

Efeito da somatotropina suína (pST) sobre a expressão de genes ligados a função reprodutiva e tamanho testicular de suínos

Palavras chaves: suínos, desenvolvimento testicular, somatotropina

Introdução

A somatotropina ou hormônio do crescimento (GH) é um dos principais coordenadores do crescimento corporal e metabolismo. Muitas das ações do GH são somatogênicas, exercidas através da estimulação da produção de fator semelhante a insulina (IGF-I), produzidos em diversos tecidos, entre eles as gônadas (BRITO et al., 2007).

Estudos em humanos já demonstraram a influência da administração de somatotropina exógena, em pacientes com deficiência endógena de GH, atuando de forma positiva no crescimento testicular, gametogênese e esteroidogênese (MAURAS et al., 2005)

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da administração de somatotrofina suína (pST) sobre o tamanho testicular e a expressão gênica do IGF-I, GHR e do antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) neste órgão em suínos machos pré púberes.

Metodologia

Foram utilizados doze leitões mestiços, obtidos do cruzamento entre as raças Landrace x Large White, alojados em baias coletivas, aonde tiveram acesso a água e alimento a vontade, monitorados desde os 22 aos 52 dias de idade. De forma aleatória os animais foram divididos em dois grupos: Grupo Tratamento (GT, n = 6) e Grupo Controle (GC, n = 6). O GT foi submetido a administração intramuscular de pST a cada três dias, durante 30 dias. O GC recebeu placebo, no mesmo volume, dose e frequência do GT. Aos 22 dias de idade foram realizadas biopsia testicular com uma agulha semi-automática de biópsia (Tru-cut 16G x 15 cm - Biomédicos, Delebrio, Itália), do testículo direito para avaliação da expressão gênica. Foi realizado orquiectomia aos 52 dias para obtenção do peso testicular e coleta de tecido para avaliação gênica. As amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenado a -70 ° C, para extração de RNA.

O RNA total de testículo foi extraído utilizando Trizol (Invitrogen®, Carlsbad, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. A partir da purificação (RNeasy Mini Kit, Qyagen, Valencia, CA, EUA) e determinação da integridade (amostras com as bandas 18S e 20S intactas) foi sintetizado o cDNA utilizando SuperScript First-Strand III Síntese Supermix (Invitrogen®, Carlsbad, EUA). O quantitativo PCR em tempo real usando o cDNA obtido no passo anterior, foi realizada com a máquina real Stratagene Tempo MX3005P PCR (Agilent Technologies UK Ltd, Stockport, UK), utilizando a detecção química SYBR Green (Platinum SYBR Green Supermix-qPCR UDG kit, Invitrogen®, Carlsbad, EUA) tal como recomendado pelo fabricante.

Os parâmetros de PCR foram de 5 min a 50 ° C e 10 min a 95 ° C seguido de 40 ciclos de 95 ° C durante 30 seg, 58 ° C e 75 ° C, durante 1 minuto cada. Iniciadores específicos para GHR, IGF-I, PCNA e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH, o qual foi usado como um gene de controle) foram utilizados. Para a quantificação da abundância de mRNA foi utilizada a fórmula $Abundância = 1 / Eficiência^{\Delta CT}$, onde $\Delta CT = CT \text{ amostra} - CT \text{ gene de controle}$ (BIONAZ et al, 2012)

Resultados

O Grupo Tratamento teve maior peso testicular, no final do experimento em relação ao Grupo Controle (GT: 9,7 ± 1,0 g; GC: 7,3 ± 0,5 g, P = 0,06). De acordo com a expressão de PCNA testicular, também foi aumentado em GT (GT: 0,82 ± 0,02; GC: 0,76 ± 0,02, P = 0,03), porém a expressão de GHR foi diminuída no GT em comparação ao grupo controle (GT: 1,67 ± 0,06 , GC: 1,93 ± 0,07, P = 0,01). A expressão de IGF-I nos testículos não diferiram entre os grupos (GT: 1,04 ± 0,01; GC: 1,05 ± 0,01, P = 0,09).

Discussão

O maior peso testicular presente no final do experimento no GT indica um efeito positivo da administração de pST. Isto ainda pode ser confirmado com o aumento da expressão de PCNA, que representa um indicador de proliferação tecidual, pois atua replicação, excisão e reparação do DNA, montagem da cromatina, deste modo estando presente em células em replicação (KELMAN, 1997).

A diminuição da expressão de GHR testicular indica que houve uma down-regulation dos níveis testiculares, devido ao aumento da circulação de IGF-I (Leung et al., 1996). No entanto não foi observado efeito na expressão de IGF-I testicular, o que pode estar relacionado com o aumento da expressão de IGF-I em outros tecidos como fígado, tecido adiposo e em certos músculos esqueléticos responsivos ao GH (Brameld, et al.,1996; Coleman, et al., 1994).

Conclusão

Este estudo indica que a administração de pST tem efeito positivo sobre o peso testicular, através de uma maior proliferação tecidual, entretanto interferiu negativamente na expressão de GHR, sem alterar a expressão de IGF-I.

Referencia

BIONAZ M, THERING BJ, LOOR JJ. Fine metabolic regulation in ruminants via nutrient–gene interactions: saturated long-chain fatty acids increase expression of genes involved in lipid

metabolism and immune response partly through PPAR- α activation. **British Journal of Nutrition** 107, 179-191, 2012.

BRAMELD, J. M., J. L. ATKINSON, J. C. SAUNDERS, J. M. PELL, P. J. BUTTERY, AND R. S. GILMOUR. Effects of growth hormone administration and dietary protein intake on insulin-like growth factor I and growth hormone receptor mRNA expression in porcine liver, skeletal muscle, and adipose tissue. **J. Anim. Sci.** 74: 1832–1841, 1996.

BRITO LFC, BARTH AD, RAWLINGS NC, WILDE RE, CREWS JR DH, MIR PS, KASTELIC JP. Effect of improved nutrition during calfhooD on serum metabolic hormones, gonadotropins, and testosterone concentrations, and on testicular development in bulls. **Domestic Animal Endocrinology**, v 33, p 460-469, 2007.

COLEMAN, M. E., L. RUSSELL, AND T. D. ETHERTON. Porcine somatotropin (pST) increases IGF-I mRNA abundance in liver and subcutaneous adipose tissue but not in skeletal muscle of growing pigs. **J. Anim. Sci.** 72: 918–924, 1994.

KELMAN Z. PCNA: structure, functions and interactions. **Oncogene**, v 14 p 629-640, 1997.

MAURAS, N.; BELL, J.; SNOW, B.G.; Winslow, k.I. Sperm analysis in growth hormone–deficient adolescents previously treated with an aromatase inhibitor: comparison with normal controls. **Fertility and Sterility**, v. 84, p. 239-242, 2005.