

SELÊNIO COMO ANTIOXIDANTE NO SÊMEN SUÍNO RESFRIADO

Emanuelle M. Coldebella¹, Jéssica Alexandre², Andressa Pereira de Souza³ e Mariana Groke Marques⁴

¹Graduanda em Medicina Veterinária, pelo Instituto Federal Catarinense, Campus Concórdia, bolsista CNPQ/PIBIC, manu_coldebella@hotmail.com

²Médica Veterinária, Pontifícia Universidade Católica do Paraná

³Doutoranda pela Universidade do Estado de Santa Catarina, Campus Lages

⁴Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves

Palavras-chave: Antioxidante, espermatozoides, sêmen resfriado.

INTRODUÇÃO

Com intenso uso da inseminação artificial em suínos a indústria aumentou o interesse em desenvolver condições para armazenar melhor o sêmen por longos períodos tempo sem afetar sua fertilidade (1). Por possuir grande quantidade de ácidos graxos poli-insaturados e colesterol, o espermatozoide suínos é bastante suscetível à peroxidação lipídica durante a sua estocagem sob refrigeração (2). Neste sentido a adição de antioxidantes nos diluentes de refrigeração pode manter ou melhorar a viabilidade espermática ao longo do período de armazenamento. A enzima glutathione peroxidase protege as células dos efeitos danosos dos metabólitos tóxicos e de radicais livres, prevenindo a peroxidação lipídica das membranas. O selênio é um componente essencial desta enzima (3). O aumento dos níveis de selênio aumenta a atividade antioxidante da glutathione peroxidase, diminuindo, assim, as espécies reativas de oxigênio (EROs) e levando a um aumento da fertilidade masculina (4). O objetivo deste estudo foi avaliar diferentes concentrações de selênio adicionado ao diluente comercial durante o resfriamento de sêmen suíno visando prolongar a viabilidade espermática.

MATERIAL E MÉTODOS

A fração rica de 3 ejaculados de 5 reprodutores foi diluída em diluente comercial de curta duração (3 dias) (M3 – Minitub®) na proporção de 1:1. As amostras foram mantidas a 20°C por 2 horas. Ao final deste período, o selênio foi adicionado ao sêmen nas concentrações finais de 0µg/mL, 1µg/mL, 2µg/mL e 4µg/mL, em seguida as amostras foram resfriadas entre 15°C-18°C. As amostras foram avaliadas após quatro e sete dias de resfriamento, quanto à motilidade e morfologia, em microscópio de contraste de fase, e à integridade da membrana plasmática com Iodeto de Propídio (10 µg/mL) através de citometria de fluxo (BD Accuri™ C6). Os dados foram avaliados utilizando PROC MIXED (SAS®). O teste de Tukey foi usado para comparar os grupos, sendo os dados apresentados na forma de média dos quadrados mínimos das porcentagens ± EP. A análise de regressão foi realizada no InStat®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação entre a concentração de selênio e os dias de avaliação para os parâmetros analisados (exames morfológicos, motilidade e integridade de membrana). O tempo de armazenamento, 4 ou 7 dias de resfriamento, apresentou efeito somente sobre a motilidade tendo o dia 4 apresentado maior porcentagem de espermatozoides móveis que o dia 7 (57,37%±2,26 e 42,78%±2,26, respectivamente; p<0,0001) (Fig.1). Quanto à concentração de selênio durante o resfriamento, foram observadas diferenças na morfologia espermática e motilidade. Na morfologia, constatou-se que quando o sêmen foi exposto a maior concentração de selênio, a porcentagem média de defeitos de acrossoma foi significativamente maior que a do grupo sem suplementação (1,82%±0,12 e 0,73%±0,22, respectivamente para 4µg/mL e 0 µg/mL; p= 0,0041). As concentrações de 1 e 2µg/mL não diferiram do grupo 0 µg/mL (1,08%±0,23 p=0,7053 e 1,07%±0,22 p=0,7020, respectivamente) (Fig.2). Quanto a motilidade, notou-se uma queda na porcentagem de espermatozoides móveis com o aumento da concentração de selênio (r=-0,7264, p<0,0001) (Fig.3A). Os espermatozoides submetidos a concentração 4µg/mL apresentaram menor motilidade (22,96%±3,07), diferindo dos grupos 2µg/mL (39,70%±3,18; p=0,001), 1µg/mL (68,07%±3,31; p<0,0001) e 0 µg/mL (69,55%±3,20; p<0,0001). O grupo suplementado com 2µg/mL também apresentou resultados menores que os dos grupos 1µg/mL e 0µg/mL (p<0,0001 e p<0,0001, respectivamente), sendo que estes não diferiram entre si (p=0,9884). Sabendo-se que baixas concentrações de EROs tem um papel importante na fisiologia espermática enquanto que altas concentrações são prejudiciais, e que o ideal são mecanismos de proteção capazes de diminuir suas concentrações e ao mesmo tempo manter concentrações mínimas para as funções celulares normais, pode-se observar que altas doses de selênio, adicionadas de uma única vez ao diluidor no dia do início da refrigeração, não são capazes de reverter o efeito deletério do armazenamento, ao contrário, podem diminuir a viabilidade espermática, pois além de um possível efeito tóxico, provavelmente diminuir as EROS aquém das concentrações necessárias para manter o equilíbrio fisiológico.

CONCLUSÃO

Altas concentrações de selênio (acima de 1µg/mL) adicionadas de uma única vez ao diluidor no dia do início da refrigeração, não são capazes de reverter o efeito deletério do armazenamento, não prolongando a viabilidade dos espermatozoides em refrigeração. Outros estudos devem ser realizados para adequação da dose e/ou alternativas como o uso em associação com nano partículas de liberação lenta para adequar o uso deste antioxidante.

REFERÊNCIAS

1. ZANELLA, E., ZANELLA, R., POETINI, M.R., MARQUES, M.G., SOARES, J.C.M., BONDAN, C. Oxidative Status of Boar Semen during Storage. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 12, p.95-101, 2016.
2. KUMARESAN A, KADIRVEL G, BUJARBARUAH KM, BARDOLOI RK, DAS A, KUMAR S, NASKAR S. Preservation of boar semen at 18 degrees C induces lipid peroxidation and apoptosis like changes in spermatozoa. **Animal Reproduction Science**, v. 110, p.162-171, 2009.
3. OLDEREID, N. B.; THOMASSEN, Y.; PURVIS, K. Selenium in male reproductive organs. **Human Reproduction**, v.13, p.2172-2176, 1998.
4. KENDALL, N.R., McMULLEN, S., GREEN, A., RODWAY, R.G. The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on trace element status and semen quality of ram lambs. **Animal Reproduction Science**, v.62, p.277-283, 2000.

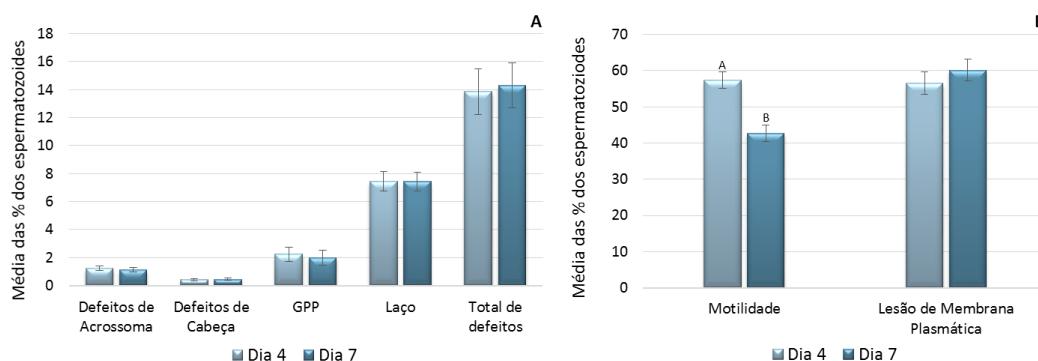


Figura 1. Médias das porcentagens de defeitos espermáticos, motilidade e lesão de membrana plasmática após o armazenamento do sêmen sob refrigeração por 4 a 7 dias. Os dados estão apresentados na forma de média dos quadrados mínimos das porcentagens $\pm$ EP. Letras sobrescritas representam diferença significativa (^{A, B}).

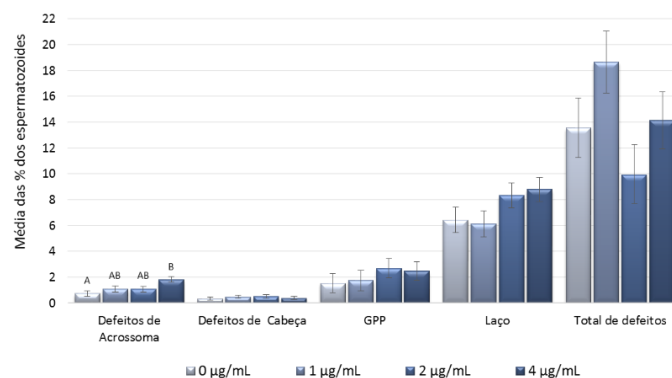


Figura 2. Médias das porcentagens de defeitos espermáticos (defeitos de acrossoma, cabeça, gota protoplasmática proximal, cauda em laço e total de defeitos) nas diferentes concentrações de selênio (média dos quadrados mínimos das porcentagens $\pm$ EP). Letras sobrescritas representam diferença significativa (^{A, B}).

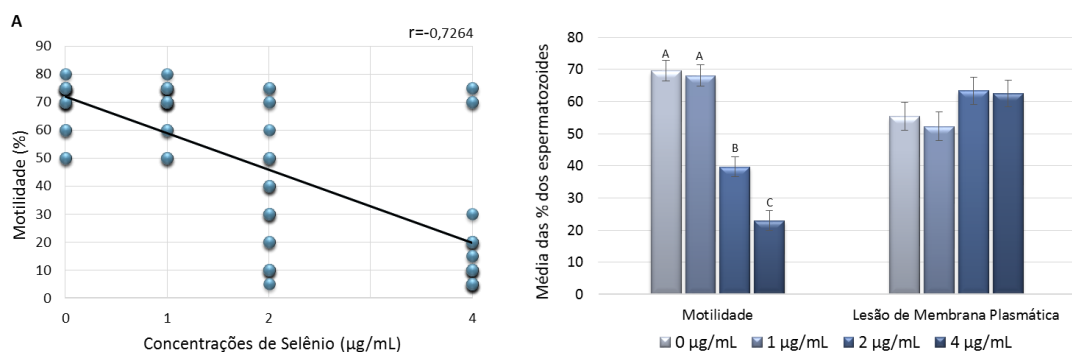


Figura 3. Dispersão das porcentagens de espermatozoides móveis (motilidade) nas diferentes concentrações de selênio (A). Médias das porcentagens de motilidade e lesão de membrana plasmática nas diferentes concentrações de selênio (média dos quadrados mínimos das porcentagens $\pm$ EP) (B). Letras sobrescritas representam diferença significativa (^{A, B, C}).