

ANÁLISE BIOQUÍMICA DOS CONSTITUINTES ORGÂNICOS E INORGÂNICOS DO PLASMA SEMINAL DE CUTIAS

(Biochemical analysis of the organic and inorganic constituents of the agouti seminal plasma)

Ana Glória PEREIRA*; Maiko Roberto Tavares DANTAS; Samara Sandy Jerônimo MOREIRA; Náyra Rachel Nascimento LUZ; Alexandre Rodrigues SILVA

Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Rua Francisco Mota, 572. Pres. Costa e Silva, Mossoró/RN.
CEP: 59.625-900. *E-mail: anagloriavet@gmail.com

ABSTRACT

The objective of the present study was to identify the biochemical components of the agoutis' seminal plasma. For this purpose, six adult males were collected by means of electroejaculation. Biochemical analysis was performed using commercial kits and the absorbances were read on a spectrophotometer. The results were described as mean and standard error. The following organic constituents were identified in the seminal plasma: albumin (6.64 ± 2.31 g/dL), total proteins (1.9 ± 0.62 g/dL), glucose (26.27 ± 9.84 mg/dL), fructose (26.92 ± 8.08 mg/dL), citric acid (408.28 ± 227.92 mg/dL), triglycerides (282.04 ± 83.58 mg/dL) and cholesterol (125.16 ± 34.35 mg/dL). Regarding inorganic components, chlorides (283.66 ± 104.11 mEq/L), magnesium (4.24 ± 0.38 mg/dL), phosphorus (3.67 ± 0.59 mg/dL), calcium (12.47 ± 1.85 mg/dL), and iron (620.63 ± 266.33 µg/dL). It should be noted that this is the first description of the biochemical composition of seminal plasma in the species *Dasyprocta leporina*. This information will be useful for the improvement of sperm conservation protocols for the species.

Key words: Conservation, Semiarid, Rodents, Reproduction.

INTRODUÇÃO

A cutia (*Dasyprocta leporina*) é um roedor histricognato silvestre, típico da fauna brasileira, que desempenha um papel de fundamental importância na natureza, pois possui o hábito de cavar tocas, contribuindo para a aerificação do solo e se configura em importante elo na cadeia alimentar (RODRIGUES *et al.*, 2003). A criação destes animais em cativeiro é uma alternativa para a conservação da espécie, que pode ser ameaçada pela pressão ambiental imposta pelo homem, por meio da caça predatória e destruição de seus habitats (CASTELO, 2015). No intuito de ampliar as estratégias reprodutivas da espécie, necessita-se conhecer a sua fisiologia reprodutiva, visando a aplicação de biotécnicas como a tecnologia de sêmen.

O plasma seminal (PS) é uma mistura de secreções dos testículos, epidídimos e das glândulas acessórias, que serve como meio para os espermatozoides. Em mamíferos, alguns constituintes bioquímicos do PS são responsáveis por uma ação antimicrobiana, e participam da ativação da motilidade espermática (ELZANATY *et al.*, 2002). Entretanto, pouco se sabe a respeito da composição do PS de cutias, o que seria importante para o aperfeiçoamento de protocolos de conservação espermática. Neste sentido, objetivou-se identificar os componentes bioquímicos orgânicos e inorgânicos presentes no plasma seminal de cutias.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados seis machos adultos provenientes do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS/UFERSA), que está registrado no IBAMA como criadouro

científico sob a numeração 1478912. Os procedimentos experimentais foram desenvolvidos conforme aprovação do CEUA/UFERSA (Parecer nº 11/2019) e Instituto Chico Mendes de Biodiversidade (SISBIO nº 66618-1).

As coletas foram realizadas por meio de eletroejaculação, utilizando-se um protocolo de estimulação serial com 03 ciclos de estimulação e intervalos de 5 minutos entre cada ciclo (CASTELO et al., 2015). Para evitar a influência de constituintes testiculares ou epididimários, apenas os ejaculados azoospermicos foram utilizados no experimento. Assim, após a coleta em tubos plásticos, mensurou-se o volume coletado e a ausência de espermatozoides foi confirmada em microscopia de luz (x400). Posteriormente, as amostras foram centrifugadas (700g) e refrigeradas a - 20 °C até a ocasião da análise bioquímica.

As análises bioquímicas foram feitas por meio de kits bioquímicos comerciais (Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG, Brazil) e Espermoteste® (InVitro Diagnostic S/A, Itabira-MG, Brazil). Para determinação e quantificação dos constituintes orgânicos e inorgânicos do plasma seminal, as absorbâncias das amostras foram analisadas sob espectrofotometria (Biospectro modelo SP-22. Curitiba, PR - Brasil), utilizando-se comprimentos de ondas especificados em cada kit. Os resultados foram expressos na forma de média e erro padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O protocolo de eletroejaculação mostrou-se eficiente na obtenção do plasma seminal de cutias, proporcionando a obtenção de um volume médio de 1091,66±205,498µL, comprovadamente azoospermico (Tab. 01).

Tabela 01: Valores médios (±erro padrão) para os constituintes orgânicos encontrados no plasma seminal de cutias *Dasyprocta leporina* (n=6).

Constituintes	Média (±erro padrão)	Varição (Mínimo – Máximo)
Proteínas Totais (g/dL)	1,9±0,62	0,44 – 4,43
Albumina (g/dL)	6,64±2,31	1,19 – 15,66
Colesterol (mg/dL)	125,16±34,35	38,12 – 270,58
Triglicérides (mg/dL)	282,04±83,58	33,01 – 556,92
Ácido cítrico (mg/dL)	408,28±227,92	17,44 - 1300
Frutose (mg/dL)	26,92±8,08	4,16 – 57,35
Glicose (mg/dL)	26,27±9,84	2,02 – 60

Os constituintes orgânicos encontrados no plasma seminal de cutias (Tab. 01) são similares aos já descritos no plasma seminal de outros mamíferos, tais como coelhos (ALVAREZ e STOREY, 1983), bovinos (LAPOINTE *et al.*, 1996), ovinos (ABDELRAHMAN et al., 2000) e suínos (RODRIGUEZ *et al.* 2013). Murase *et al.* (2007) relataram que a albumina é uma proteína associada à proteção espermática. Já a presença dos triglicérides no plasma seminal pode estar relacionada com a qualidade espermática e a fertilidade do macho (KOZIOROWSKA-GILUN *et al.*, 2011). Em adição, o colesterol exerce

importante função de proteção das células contra o choque térmico resultante de alterações na temperatura (SOFIKITIS e MIYAGAWA 1991).

O ácido cítrico atua de modo positivo sobre a motilidade espermática (MANN, 1948). A frutose é utilizada pelas células para produção de ATP, sendo convertida em energia utilizada durante o movimento do espermatozoide (FORD, 2001). No entanto, algumas espécies podem utilizar a glicose como fonte de energia para a movimentação espermática. Nas cutias, entretanto, evidenciou-se que ambos os açúcares estão presentes em quantidades similares, sendo ainda necessária uma elucidação a respeito do metabolismo energético para o espermatozoide da espécie.

Tab. 02. Valores médios (\pm erro padrão) para os constituintes inorgânicos encontrados no plasma seminal de cutias *Dasyprocta leporina* (n=6).

Constituinte	Média (\pm erro padrão)	Varição (Mínimo – Máximo)
Fósforo (mg/dL)	3,67 \pm 0,59	1,77 – 5,52
Magnésio (mg/dL)	4,24 \pm 0,38	3,68 – 5,98
Cálcio (mg/dL)	12,47 \pm 1,85	6,73 – 18,28
Ferro (mg/dL)	620,63 \pm 266,33	126 – 1902,35
Cloretos (mEq/L)	283,66 \pm 104,11	99,07 – 777,17

No que diz respeito aos constituintes inorgânicos, os íons cálcio, magnésio, fósforo, ferro e cloreto foram encontrados no plasma seminal de cutias (Tab. 02). O cálcio é importante por permitir a regulação fisiológica das células espermáticas (WONG *et al.*, 2001). O magnésio é um cátion que atua como cofator em mais de 300 reações enzimáticas, tendo importante atuação sobre a motilidade espermática (ABOU-SHAKRA *et al.*, 1989). O fósforo participa de processos envolvendo o metabolismo energético, ativação e inativação enzimática (CORTEZ, 2003). O ferro tem função fundamental na síntese de DNA e transporte de elétrons e oxigênio (FERREIRA, 2009). No que diz respeito ao cloreto, Martins *et al.* (1999) verificaram que baixas concentrações de cloreto na fração espermática implicam em um mecanismo de proteção que independe da espécie e raça.

CONCLUSÕES

Ao nosso conhecimento, esta é a primeira descrição da composição bioquímica do plasma seminal na espécie *Dasyprocta leporina*. Estas informações serão úteis para o aperfeiçoamento de protocolos de conservação espermática na espécie.

REFERÊNCIAS

ABOU-SHA, F.R.; WARD, N.I.; EVERARD, D.M. The role of trace elements in male infertility. *Fertility And Sterility*, v. 2, n.2, p.307-310, 1989.

BAAS, E.J.; POTKAY, S.; BACHER, J.D. The agouti (*Dasyprocta sp*) in biomedical research and captivity. *Laboratory Animal Science*, v.26, n.5, p.788-796, 1976.

CASTELO, T.S.; SILVA, A.R. Eletroejaculação em mamíferos silvestres: principais fatores que afetam sua eficiência. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.38, n.4, p.208-213, 2015.

ELZANATY, S.; RICHTHOFF, J.; MALM, J.; GIWERCMAN, A. The impact of epididymal and accessory sex gland function on sperm motility. *Human Reproduction*, v.17, n.11, p.2904–11,2002.

FERREIRA, J.B.F.; PIO, C.H.S.; LIMA, E.S. A dosagem da ferritina no plasma seminal pode ser um marcador do estresse oxidativo no sêmen? *Newslab*, v.94, n.1, p.170-176, 2009.

KOZIOROWSKA-GILUN, M.; KOZIOROWSKI, M.; STRZEZEK, J.; FRASER L. Seasonal changes in antioxidant defense systems in seminal plasma and fluids of boar reproductive tract. *Reproductive Biology*, v.11, n.1, p.37-47, 2011.

MANN, T. *Biochemistry of semen and of the male reproductive tract*. 2^a ed., London: Methuen, 1964. 493p.

MOLLINEAU, W.M.; ADOGWA, A, O.; GARCIA, G.W. Improving the efficiency of the preliminary electroejaculation technique developed for semen collection from the agouti (*Dasyprocta leporina*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v.41, n.4, p.633-637, 2010.

MURASE, T.; IMAEDA, N.; YAMADA H.; MIYAZAWA K. Seasonal changes in semen characteristics, composition of seminal plasma and frequency of acrosome reaction induced by calcium and calcium ionophore A23187 in Large White boars. *Journal of Reproduction and Development*, v.53, n.4, p.853-865, 2007.

SOFIKITIS, N.; MIYAGAWA, I. Secretory dysfunction of the male accessory genital glands due to prostatic infections and fertility: a selected review of the literature. *Japanese Journal of Fertility and Sterility*, v.36, p.690-699, 1991.

WONG, W.Y.; FLIK, G.; GROENEN, P.M.W.; SWINKELS, D.W.; THOMAS, C.M.G.; COPIUS-PEEREBOOM, J.H.J.; MERKUS, H.M.W.M.; STEEGERS-THEUNISSEN, R.P.M. The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men. *Reproductive Toxicology*, v.15, n.20 p.131-136, 2001.