



## **Castração química de caninos e felinos por meio de injeção intratesticular de gluconato de zinco - Quebrando paradigmas**

*Chemical sterilization of dogs and cats using an intratesticular injection of a zinc gluconate solution - Changing paradigms*

**E.C.S. Oliveira<sup>1,4</sup>, F.L.M. Silva<sup>1</sup>, P.M. Muller<sup>1</sup>, L.T. Brito<sup>1</sup>, A.K.F. Fagundes<sup>2</sup>, M.J.C. Sá<sup>3</sup>, C.C.S.Melo<sup>1</sup>, V.A. Silva Junior<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária, UFRPE, Recife, PE, Brasil;

<sup>2</sup>Centro de Saúde e Tecnologia Rural, UFGC, Patos, PB, Brasil;

<sup>3</sup>Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE, Recife, PE, Brasil.

<sup>4</sup>Autor para correspondência: [ecso21@uol.com.br](mailto:ecso21@uol.com.br)

### **Resumo**

Muitas pesquisas têm sido realizadas na tentativa de tornar os métodos de esterilização mais acessíveis para a população, a fim de reduzir o número de cães e gatos que sofrem eutanásia todos os anos. Observa-se que a preocupação principal está relacionada ao controle da fêmea, e pouco se tem estudado quanto à esterilização do macho. A castração do macho é importante não apenas para o controle de coberturas indesejadas, mas também para a diminuição do comportamento característico, como monta, demarcação pela urina e agressividade. O bloqueio reprodutivo no macho pode ser obtido por meio de intervenção cirúrgica (orquiectomia, vasectomia), terapia medicamentosa ou da utilização de agentes esclerosantes no testículo ou epidídimo. O presente trabalho tem como objetivo abordar a técnica da esterilização química por meio da injeção intratesticular de gluconato de zinco no controle da fertilidade do macho das espécies canina e felina.

**Palavras-chave:** cão, castração química, gato, testículo, zinco.

### **Abstract**

*Many researches have been accomplished in the attempt of turning the methods of sterilization more accessible for population in order to reduce the number of dogs and cats that suffer euthanasia every year. The main concern is related to the control of the female and little one has been studying about contraceptive treatments for males. Sterilization of male dogs is ideal not only for pet population control, but it decreases objectionable behavior including mounting, urine marking and aggressiveness. Reproductive control of male dogs includes surgical procedures (orchiectomy and vasectomy), continuous administration of medication and injections of sclerosing agents into the testis and/or epididymides. The purpose of this work is to review the technique of chemical castration using an intratesticular injection of zinc gluconate for fertility control of the male dog and cat.*

**Keywords:** cat, chemical sterilization, dog, testicle, zinc.

### **Introdução**

Muitas pesquisas têm sido realizadas na tentativa de tornar os métodos de esterilização mais acessíveis para a população, a fim de reduzir o número de cães e gatos que sofrem eutanásia todos os anos, além de ser uma medida complementar para o controle de zoonoses. Observa-se que a preocupação principal está relacionada ao controle da fêmea, e pouco se tem estudado quanto à esterilização do macho. Entretanto, cada macho intacto é um reprodutor em potencial. A esterilização de um grande número de machos contribui para o decréscimo do número de fêmeas gestantes.

Há relatos na literatura da utilização de agentes esclerosantes no testículo, epidídimo e ducto deferente (Pineda et al., 1977; Nishimura et al., 1992; Immegart e Threlfall, 2000). Quando injetados no parênquima testicular, os agentes esclerosantes levam à atrofia testicular e ao decréscimo da espermatogênese, além de promoverem redução da concentração de andrógenos, o que contribui para a diminuição de alterações andrógeno-dependentes, tais como doenças da próstata e alterações de comportamento (demarcação pela urina, monta, agressividade). Acredita-se que a aplicação da droga no testículo leva a uma resposta sistêmica imune devido à ruptura da barreira de células de Sertoli, além de inflamação local com liberação de antígenos testiculares (Johnston et al., 2001; Oliveira et al., 2007). Se estes agentes são injetados no ducto deferente ou epidídimo, observa-se azoospermia pela indução de oclusão fibrosa, contudo a possibilidade do surgimento de alterações andrógeno-dependentes não pode ser descartada (Bloomberg, 1996). Os agentes esclerosantes que têm sido utilizados em machos caninos e felinos incluem glicerol (Immegart e Threlfall, 2000), tanato de zinco, gluconato de zinco (Fahim et al., 1993), clorexidina (Aiudi et al., 2010), dimetil-sulfóxido (Pineda et al., 1977;

Pineda e Doley, 1984), ácido láctico (Nishimura et al., 1992) e cloreto de cálcio (Baran et al., 2010).

As pesquisas que envolvem esterilização química de machos são restritas, e um dos fatores está relacionado aos resultados obtidos com a maioria dos agentes esclerosantes, que não resultam em azoospermia e causam irritação ou ulceração do escroto (Fahim et al., 1993). A esterilização química ideal deve preencher alguns requisitos para ser considerada tão eficaz quanto a esterilização cirúrgica. Inicialmente, ela deve ser eficaz em uma grande porcentagem de animais tratados. Segundo, ela deve ser segura para os animais tratados e para o meio ambiente e, finalmente, deve ser irreversível após um único tratamento. O primeiro produto que preencheu estes requisitos foi o gluconato de zinco (Oliveira et al., 2010).

### O zinco como agente esterilizante

O zinco tem pH neutro e faz parte da composição do plasma seminal e dos tecidos do trato reprodutor masculino. Além disso, o plasma seminal e os tecidos desta região contêm uma concentração de zinco maior que qualquer outro órgão do corpo (Fahim et al., 1993). No sistema imunológico, o zinco desempenha papel fundamental, pelo fato de as células do sistema imune apresentarem altas taxas de proliferação e de este mineral estar envolvido na tradução, no transporte e na replicação do DNA (Blanc et al., 1991). A influência direta do zinco no sistema imune acontece devido ao fato de este elemento estimular a atividade de enzimas envolvidas no processo de mitose, como a DNA e a RNA polimerase, timidina quinase, desoxiribonucleotidil terminaltransferase e ornitina descarboxilase (Delafuente 1991; Sena e Pedrosa, 2005). O zinco pode, ainda, afetar o processo de fagocitose dos macrófagos e neutrófilos e interferir na lise celular mediada por células *natural killer* e na ação citolítica das células T (Blanc et al., 1991).

A exposição à concentração elevada de zinco leva ao aumento dos leucócitos polimorfonucleares, macrófagos e linfócitos estimulados pela presença do mineral (Toxicological..., 2005). Acredita-se que a injeção intratesticular da solução à base de zinco leva a uma alteração semelhante à observada na orquite autoimune, processo inflamatório testicular mediado por formação de anticorpos contra os próprios antígenos testiculares do indivíduo (Mann e Lutwak-Mann, 1981). Oliveira et al. (2007), ao avaliarem o efeito da injeção intratesticular de gluconato de zinco em cães seis meses após o procedimento, observaram, à avaliação histológica e ultraestrutural dos testículos, presença de lesão no epitélio germinativo com conseqüente destruição dos espermatócitos, espermátides e ausência de espermatozóides, o que resultou na esterilidade do animal.

Num experimento realizado por Fahim et al. (1993), no qual foi testada a ação de injeção de gluconato de zinco na cauda do epidídimo de cães adultos, foi observada azoospermia aos 90 dias após o tratamento. À avaliação histológica do epidídimo e dos testículos um ano após o tratamento, os mesmos autores observaram atrofia dos túbulos seminíferos, formação de tecido cicatricial e atrofia da rede testicular, além de enrolamento da cabeça e corpo do epidídimo. Entretanto, a concentração de testosterona plasmática não foi alterada. Wang (2002), avaliando o efeito de injeção intratesticular de gluconato de zinco em cães com idades entre 2½ e 10 meses, observou aspermia, azoospermia ou necrospermia aos 60 dias do início do tratamento em 95% dos animais. O mecanismo de ação da droga foi atribuído ao zinco, que causou atrofia dos túbulos seminíferos com formação de tecido de granulação, o que impediu a migração dos espermatozóides dos túbulos seminíferos para o epidídimo. Posteriormente, foi relatado que a concentração de testosterona plasmática foi reduzida para 41 e 52% nos cães tratados com injeção com zinco, entretanto alguns animais do experimento mantiveram a concentração do andrógeno semelhante à do grupo-controle (Neutersol, 2003; Haper, 2004). Haper (2004) concluiu que o procedimento não deve ser utilizado para correção de alterações andrógeno-dependentes. O Neutersol® foi lançado nos EUA em 2003, ficou indisponível no mercado entre 2005 e 2007 e, em 2008, foi lançado no México com um novo nome (Esterilsol®, Ark Sciences).

Um medicamento, cuja base também é o gluconato de zinco (Infertile®, Rhobifarma), foi lançado recentemente no Brasil. A aplicação dele em cães machos adultos jovens não levou à azoospermia, embora tenha sido observada diminuição da motilidade e da concentração espermática 12 meses após a injeção intratesticular da droga. À avaliação histológica dos testículos, foram observadas degeneração testicular, diminuição do número de células germinativas, atrofia, ruptura da arquitetura dos túbulos seminíferos e perda das células de Sertoli. Quanto à concentração de testosterona, esta não foi avaliada (Soto et al., 2009).

Desde 2003, outro agente esclerosante à base de zinco (Testoblock, BioRelease Technologies, Birmingham, AL, USA) vem sendo estudado para ser utilizado na esterilização de machos caninos por meio de injeção intratesticular. Sua eficácia foi avaliada em animais entre oito meses e 10 anos de idade (Oliveira, 2006; Oliveira et al., 2007). Os resultados encontrados por Oliveira (2006), em estudo realizado por um período de seis meses, indicam que a solução à base de zinco (Testoblock) é eficaz em bloquear a espermatogênese. Observou-se azoospermia aos 60 dias após a injeção de zinco, e o grau de dano celular encontrado à avaliação histológica e ultraestrutural dos testículos sugeriu a irreversibilidade do processo. Em estudo realizado por um período de um ano, Muller et al. (2010) relataram que a azoospermia dos cães observada aos 60 dias foi mantida durante todo o período de monitoramento dos animais, confirmando a irreversibilidade e a eficácia do medicamento em longo prazo.

Quanto à população felina, a avaliação da eficácia da injeção intratesticular de uma solução de

gluconato de zinco em gatos domésticos foi relatada pela primeira vez por Oliveira et al. (2009), que não observaram alterações clínicas dos animais após a injeção de zinco. Posteriormente, Moura et al. (2010) relataram a diminuição da concentração espermática de gatos domésticos já aos 30 dias após a injeção intratesticular de zinco. Estes resultados preliminares encontrados suportam e encorajam a instauração de uma possível alternativa contraceptiva para esta espécie. Pesquisas estão sendo desenvolvidas para a confirmação desta hipótese.

Sobre o mecanismo de ação do zinco quando injetado nos testículos dos animais, acredita-se que este atue na interrupção da espermatogênese de forma direta, por meio da ruptura da barreira de células de Sertoli e aumento da resposta inflamatória local (Oliveira et al., 2007). Supõe-se que, em consequência desta resposta, a espermatogênese seja afetada de maneira irreversível, deixando o animal estéril. Silva et al. (2010a, b) avaliaram o efeito da injeção intratesticular de gluconato de zinco em cães nos primeiros dias subsequentes à injeção, por meio de análise histológica e ultraestrutural. Os achados encontrados por estes autores, associados com os relatados por Oliveira et al. (2007), demonstram que a injeção intratesticular de zinco possui ação mais específica sobre a espermatogênese, seja de forma direta ou por meio do desencadeamento de uma reação inflamatória local e não devido apenas à formação fibrose que impediria a passagem dos espermatozoides dos túbulos seminíferos para o epidídimo, como sugerido por Wang (2002). Entretanto, mais pesquisas são necessárias para o esclarecimento destes achados.

Em trabalhos recentes desenvolvidos pelo grupo de pesquisa do Androlab - DMV/UFRPE utilizando o Testoblock na esterilização química de cães machos, tem sido observado que alguns animais apresentam desconforto após a injeção intratesticular do medicamento. Para estes animais, tem sido preconizada a administração oral de um analgésico (dipirona sódica, 25 mg/kg, TID) durante os primeiros dois dias após o procedimento. Por outro lado, pesquisas realizadas anteriormente utilizando o Testoblock em cães machos não evidenciaram qualquer característica de desconforto dos animais. Já nos procedimentos que utilizam o Infertile<sup>®</sup>, tem sido relatada resposta nociceptiva considerável na maioria dos cães tratados. A administração de acepromazina na dose de 0,025 mg/kg ou meloxicam na dose de 0,2 mg/kg, ambos por via intramuscular, 30 minutos antes da castração química, tem sido preconizada para eliminar a manifestação da dor.

Não há estudos sobre o efeito da administração destas drogas na esterilização química de cães por meio da injeção intratesticular de zinco. A dipirona sódica ou metamizol sódico é um medicamento anti-inflamatório não esteroide (AINE) que tem ação primária antipirética e sua ação analgésica e anti-inflamatória é apenas secundária. O meloxicam, que também é um AINE, tem ação anti-inflamatória e analgésica moderadas. Já a acepromazina possui efeito sedativo, não sendo considerada um analgésico propriamente dito, embora Steagall et al. (2008) tenham relatado esta ação em cães e gatos.

Como parte do mecanismo de ação do gluconato de zinco sobre os testículos baseia-se no desencadeamento de uma resposta inflamatória exacerbada, que leva à interrupção da espermatogênese e consequente azoospermia dos animais, a administração de uma droga com ação anti-inflamatória, mesmo que secundária, poderia comprometer a eficácia da esterilização. Pesquisas vêm sendo realizadas para se verificar os efeitos destas drogas sobre o mecanismo de ação do zinco quando injetado nos testículos de cães (Silva et al., 2011).

### Considerações finais

A prevenção da fertilidade do macho é importante não apenas para o controle de coberturas indesejadas, mas também pela diminuição do comportamento de macho, tais como monta, demarcação pela urina e agressividade. Alternativas aos métodos convencionais de esterilização têm sido estudadas, como a utilização de agentes esclerosantes no testículo ou epidídimo. Estas são bastante promissoras, uma vez que podem contribuir para maior eficácia do controle populacional de cães de rua, diminuição das eutanásias de animais, controle de zoonoses, além de proporcionarem ao proprietário uma técnica de esterilização menos invasiva e mais segura para o seu animal.

### Agradecimentos

A todos que vêm contribuindo, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho; à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro que vem sendo dado a esta pesquisa.

### Referências bibliográficas

- Aiudi G, Silvestre F, Leoci R, Lacalandra GM. Single testicular injection Chlorhexidine solution as a chemical sterilant in dogs. In: International Symposium on Non-Surgical Contraceptive Methods for Pet Population Control, 4, 2010, Dallas, TX. *Proceedings ...* Dallas, TX: ACC & D, 2010.
- Baran A, Ozdas OB, Gulcubuk A, Hamzaoglu AI, Tonguc M. Pilot study: intratesticular injection induces sterility in male cats. In: International Symposium on Non-Surgical Contraceptive Methods for Pet Population Control. 4, 2010, Dallas, TX. *Proceedings ...* Dallas, Texas: ACC & D, 2010.



- Blanc P, Wong H, Bernstein MS.** An experimental human model of metal fume fever. *Ann Intern Med*, v.114, p.930-936, 1991.
- Bloomberg MS.** Surgical neutering and nonsurgical alternatives. *J Am Vet Med Assoc*, v.208, p.517-519, 1996.
- Delafuente JC.** Nutrients and immune responses. *Rheum Dis Clin North Am*, v.17, p.203-212, 1991.
- Fahim MS, Wang M, Sutcu MF, Fahim Z, Youngquist RS.** Sterilization of dogs with intra-epididymal injection of zinc arginine. *Contraception*, v.47, p.107-22, 1993.
- Harper C.** Neutersol: chemical sterilization for dogs. In: Caribbean Animal Welfare Conference. Best Practices in Humane Control Stray and Feral Dog and Cat Population, 2004, Breckenridge, CO. *Proceedings...* Breckenridge, CO: ACC&D, 2004. p.20-25.
- Immegart HI, Threlfall WR.** Evaluation of intratesticular injection of glycerol for nonsurgical sterilization of dogs. *Am J Vet Res*, v.61, p.544-549, 2000.
- Johnston SD, Kustriz MVR, Olson PNS.** *Canine and feline theriogenology*. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001. 592p.
- Mann T, Lutwak-Mann C.** *Male reproductive function and semen: themes and trends in physiology, biochemistry and investigative andrology*. New York, NY: Springer-Verlag, 1981. 495p.
- Muller PM, Oliveira ECS, Silva FLM, Silva LG, Carvalho DS, Fagundes AKF, Melo SKM.** Castração química de cães machos: aspectos clínicos, reprodutivos, bioquímicos e comportamentais. In: Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE, 9, 2010, Recife, PE. *Anais...* Recife, PE: UFRPE, 2010.
- Moura MRP, Mascarenhas RM, Lanna LL, Xavier PR, Marques Júnior AP, Oliveira ECS, Melado RWC.** Cat sterilization using a zinc based solution by intratesticular administration: preliminary results. *Anim Reprod*, v.7, p.250, 2010. Resumo.
- Nishimura N, Kawate N, Sawada T, Mori J.** Chemical castration by single intratesticular injection of lactic acid in rats and dogs. *J Reprod Dev*, v.38, p.263-266, 1992.
- Neutersol.** Dose Determination Study. Freedom Information Summary. NADA 141-217. Washington, DC: United States Food and Drug Administration, 2003.
- Oliveira ECS.** *Esterilização de cães com injeção intra-testicular de solução à base de zinco*. 2006. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2006.
- Oliveira ECS, Moura MR, Muller PM, Brito LT, Guabiraba L, Silva FLM, Marques Jr AP.** Chemical sterilization of male cats: preliminary results. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 18, 2009, Belo Horizonte, MG. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 2009. p.534. Resumo. CD-ROM.
- Oliveira ECS, Moura MR, Silva Jr. VA, Peixoto CA, Saraiva KL, Sá MJ, Douglas RH, de Pinho Marques Jr AP.** Intratesticular injection of a zinc-based solution as a contraceptive for dogs. *Theriogenology*, v.68, p.137-145, 2007
- Oliveira ECS, Muller PM, Silva FLM, Moura MR, Sá MJC, Marques Jr AP.** Chemical castration... myth or reality? *Acta Sci Vet*, v.38, suppl.2, p.378-382, 2010.
- Pineda, AMH, Reimers TJ, Faulkner LC, Hopwood ML, Seidel GE Jr.** Azoospermia in dogs induced by injection of sclerosing agents into the caudae of the epididymides. *Am J Vet Res*, v.38, p.831-838, 1977.
- Pineda MH, Dooley MS.** Surgical and chemical vasectomy in the cat. *Am J Vet Res*, v.45, p.291-300, 1984.
- Sena KCM, Pedrosa LFC.** Efeitos da suplementação com zinco sobre o crescimento, sistema imunológico e diabetes. *Rev Nutr*, v.18, p.251-259, 2005.
- Silva FLM, Brito, LT, Muller PM, Araujo B, Sá MJC, Oliveira ECS.** Sterilization of dogs with intratesticular injection of a zinc based solution – Histopathological evaluation of acute and chronic phase. *Anim Reprod*, v.7, p.230, 2010a.
- Silva FLM, Muller PM, Silva LG, Moura MR, Sá MJC, Marques Jr AP.** Efeito da administração oral de dipirona sódica em cães submetidos à esterilização química por meio da injeção intratesticular de gluconato de zinco: resultados preliminares. In: Congresso Norte Nordeste de Reprodução Animal, 5, 2010, Patos, PB. *Anais...* Patos, PB: CONERA, 2010b.
- Silva FLM, Müller PM, Brito LT, Peixoto CA, Sá MJC, Silva Jr VA, Oliveira ECS.** Ultrastructural analysis of dog testis after permanent contraception with intratesticular injection of a zinc gluconate solution. In: Testis Workshop, 21, 2011, Montreal, Canada. *Proceedings...* Montreal: American Society of Andrology, 2011.
- Soto FRM, Viana WG, Mucciolo GCB, Hosomi FY, Vannucchi CI, Mazzei CP, Eyherabide AR, Fátima Lúcio C, Dias RA, Azevedo SS.** Evaluation of efficacy and safety of zinc gluconate associated with dimethyl sulphoxide for sexually mature canine males chemical neutering. *Reprod Domest Anim*, v.44, p.927-931, 2009.
- Stegall PVM, Taylor PM, Brondani JT, Luna SP, Dixon MJ.** Antinociceptive effects of tramadol and acepromazine in cats. *J Feline Med Surg*, v.10, p.24-31, 2008.
- Toxicological review of zinc and compounds.** Washington, DC: U.S.Environmental Protection Agency, 2005. 71p.
- Wang M.** Neutersol: intratesticular injection induces sterility in dogs. In: International Symposium on Nonsurgical Methods for Pet Population Control, 2002, Callaway Gardens, GA. *Proceedings...* Callaway Gardens, GA: ACC&D, 2002. p.62-65.