

Avaliação dos efeitos da aplicação de Somatotrofina suína (pST) sobre a qualidade de sêmen fresco e armazenado

Palavras-chave: Somatotrofina, sêmen fresco, sêmen armazenado

Introdução

Um dos principais problemas observados no emprego da técnica de Inseminação Artificial (IA) em suínos é a perda da qualidade seminal após seu armazenamento, levando a redução nos índices de fecundação. A temperatura de armazenamento do sêmen, entre 15 e 18°C não interrompe totalmente o metabolismo dos espermatozoides, que continuam produzindo metabólitos, os quais se acumulam e interferem na motilidade espermática. Além disso, alterações da camada fosfolipídica durante o armazenando levam a perda de cátions e enzimas, redução da atividade enzimática e perturbações nos processos de difusão controlados pela membrana associado a isso ocorre a peroxidação de lipídios pode levar a sérios danos metabólicos, resultando em perda da função e motilidade espermática (DE LEEUW et al., 1990/1991; DONALD et al 1998; WATSON, 1996).

A somatotropina exerce sua ação principalmente através do estímulo à produção de IGF-I hepático, o qual tem atuação antioxidante no plasma seminal e da proteção aos espermatozoides contra danos na membrana plasmática durante o armazenamento (WAINER 1996; LEIDL 1993). Além disso, o IGF-I é necessário para o desenvolvimento de células germinativas normais, sendo que o IGF-I seminal está associado com a morfologia normal (GLANDER et al 1995). O IGF-I no plasma seminal pode ter uma função reguladora no pré-e pós-ejaculado afetando a motilidade e capacitação espermática. A presença de um ligante de IGF-I no plasma seminal e de receptores em células de espermatozoides sugerem que este complexo poderia estar envolvido em atividades metabólicas ou de diferenciação do espermatozoide. ~~Estes receptores estão presentes principalmente na região acrossomal do espermatozoide, sendo esta região envolvida com a capacitação espermática (DONALD et al 1998).~~ O objetivo do seguinte trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de pST em relação a qualidade do sêmen fresco e armazenado.

Materiais e Métodos

Para este estudo foram utilizados 60 leitões com 22 dias de idade, sendo distribuídos aleatoriamente entre o grupo pST (n=30), que recebeu injeções intramusculares (i.m.) de 90 ug/kg de peso corporal de pST a cada três dias até 330 dias de idade, e o grupo controle (n=30) que recebeu injeções i.m. de placebo (cloreto de sódio a 0,9%) com a mesma frequência. As coletas de sêmen foram realizadas semanalmente, dos 210 aos 365 dias, através da técnica da mão enluvada, sendo coletado o ejaculado total. Logo após a coleta o ejaculado passou por avaliações de volume, motilidade e vigor, sendo posteriormente diluído com o diluente BTS (BeltsvilleThawingSolution, BTS; Minitüb, Tiefenbach, Alemanha), numa proporção de 1:1 para avaliação da concentração espermática, a qual foi realizada numa câmara de Neubauer, onde foi determinado a concentração ($\times 10^6/\text{mL}$), contagem total ($\times 10^9/\text{ejaculado}$) e o volume de sêmen necessário para obter uma dose com três milhões de espermatozoides. As doses de sêmen foram então mantidas à temperatura ambiente na luz baixa durante 2 horas e armazenadas a 15-18 °C durante 72 horas. As doses armazenadas foram avaliadas a cada 24 horas (0, 24, 48 e 72 horas) para motilidade, vigor e morfologia espermática.

Resultados

Na tabela 1 encontra-se descrito os dados referentes ao sêmen fresco referentes, onde o grupo Pst, apresentou maior Volume, vigor, concentração espermática, produção de esperma e úmero de doses inseminantes.

Table 1. Qualidade do sêmen fresco durante o período de 210-365 dias de idade (média \pm erro padrão da média) de suínos submetidos a injeção de somatotrofina suína (pST).

Parâmetros	pST (\pm SEM)	Controle (\pm SEM)	Valor P
Volume do ejaculado (mL)	174.5 (18.7) ^a	40.1 (11.8) ^b	< 0.0001
Motilidade Espermática (%)	74.7 (3.3)	67.5 (3.6)	0.15
Vigor espermático (escore: 0-5)	3.0 (0.1) ^a	2.6 (0.1) ^b	0.02

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

Concentração espermática ($\times 10^6/\text{mL}$)	346.5 (39.9) ^a	608.4 (69.6) ^b	0.001
Produção de esperma ($\times 10^9/\text{ejaculado}$)	63.1 (11.2) ^a	22.3 (9.3) ^b	0.047
Número de doses de sêmen (3×10^9 espermatozoides/dose)	20.9 (3.7) ^a	7.4 (3.1) ^b	0.047

Na tabela 2 segue os dados referentes as avaliações realizadas durante o armazenamento. O grupo Pst após 48 horas manteve a sua motilidade, e além disso, apresentou menores alterações morfológicas e maiores porcentagens de membrana intacta.

Table 2. Efeito (média \pm erro padrão da média) da administração de somatotropina suína (pST) na qualidade do sêmen de suínos jovens, durante 72 horas de armazenamento a 15 ° C.

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

Formatado: Espaço Antes: 0 pt, Depois de: 0 pt

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

Formatado: Espaço Depois de: 0 pt, Espaçamento entre linhas: simples

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

Parâmetros	0h		24h		48h		72h		Valor de P
	pST	Controle	pST	Controle	pST	Controle	pST	Controle	
Motilidade espermática	58.6 (5.1) ^a	60.0 (0.0) ^{ab}	48.1 (3.1) ^{abc}	42.3 (3.8) ^{bc}	34.6 (2.8) ^b	28.4 (5.0) ^d	36.1 (2.8) ^b	24.6 (4.9) ^d	Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Vigor espermático	2.7 (0.3) ^a	3.0 (0.0) ^{ad}	2.1 (0.1) ^{ac}	2.1 (0.1) ^{ad}	1.9 (0.1) ^{bcd}	1.8 (0.3) ^{bcd}	1.8 (0.1) ^{bcd}	1.6 (0.2) ^{bcd}	Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Morfologia									Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Células normais	88.6 (4.6) ^a	39.6 (5.6) ^b	86.1 (4.6) ^a	43.9 (5.6) ^b	87.9 (4.6) ^a	55.2 (5.6) ^b	86.9 (4.3) ^a	42.5 (5.2) ^b	Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Cabeça isolada	0.1 (0.1) ^{ab}	0.8 (0.2) ^c	0.1 (0.1) ^a	0.6 (0.2) ^{bc}	0.1 (0.1) ^{ab}	0.2 (0.2) ^a	0.2 (0.1) ^a	0.6 (0.2) ^c	Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Gota proximal	0.6 (0.8) ^a	4.0 (1.0) ^{bc}	0.9 (0.8) ^a	2.2 (1.0) ^{ac}	0.7 (0.8) ^a	3.0 (1.0) ^c	0.6 (0.8) ^a	3.1 (0.9) ^c	Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Gota distal	4.7 (2.0) ^a	26.2 (2.4) ^b	3.7 (2.0) ^a	16.8 (2.4) ^c	3.5 (2.0) ^a	18.4 (2.4) ^c	5.5 (1.8) ^a	24.8 (2.2) ^{bc}	Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Cauda enrolada	0.1 (0.1) ^{ac}	0.3 (0.1) ^{abd}	0.2 (0.1) ^{abc}	0.3 (0.1) ^{bd}	0.1 (0.1) ^{abc}	0.2 (0.1) ^{acd}	0.1 (0.1) ^c	0.5 (0.1) ^d	Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Cauda dobrada	5.6 (4.0) ^a	29.1 (4.9) ^b	8.7 (4.0) ^a	36.2 (4.9) ^b	7.2 (4.0) ^a	31.4 (4.9) ^b	6.5 (3.8) ^a	28.6 (4.5) ^b	Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Membrana intacta (%)	66.7 (3.1)	63.2 (4.6)	62.4 (3.1)	58.9 (4.6)	62.7 (3.1)	53.6 (4.6)	61.7 (3.1)	49.9 (4.6)	Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Acrossoma intacto (%)	57.2 (4.1)	64.8 (6.1)	50.4 (4.1)	57.0 (6.1)	46.6 (4.1)	42.7 (6.1)	51.9 (4.1)	40.8 (6.1)	Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

Discussão

Nossas observações concordam com HAFEZ et al. (2005), que observou aumento no volume ejaculado, motilidade, massa e número total de espermatozoides ejaculados e diminuir em porcentagem de espermatozoides anormais de touros tratados com rbST. A Administração de pST aumenta a concentração circulante de (LH) e seus receptores em tecidos alvo (CHATELAIN et al., 1991; SIROTKIN., 2005). O aumento da secreção de LH durante o período pós-natal é responsável pela maturação e diferenciação das células de Leydig e do aumento na produção de testosterona (BAGU et al., 2006). A ação de pST sobre LH e secreção de IGF-I pode aumentar a proliferação de células dos testículos, esteroidogênese e, conseqüentemente, o volume produzido, e o número de espermatozoides. Além disso, através da produção de IGF-I hepático ocorre o aumento da velocidade do espermatozoide, atuando como fatores quimiocinéticos. Sendo que a manutenção da motilidade se dá através do metabolismo de energia (DONALD et al., 1998). Quanto a melhora referente a morfologia observada no grupo pST é justificado pelo fato que o IGF-I é necessário para o desenvolvimento de células germinativas normais estando o IGF-I seminal associado com a

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

morfologia normal (GLANDER et al., 1995). Outra importante ação do IGF-I é como antioxidante no plasma seminal (SELVARAJU et al., 2009), protegendo os espermatozoides contra danos na membrana plasmática durante o armazenamento, devido impedir alterações na fluidez da membrana, que esta relacionada com a Integridade e mudanças na composição lipídica da membrana plasmática (CEROLINI et al, 2000;. WABERSKI et al. , 1994).

Conclusão

Com isso concluímos que a utilização de pST, no período estudado demonstrou-se eficiente em parâmetros referentes ao volume, concentração espermática e conseqüente numero de doses produzidas, além de proporcionar uma maior quantidade de células normais, menor ocorrência de lesões de membrana e a manutenção da motilidade durante o armazenamento.

Formatado: Espaçamento entre linhas: simples

Referências Bibliográficas

Formatado: Espaço Depois de: 10 pt

Bagu ET, Cook S, Gratton CL, Rawlings NC. Postnatal changes in testicular gonadotropin receptors, serum gonadotropin, and testosterone concentrations and functional development of the testes in bulls. *Reproduction*. 2006; 132: 403-411.

Formatado: Espaço Depois de: 10 pt

Chatelain PG, Sanchez P, Saez JM. Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor I Treatment Increase Testicular Luteinizing Hormone Receptors and Steroidogenic Responsiveness of Growth Hormone Deficient Dwarf Mice. *Endocrinology*.1991;128: 1857-1862.

De leeuw, f.e. et al. Cold-induced ultrastructural changes in bull and boar sperm plasma membranes. *Cryobiology*, 1990.v.27, p.171-183.

De leeuw, f.e. et al. The role membrane damage plays in cold shock and freezing injury. *Reproduction in Domestic Animals*, Suppl. 1, p.95-104, 1991.

Donald M. Henricks, Andrew J. Kouba, Brett R. Lackey, William R. Boone, and Sandra L. Gray,Biology of Reproduction 1998**59**, 330-337.

Hafez YM, Fawzy SA, El-Henawy MA &Barkawi AH Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) on semen physical characteristics and some biochemical constituents in seminal plasma of Friesian bulls. *Egyptian Journal of Animal Production*. 2005; 42: 87-94

Leidl W, Kato H, Hollerrieder J, Braun J. Analysis of sperm motility by computer assisted methods, with special consideration of in vitro fertilization. *MolReprodDev* 1993; 36:222-228.

Selvaraju S, Reddy IJ, Nandi S, Rao SBN, Ravindra JP. Influence of IGF-I on buffalo (*Bubalus bubalis*) spermatozoa motility, membrane integrity, lipid peroxidation and fructose uptake in vitro. *Animal Reproduction Science*. 2009; 113: 60-70.

Sirotkin AV. Control of reproductive processes by growth hormone: extra- and intracellular mechanisms. *The Veterinary Journal*. 2005; 170: 307-317.

Wainer R, Merlet F, Bailly M, Lombroso R, Camus E, Bisson JP. Prognostic sperm factors in intra-uterine insemination with partner's sperm. *ContraceptFertil Sex* 1996; 24:897-903.

Watson, p.f. Cooling of spermatozoa and fertilizing capacity. *Reproduction in Domestic Animals*, 1996.v.31, n.1, p.135-140.