

Bloqueios anestésicos reduzem o estresse e elevam a qualidade do sêmen de machos caprinos coletados por eletroejaculação

Leonardo de Almeida Gélio¹, Mariana Karla Francolino da Silva², Eunice Oba³, Douglas Anderson de Freitas⁴, André Maciel Crespilho^{1,5}

¹Universidade Santo Amaro (UNISA), São Paulo/SP; ²Departamento de Reprodução Animal, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo/SP; ³Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), Botucatu/SP, Brasil; ⁴Comprov Diagnóstico Veterinário®, Valinhos/SP;

⁵Central Bela Vista, Botucatu/SP

E-mail: andre.crespilho@centralbelavista.com.br

A eletroejaculação (EE) representa um método de coleta de sêmen empregado tanto em espécies domésticas quanto selvagens. Caracterizada por sua praticidade, a técnica permite a obtenção do sêmen de animais sem que haja a necessidade de prévia excitação, descartando a necessidade do uso de manequins ou fêmeas em estro. Além disso, pode substituir o uso da vagina artificial para animais não treinados ou com baixa libido. No entanto, sua metodologia baseada na estimulação elétrica da inervação envolvida no processo ejaculatorio pode induzir reações indesejáveis nos animais submetidos a EE, sendo considerada dolorosa e estressante por muitos autores. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação prévia de diferentes bloqueios anestésicos locais, através de dois acessos diferentes, para a redução dos efeitos adversos provocados pela EE em machos caprinos. Para isso, foram utilizados 6 caprinos machos da raça Anglo-Nubiana, hígidos, sem histórico de doenças anteriores, com idade média de 5 anos e pesando entre 30 e 63kg. Todos os animais foram submetidos semanalmente a 5 diferentes tratamentos, sendo **T1 - Controle:** coleta de sêmen por EE sem o uso de bloqueios anestésicos; **T2 - Bloqueio da inervação hipogástrica** por acesso ventral utilizando 2,5 mg/kg de lidocaína 2% (Lidovet®, Bravet, Rio de Janeiro, Brazil); **T3 - Bloqueio por acesso ventral** utilizando 2,5 mg/kg de lidocaína 2% e 800mcg/kg de citrato de fentanila (Hipopar, Minas Gerais, Brazil); **T4 – Bloqueio por acesso perineal** utilizando lidocaína e **T5 – Bloqueio por acesso perineal** utilizando lidocaína e citrato de fentanila. Os animais foram submetidos às coletas de sêmen 15 minutos após a aplicação dos bloqueios e cada tratamento foi repetido por 3 vezes. O estresse provocado pela EE foi avaliado através da aferição de pressão arterial média, sistólica e diastólica, frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR) nos momentos pré e pós-EE. Além disso, foram avaliadas a ocorrência de decúbito e ataxia e o número de vocalizações durante as coletas. Adicionalmente, amostras de sangue foram coletadas para mensuração da concentração sérica de cortisol (radioimunoensaio, Bechman Coulter, Indianapolis, USA) e creatina fosfoquinase (CK; Laborlab® CK NAC, Guarulhos, Brazil). O sêmen obtido através da EE foi avaliado quanto ao volume, cinética e concentração espermática. Os dados gerados foram submetidos à análise de variância (Proc GLM®, SAS, Cary, USA), sendo considerado o efeito isolado dos diferentes tratamentos, o efeito independente do tratamento (animais tratados vs. controle) e o efeito do citrato de fentanila sobre as variáveis estudadas. Foi necessário maior número de estímulos elétricos para resultar na ejaculação quando o bloqueio anestésico foi empregado ($24,29 \pm 9,73^a$) em comparação ao controle ($T1 = 18,63 \pm 4,32^b$; $P < 0,0001$). Da mesma forma, embora os níveis séricos de CK pós-EE não tenham variado entre os diferentes tratamentos ($P = 0,0785$), o uso do bloqueio anestésico (independente do tratamento) resultou em maior concentração de CK ($P = 0,0501$) pós-EE ($149,40 \pm 83,08^a$) quando comparados ao controle ($112,10 \pm 47,35^b$). Os tratamentos que utilizaram apenas lidocaína no bloqueio ventral ($T2 + T4$) apresentaram maior FR pós-EE ($39,75 \pm 12,81^a$) quando comparados ao controle ($T1 = 32,37 \pm 4,09^b$) ou aos tratamentos que utilizaram fentanila no protocolo anestésico ($T3 + T5; 33,27 \pm 5,09^b; P = 0,0119$). Menores concentrações séricas de cortisol foram mensuradas para os tratamentos que utilizaram fentanila ($T3 + T5; 19,58 \pm 9,57^b$) em comparação aos que utilizaram lidocaína exclusivamente ($T2 + T4; 28,10 \pm 13,04^a$) ou ao controle ($T1; 25,50 \pm 5,48^a; P = 0,0007$). Não foram observadas diferenças para motilidade total ($P = 0,6446$), vigor ($P = 0,7187$) e volume dos ejaculados ($P = 0,0969$) quando comparados os diferentes tratamentos. No entanto, maior concentração de espermatozoides foi mensurada para ejaculados obtidos quando a associação de lidocaína e fentalina foi empregada ($T3 + T5; 3923,1 \pm 2234,7^a \times 10^6$ espermatozoides) em comparação ao controle ($T1; 2192,3 \pm 1250,6^b \times 10^6$) ou a lidocaína de forma isolada ($T2 + T4; 2365,4 \pm 1552,8^b \times 10^6$). Conclui-se que a utilização de citrato de fentanila nos bloqueios anestésicos pré-eletroejaculação representa uma alternativa para redução do estresse causado pela EE e para promoção da qualidade dos ejaculados no que diz respeito a concentração espermática. Novos protocolos devem ser estudados para o controle do estresse sem que haja a elevação da quantidade de estímulos elétricos necessários para a ocorrência da ejaculação.

Palavras-chave: dor, concentração espermática, estimulação elétrica, fentanil, lidocaína.

Anesthetic blocks reduce stress and increase the quality of semen from male goats collected by electroejaculation

Leonardo de Almeida Gélio¹, Mariana Karla Francolino da Silva², Eunice Oba³, Douglas Anderson de Freitas⁴, André Maciel Crespilho^{1,5}

¹Universidade Santo Amaro (UNISA), São Paulo/SP; ²Departamento de Reprodução Animal, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo/SP; ³Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), Botucatu/SP, Brasil; ⁴Comprov Diagnóstico Veterinário®, Valinhos/SP; ⁵Central Bela Vista, Botucatu/SP.
E-mail: andre.crespilho@centralbelavista.com.br

Electroejaculation (EE) is a semen collection method used in both domestic and wild species. The technique allows obtaining semen from animals without the need for prior excitement, eliminating the need for the use of females in estrus. Furthermore, it can replace the use of an artificial vagina for untrained animals or those with low libido. However, its methodology based on electrical stimulation of the innervation involved in the ejaculatory process can induce undesirable reactions in animals undergoing EE, being considered painful and stressful by many authors. The aim of this study was to evaluate the effect of the prior application of different local anesthetic blocks, through two different accesses, for the reduction of adverse effects caused by EE in male goats. For this purpose, 6 healthy male Anglo-Nubian goats, with no history of previous diseases, with an average age of 5 years and weighing between 30 and 63kg, were used. All animals were subjected weekly to 5 different treatments: T1 - Control: semen collection by EE without the use of anesthetic blocks; T2 - Blockage of the hypogastric innervation by ventral access using 2.5 mg/kg of 2% lidocaine (Lidovet®, Bravet, Rio de Janeiro, Brazil); T3 - Blockage by ventral access using 2.5 mg/kg of 2% lidocaine plus 800mcg/kg of fentanyl citrate (Hipolabor, Minas Gerais, Brazil); T4 - Blockage by perineal access using lidocaine; and T5 - Blockage by perineal access using lidocaine and fentanyl citrate. The animals underwent semen collection by EE 15 minutes after the application of the anesthesia, and each treatment was repeated 3 times. The stress induced by EE was assessed by measuring mean, systolic and diastolic blood pressure, heart rate (HR), and respiratory rate (RR) before and after EE. Additionally, the occurrence of recumbency and ataxia, as well as the number of vocalizations during collections, were evaluated. Furthermore, blood samples were collected to measure serum cortisol concentration (radioimmunoassay, Beckman Coulter, Indianapolis, USA) and creatine kinase (CK; Laborlab® CK NAC, Guarulhos, Brazil). The semen obtained through EE was evaluated for volume, kinetics and sperm concentration. The data generated were subjected to analysis of variance (Proc GLM®, SAS, Cary, USA), considering the isolated effect of the different treatments, the effect independent of the treatment (treated animals vs. control), and the effect of fentanyl citrate on the studied variables. A greater number of electrical stimuli were required to result in ejaculation when the anesthetic blockade was employed (24.29 ± 9.73^a) compared to the control ($T1 = 18.63 \pm 4.32^b$; $P < 0.0001$). Similarly, although post-EE serum CK levels did not vary among the different treatments ($P = 0.0785$), the use of anesthetic blockade (regardless of treatment) resulted in higher CK concentration ($P = 0.0501$) post-EE (149.40 ± 83.08^a) compared to the control (112.10 ± 47.35^b). Treatments using only lidocaine in the ventral blockade (T2 + T4) showed higher RR post-EE (39.75 ± 12.81^a) compared to the control ($T1 = 32.37 \pm 4.09^b$) or treatments using fentanyl in the anesthetic protocol (T3 + T5, 33.27 ± 5.09^b ; $P = 0.0119$). Lower serum cortisol concentrations were measured for treatments using fentanyl (T3 + T5 = 19.58 ± 9.57^b) compared to those using lidocaine exclusively (T2 + T4 = 28.10 ± 13.04^a) or the control ($T1 = 25.50 \pm 5.48^a$; $P = 0.0007$). No differences were observed for total motility ($P = 0.6446$), vigor ($P = 0.7187$), and ejaculate volume ($P = 0.0969$) when comparing the different treatments. However, a higher sperm concentration was measured in ejaculates obtained when the combination of lidocaine and fentanyl was employed (T3 + T5 = $3923.1 \pm 2234.7^a \times 106$ spermatozoa) compared to the control ($T1 = 2192.3 \pm 1250.6^b \times 106$) or lidocaine alone (T2 + T4 = $2365.4 \pm 1552.8^b \times 106$). It is concluded that the use of fentanyl citrate in pre-electroejaculation anesthetic blocks represents an alternative for reducing the stress caused by EE and for promoting the quality of ejaculates in terms of sperm concentration. New protocols should be studied for stress control without an increase in the number of electrical stimuli required for ejaculation to occur.

Keywords: pain, sperm concentration, electrical stimulation, fentanyl, lidocaine.