, J. P.; SHOTTS, E. B. Antibacterial action of combinations of oxytetracycline, dimethyl sulfoxide and EDTA - tromethamine Proteus, Salmonella and Aeromonas. **American Journal of Veterinary Research**, vol.43, pg.130-133.
- YELLOWLEES, P.; GREENFIELD, C.; MCINTYRE, N. Dimethyl sulfoxide induced toxicity. **Lancet**, vol.2, nº8207, pg.1044-1046, 1980.
- ZIMMERMAN, S. J.; MAUDE, M. B.; MOLDAUER, M. Freezing and storage of human semen in 50 healthy medical students. **Fert. & Steril.**, vol.15, pg.505-510, 1964.