

AVALIAÇÃO DO CORTISOL AGUDO E CRÔNICO EM BOVINOS SUBMETIDOS A DIFERENTES TÉCNICAS DE ESTERILIZAÇÃO

MIGUEL SOUZA¹; FERNANDO OLIVEIRA²; CARLOS RANQUETAT FERREIRA³;
CRISTINA SANGOI⁴; BERNARDO GARZIERA GASPERIN⁵; THOMAZ LUCIA Jr.⁶

¹Faculdade de Veterinária- UFPEL - miguel_souza__@hotmail.com

²PPG-Veterinária- UFPEL - fcoliveiravet@gmail.com

³PPG-Veterinária- UFPEL - cristinasangoi@gmail.com

⁴PPG- Veterinária- UFPEL - c_ranquetat@gmail.com

⁵Faculdade de Veterinária - UFPEL - bggasperin@gmail.com

⁶Faculdade de Veterinária- UFPEL - tluciajr@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A castração é uma prática usada nos sistemas de pecuária de corte, onde o sistema produtivo extensivo é utilizado. A esterilização de machos bovinos agrega vantagens de manejo, onde os animais ficam mais dóceis e, na carcaça, melhorando características organolépticas (CLIMACO et al., 2008). Existem vários métodos de esterilização em bovinos, que consistem em abolir as funções reprodutivas, sendo o mais utilizado pela via cirúrgica. A orquiectomia se mostra como um método eficaz e prático, porém com algumas desvantagens como mão-de-obra especializada, ocorrência de miíases, estresse pós-cirúrgico, hemorragias e infecções secundárias (STARFFORD et al., 2002).

A castração por burdizzo, consiste na interrupção do aporte sanguíneo para as gônadas levando a inativação das funções. É eficiente, previne a ocorrência de infecções secundárias, porém há relatos de um estímulo doloroso acentuado de forma crônica, afetando seu bem estar (KING et al., 1991). Outra forma de esterilização é a imunocastração, feita com vacinas anti-GnRH, porém seus efeitos são reversíveis.

Uma alternativa a estes métodos é a castração química, através da injeção intratesticular (IIT) de substâncias não tóxicas. Consiste na aplicação diretamente no parênquima testicular, levando a uma lesão irreparável, e a perda permanente da função. Várias substâncias já foram testadas em bovinos, como o cloreto de cálcio (KOGER, 1978), ácido láctico (COHEN et al., 1990) e gluconato de zinco (OLIVEIRA et al., 2011), assim como cloreto de cálcio em bubalinos (MARTINS, 2011). A IIT de uma solução hipertônica de NaCl (20% de NaCl) associada a um anestésico local (2% de lidocaína) já se mostrou eficiente em machos bovinos com até 20 dias de vida (ANDRADE et al. 2014), porém sem conhecimento de seu impacto sobre parâmetros de bem estar animal.

Para avaliação do desconforto ocasionado pelos métodos de castração, considera-se o nível de cortisol como um indicador do estresse, este aumentando com o decorrer do processo. Contudo a amplitude, duração e intensidade dos níveis de cortisol na circulação podem variar de acordo com o impacto do método utilizado. Com isso, esse estudo tem como objetivo avaliar os níveis de cortisol agudo e crônico gerado por diferentes métodos de esterilização em machos bovinos com até 20 dias de idade.

2. METODOLOGIA

Este estudo possui parecer favorável pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA-UFPEL). Foram utilizados 27 bezerros, com idade entre 4 e 20 dias de vida e peso vivo médio de 36 kg. Os animais foram mantidos com as mães em piquete com pastagem melhorada de azevém com acesso a água *ad libitum*. Para rápida identificação dos grupos, os animais foram identificados individualmente com

colares numerados e marcação com tinta. Os animais foram aleatoriamente distribuídos em três grupos homogêneos ($n=9$): controle não castrado (CON); castração cirúrgica (CC) e castração química (CQ). Os animais dos três grupos foram submetidos às mesmas condições de manuseio e contenção.

Castração cirúrgica: inicialmente procedeu-se a antisepsia do escroto realizada com solução de iodo-etanol (tintura de iodo 2%, Rioquimica) e 2% de clorexidina (solução de Digliconato de Clorexidina Degermante 2%, Rioquimica). A orquiectomia foi realizada sob anestesia local, conforme técnica convencional, com a incisão da bolsa escrotal seguido da exteriorização e extirpação dos testículos após a secção do cordão espermático. Para castração química, a solução para IIT foi preparada com cloreto de sódio (Synth) e lidocaína (Mase) em água para injeção nas concentrações de 20% e 2%, respectivamente. A solução foi esterilizada por filtração e acondicionada em frascos estéreis, mantidos sob refrigeração. No momento do uso, após a antisepsia do saco escrotal, procedeu-se a fixação individual de cada testículo para introdução de uma agulha 21G1½ a partir de sua extremidade distal. Foi injetado um volume suficiente para ingurgitar a gônada até a obtenção de um tônus firme (1,5-4ml).

Os animais foram submetidos a coletas de sangue, no D0 (momento do procedimento), 30 e 60 min após o procedimento para avaliação de marcadores de desconforto agudo. Amostras também foram coletadas no D1, D2, D3 e D4 para a quantificação de marcadores de desconforto crônicos. Para as coletas de sangue, foi realizada a antisepsia, semelhante à descrita anteriormente para a região escrotal, porém no terço médio do pescoço. A coleta foi realizada por punção da veia jugular com o auxílio do sistema de coleta a vácuo BD Vacutainer®, com agulha 21G, em tubos estéreis sem anticoagulante de 10 ml. As amostras de sangue foram centrifugadas a 6000 rpm, durante 10 min. Alíquotas de soro de cada animal foram armazenadas em nitrogênio líquido (-196°C). A quantificação dos níveis séricos de cortisol foi realizada em laboratório comercial com coeficientes de variação intra- e inter-ensaio inferiores a 10%. O efeito dos tratamentos, momento e interação sobre os níveis de cortisol foi avaliado por análise de variância com medidas repetidas, através do procedimento MIXED (SAS®).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Há dificuldade em avaliar o estresse nos animais mais jovens, em função que não existe valores de referências já publicados, sendo que a maioria dos estudos realizados foram feitos em animais com idade superior a três meses (CURRAH et al., 2009; STEWART et al., 2010). Na avaliação do estresse agudo, os níveis de cortisol diferiram entre os tratamentos, nos momentos 30 e 60. Observou-se apenas um pico aos 30 minutos no grupo CQ. Já no grupo CC, esta elevação se manteve até os 60 minutos (Tabela 1). Constata-se assim, que o grupo CC foi submetido a uma condição estressante mais longa, baseando-se em uma maior amplitude nos níveis de cortisol observados.

Alguns dos manejos realizados, mesmo quando isolados, já podem ser potenciais fatores para gerar ansiedade e desconforto para o animal, como a contenção, imobilização e a coleta de sangue (STEWART, 2005), interferindo nos resultados. Uma vez que os níveis de cortisol não foram alterados no grupo controle, pode-se concluir que o manejo de contenção e coleta não foi um fator estressante.

Tabela 1: Níveis séricos de cortisol (ug/dl) em machos bovinos com idade entre 4 e 20 dias de idade submetidos a castração por diferentes métodos em distintos períodos com relação a execução dos procedimentos.

Método	Período (min)			
	N	0	30	60
Controle - CON	8	1,4 ± 0,2 ^a	1,5 ± 0,2 ^a	1,2 ± 0,1 ^a
Cirúrgico - CC	7	0,9 ± 0,1 ^a	1,6 ± 0,2 ^b	1,4 ± 0,2 ^b
Química - CQ	9	1,4 ± 0,2 ^a	1,8 ± 0,2 ^b	1,3 ± 0,2 ^a

Letras distintas indicam diferença estatística na linha ($p \leq 0,05$)

Resultados preliminares do nosso grupo demonstraram que a IIT com NaCl a 20% é eficiente em terneiros com até 20 dias de idade (ANDRADE, 2014), não sendo observada uma resposta inflamatória relevante. Alternativas menos invasivas e cruentas podem possibilitar melhores ganhos de peso inicial para a espécie (BRETSCHNEIDER, 2005). Quanto mais avançada à idade dos animais, espera-se uma maior resposta inflamatória e dolorosa, independente do método, devido ao maior tamanho dos testículos no momento da castração (MELLOR et al., 1991).

Quanto ao cortisol crônico, não se observou diferença entre os tratamentos e interação tratamento*momento. Porem, existe uma tendência para diferenças no momento ($p=0,06$) (Figura 1).

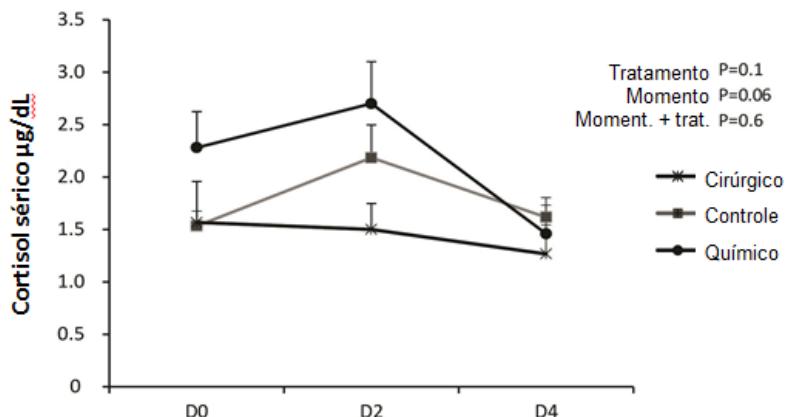


Figura 1: Níveis de cortisol sérico em bezerros com idade entre 4 e 20 dias ($n = 27$), submetidos à castração cirúrgica (CC), castração química (CQ) ou não castrados (CON).

Em todos os tratamentos os níveis séricos de cortisol foram considerados basais para a espécie bovina no dia 4 após procedimento (SPORER, 2008). SPORER et al. (2008) trabalhando com novilhas submetidas a longos períodos de transporte, observaram valores elevados de cortisol até 48 horas após, assim como outros indicadores de estresse como proteínas de fase aguda, hormônio estrogênicos e indicadores metabólicos.

Desta forma a castração química por IIT de NaCl, pode ser utilizada com o intuito de evitar complicações pós-operatórias como, miíase, infecções microbianas e parasitárias no local do procedimento. Além disso, o NaCl é um composto atóxico, com baixo custo e de fácil aquisição, manipulação e armazenamento.

4. CONCLUSÕES

Os métodos de esterilização testados modularam a resposta do cortisol de forma aguda. A castração química de IIT com NaCl e lidocaína, desencadeou uma menor secreção de cortisol em comparação ao método cirúrgico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CLIMACO, S.M., RIBEIRO, E.L.A., MIZUBUTI, I.Y., ROCHA, M.A., SILVA, L.D.D.F., PEREIRA, E.S. Desempenho e características de carcaça de bovinos de corte inteiros ou castrados e suplementados ou não durante o inverno. *Acta Scientiarum Animal Sciences* 28, 209-214. 2008.
- STAFFORD, K.J., MELLOR, D.J., TODD, S.E., BRUCE, R.A., WARD, R.N. Effects of local anaesthesia or local anaesthesia plus a non-steroidal anti-inflammatory drug on the acute cortisol response of calves to five different methods of castration. *Research in Veterinary Science* 73, 61-70. 2002
- KING, B., COHEN, R., GUENTHER, C., JANZEN, E. The effect of age and method of castration on plasma cortisol in beef calves. *Canadian Journal of Animal Science* 71, 257-263. 1991.
- KOGER, L., Calcium chloride castration. *Modern Veterinary Practice* 59, 119-121. 1978.
- COHEN, R., KING, B., THOMAS, L., JANZEN, E. Efficacy and stress of chemical versus surgical castration of cattle. *Canadian Journal of Animal Science* 70, 1063-1072. 1990.
- OLIVEIRA, E., SILVA, F., MULLER, P., BRITO, L., FAGUNDES, A., SÁ, M., MELO, C., SILVA JUNIOR, V. Castração química de caninos e felinos por meio de injeção intratesticular de gluconato de zinco - quebrando paradigmas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 35, 262-265. 2011.
- MARTINS, L.T., GONÇALVES, M.C., TAVARES, K.C.S., GAUDÊNCIO, S., SANTOS NETO, P.C., DIAS, A.L.G., GAVA, A., SAITO, M.E., OLIVEIRA, C.A., MEZZALIRA, A., VIEIRA, A.D. Castration methods do not affect weight gain and have diverse impacts on the welfare of water buffalo males. *Livestock Science* 140, 171-176. 2011.
- ANDRADE NETO, O., GASPERIN, B.G., ROVANI, M.T., ILHA, G.F., NÓBREGA JR, J.E., MONDADORI, R.G., GONÇALVES, P.B.D., ANTONIAZZI, A.Q., Intratesticular hypertonic sodium chloride solution treatment as a method of chemical castration in cattle. *Theriogenology* 82, 1007-1011. 2014.
- MELLOR, D.J., MOLONY, V., ROBERTSON, I.S., Effects of castration on behaviour and plasma cortisol concentrations in young lambs, kids and calves. *Research in Veterinary Science* 51, 149-154. 1991.
- K. R. BUCKHAM SPORER, P. S. D. WEBER, J. L. BURTON, B. EARLEY and M. A. CROWE. Transportation of young beef bulls alters circulating physiological parameters that may be effective biomarkers of stress. *Journal Animal Science*. Vol. 86 No. 6, p. 1325-1334. 2008.
- CURRAH, J.M., HENDRICK, S.H., STOOKEY, J.M. The behavioral assessment and alleviation of pain associated with castration in beef calves treated with flunixin meglumine and caudal lidocaine epidural anesthesia with epinephrine. *The Canadian Veterinary Journal* 50, 375-382. 2009.
- STEWART, M., VERKERK, G.A., STAFFORD, K.J., SCHAEFER, A.L., WEBSTER, J.R. Noninvasive assessment of autonomic activity for evaluation of pain in calves, using surgical castration as a model. *Journal of Dairy Science* 93, 3602-3609. 2010.
- BRETSCHNEIDER, G., Effects of age and method of castration on performance and stress response of beef male cattle: a review. *Livestock Production Science* 97, 89-100. 2005.