

**EFEITO DA SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA SOBRE A INTEGRIDADE
DA MEMBRANA PLASMÁTICA DE ESPERMATOZÓIDES BOVINO PÓS-
CONGELAMENTO**

**DUARTE, Péricles do Nascimento¹; VIEIRA, Marcelo Brandi¹; BIANCHI, Ivan¹;
MASCHIO, Eder¹; CALDERAM K.érilin¹; FONSECA, Marcio¹; CORRÊA, Marcio
Nunes¹**

*1 Faculdade de Veterinária, Depto de Clínicas Veterinárias, UFPel
periclesrs@yahoo.com.br*

Universidade Federal de Pelotas
Faculdade de Veterinária - Departamento de Clínicas Veterinárias
Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)
Campus Universitário – 96010 900 - Pelotas/RS - www.ufpel.edu.br/nupeec
E-mail: nupeec@ufpel.edu.br - Tel: (53) 3275 7295

1. INTRODUÇÃO

O GH ou somatotropina (ST) é um hormônio pituitário que regula inúmeros mecanismos do crescimento animal, metabolismo de nutrientes além de afetar as funções reprodutivas (Pivato et al., 2004). O tratamento com somatotropina exógena rBST (hormônio do crescimento recombinante bovino) aumenta a concentração plasmática do Fator de Crescimento semelhante a Insulina (IGF-I) que é o principal mediador da ação do hormônio do crescimento, sendo um importante agente mitogênico para o desenvolvimento das células germinativas e manutenção dos espermatozoides.

Seu uso pode melhorar as taxas de fertilização, por agir sobre as características dos espermatozoides ou favorecer seu metabolismo. A maior quantidade de receptores para a somatotropina é encontrada no fígado, sendo responsável pela grande parte do IGF-I produzido no organismo (LUCY, 2000). Em machos foi demonstrado que a Somatotropina (ST) pode possuir o papel de controle da espermatogênese e da esteroidogênese. As células de Sertoli é uma das maiores fontes testiculares de IGF-I (Ritzen EM.). Além disso, receptores para IGF-I têm sido detectados nas células de Leydig (Lin et al., 1986).

A inseminação artificial é a biotecnologia mais prática e econômica, seu conhecimento é de fácil acesso. Porém o processo de criopreservação das células espermáticas resulta em diminuição da fertilidade (Gonzalez, 2004). Para que se tenham bons resultados com o congelamento de sêmen bovino é importante que o sêmen possua as melhores características qualitativas possíveis, para que após o descongelamento, já no trato reprodutivo da fêmea, exista a possibilidade deste ter capacidade fertilizante. A hipótese deste trabalho é que o rBST tenha efeito positivo sobre a integridade de membrana plasmática do espermatozoide, garantindo assim melhor qualidade de sêmen.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do tratamento com rBST sobre a integridade de membrana plasmática do espermatozóide bovino após o processo de congelamento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido nas dependências da Central de Reprodução ABS/PECPLAN, localizado no município de Rosário do Sul - RS. Foram utilizados 20 Touros, predominantemente de raças européias, divididos aleatoriamente em dois grupos de 10 animais cada, um foi tratado com rBST(G I) e o outro recebeu apenas placebo (G II). O GI recebeu, 500 mg/touro de rBST (Lactotropin[®]/ELANCO)

O plano de atividades seguiu a seguinte rotina: coleta de sangue e sêmen e congelamento do sêmen nos dias 0, 14, 28, 42, 56, 70, aplicação do tratamento (GI) e placebo (GII) nos dias 0 e 14. As coletas de sêmen foram feitas utilizando o mesmo método praticado na central, ou seja, através de vagina artificial, por ser o método mais próximo do fisiológico. O diluente utilizado para todos congelamentos de sêmen foi o Bioxel[®] (IMV, L'Aigle, França).

A avaliação da integridade de membrana espermática foi realizada por fluorescência, através das sondas Diacetato de Carboxifluoresceína (CFDA) e Iodeto de Propídio (IP). A avaliação foi feita em microscópio de epifluorescência (Olympus BX 51, América INC), através de excitação em filtro WU sob aumento de 400x. Foram contados 200 espermatozóides em uma mesma lâmina e classificadas conforme sua coloração em íntegros (espermatozóides corados em verde em toda sua extensão) e lesados (espermatozóides corados em vermelho).

Para analisar os resultados foi realizada análise de variâncias e comparação de médias de acordo com o teste de Tukey HSD, utilizando o software *Statistix 8 for Windows*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados demonstraram que a taxa de espermatozóides com membrana plasmática íntegra foi de 49% no grupo tratado com rBST (GI) e no grupo placebo esta mesma taxa foi de 42%, diferindo entre si ($p < 0.001$). Muitos estudos com o hormônio do crescimento, incluindo a espécie humana e roedores, foram conduzidos relacionando infertilidade reprodutiva com deficiência deste hormônio, demonstrado efeito satisfatório após tratamento com rBST exógeno (Gravance et al. 1997, Martin et. al, 1997).

Embora existam poucos estudos referentes a avaliação de integridade de membrana em espermatozóides bovinos, Sauerwein et. al (2000), relata que o GH pode agir indiretamente elevando as concentrações de IGF-I, e influenciando na espermatogênese e da esteroidogênese.

Os resultados apresentados sobre o tratamento com rBST, demonstram que há um aumento na quantidade de espermatozóides com a membrana plasmática íntegra sugerindo que haja um acréscimo nas taxas de fertilização, concordando com Souza et al. (2005), que demonstrou que o GH além de reduzir as anormalidades espermáticas elevou a motilidade e a fertilização. Devido ao fato da concentração espermática ser constante para o congelamento de sêmen, as taxas de fertilização estão diretamente

atribuídas a alterações das características dos espermatozóides. Estas alterações podem ser atribuídas a dois diferentes processos, primeiro o efeito do GH na espermatogênese e segundo o efeito no metabolismo espermático (Weinbauer et. al 1990).

Os mecanismos que justificam estes efeitos são complexos e o envolvimento do rBST na espermatogênese é atribuído ao efeito dos hormônios gonadotróficos (FSH,LH), esteróides (testosterona) e ao IGF-I. Fraser et. al (1991) pode comprovar o envolvimento direto do GH no eixo gonadotróficos, por ter encontrado receptores específico mRNA para o GH na hipófise.

4. CONCLUSÃO

Com base nestes resultados pode-se concluir que o tratamento com rBST obteve efeito benéfico sobre a integridade da membrana plasmática de espermatozóides bovinos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Assumpção, M.E.O.D.; Haipeck, K.; Lima, A.S.; Mello, M.R.B.; Oliveira, L.J.; Oliveira, V.P.; Tavares, L.M.T.; Visintin, J.A. Capacitação espermática in vitro com heparina e cálcio ionóforo e sua correlação com a fertilidade em touros. **Braz. J. vet. Res. anim.Sci.**, São Paulo, v.39, n.2, p. 149-156, 2002.

Fraser RA, Siminoski K, Harvey S. Growth hormone receptor gene: novel expression in pituitary tissue. **J Endocrinol** 1991;128:R9–R11.

González, R.A.F. Efeito da criopreservação usando diferentes técnicas de congelamento e crioprotetores sobre parâmetros espermáticos e a integridade de membranas do espermatozóide bovino – Tese (Doutorado) USP-FMVZ- Departamento de Reprodução Animal – 2004.

H. Sauerweina, B.H. Breierb, B.W. Gallaherb, C. Götzta, G. Küfnera, T. Montaga, M. Vickersa,b, E. Schallenbergerc. Growth hormone treatment of breeding bulls used for artificial insemination improves fertilization rates. **Domestic Animal Endocrinology** 18 (2000) 145–158

Lin T, Haskell J, Vinson N, Terracio L. Characterization of insulin and insulin-like growth factor I receptors of purified Leydig cells and their role in steroidogenesis in primary culture: a comparative study. **Endocrinology** 1986;119:1641–7.

Lucy, M.C. Regulation of follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. **Journal of Dairy Science, Savoy**, v.83, p.1635-1647, 2000.

Martin FC, Yeo AL, Sonksen PH. Growth hormone secretion in the elderly: ageing and the somatopause. **Baillieres Clin Endocrinol Metab** 1997;11:223–50.

Ritzen EM. Chemical messengers between Sertoli cells and neighbouring cells. **J Steroid Biochem** 1983; 19:499–504.

Sauerwein H, Meyer HHD, Schams D Divergent effects of estrogens on the somatotropic axis in male and female calves **J Reprod Dev** 1992;38:271– 8

Souza, L.W.O.; Garcia, A.R.; Celeghini, E.C.C.; Andrade, A.F.C.; Raphael, C.F.; Nascimento, J.; Rodrigues, P.H.M.; Arruda, R.P. Efeitos Da Somatotropina Sobre Características Seminais de Bos taurus taurus sob Condições de Estresse Testicular Térmico. **Acta Scientiae Veterinariae 33(Suplemento 1)**: 2005

Spicer, L.J., Echternkamp, S.E., 1995. The ovarian insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. **Domestic Animal Endocrinology** 12, 223–245.

Weinbauer GF, Nieschlag E. The role of testosterone in spermatogenesis. In: Nieschlag E, Behre HM, editors. Testosterone: action, deficiency and substitution. Heidelberg: **Springer Verlag**, 1990. p. 23–50.