Potencial da pentoxifilina na manutenção da viabilidade espermática do sêmen refrigerado bovino

Autor(res)

Tathiana Ferguson Motheo
Sidnei Trocato De Freitas Junior
Barbara Kettermann Volobueff
Walter Augusto Dos Santos Marinho
Ana Júlia Soares Dos Santos
Ana Carolina Franco Taveira
Cristiane Da Silva Mendes
Analice Da Costa Marques
Natiele Brandelero
Lucas Silva Campos

Categoria do Trabalho

Pós-Graduação

Instituição

UNIC BEIRA RIO

Introdução

O Brasil possui um dos maiores rebanhos bovinos do mundo, com 238,6 milhões de cabeças, destacando-se como principal produtor e exportador global de carne bovina (IBGE, 2024; ABIEC, 2024). Para atender à crescente demanda, a adoção de biotecnologias reprodutivas, como a refrigeração e criopreservação de gametas, tem se mostrado estratégica. O uso de sêmen refrigerado, embora menos frequente que o congelado, apresenta vantagens, como maior viabilidade espermática, redução de danos celulares e custos mais acessíveis (Silva et al., 2013). No entanto, sua fertilidade é comprometida após 48 horas de armazenamento, devido ao estresse oxidativo, danos de membrana e contaminação microbiana (Batellier et al., 2001; Vahedi Raad et al., 2024).
A pentoxifilina (PTX) é uma metilxantina com propriedades antioxidantes e promotoras do metabolismo celular, a qual já é utilizada na reprodução humana para melhorar a motilidade espermática (Calogero et al., 1998; Dong et al., 2024). Em bovinos, estudos relatam benefícios sobre motilidade, viabilidade e fertilização, especialmente no sêmen fresco e pós-descongelamento (Numabe et al., 2001; Barakat et al., 2015). Contudo, ainda são escassas as pesquisas que avaliam sua eficácia em sêmen refrigerado sob condições de campo, sobretudo em pequenas e médias propriedades. Assim, torna-se essencial investigar o papel da pentoxifilina na preservação da qualidade espermática, visando ampliar a eficiência das biotécnicas reprodutivas na bovinocultura.

Objetivo

Avaliar o efeito de diferentes concentrações e tempos de incubação de pentoxifilina sobre a cinética espermática de sêmen bovino refrigerado.

Material e Métodos

Foram coletadas 18 amostras seminais de seis touros hígidos, aptos à reprodução, provenientes de propriedades particulares do Estado de Mato Grosso. Antes do experimento, os animais foram submetidos a exame andrológico para avaliação do status reprodutivo (CBRA, 2013) e esgotamento das reservas espermáticas (Arguello et al., 2017). Apenas touros com ejaculado apresentando motilidade 60%, vigor 3, mais de 70% de espermatozoides normais e concentração > 350 x 10 sptz/mL foram incluídos (CBRA, 2013).

As coletas foram realizadas por eletroejaculação, com os animais contidos em tronco, seguida de limpeza da genitália externa com solução fisiológica 0,9% e remoção de fezes retais. Após breve estimulação transretal, inseriu-se a probe do eletroejaculador (Autojet V3 – Neovet®), coletando-se o ejaculado em funil acoplado a tubo graduado de 15 mL, pré-aquecido a 37 °C e protegido da luz.

Imediatamente, o sêmen foi avaliado macroscopicamente quanto a volume, cor e odor. O volume foi determinado pelo tubo graduado; a coloração variou entre amarelo pálido e opaco e o odor apresentou padrão característico (CBRA, 2013). A concentração e a cinética espermática foram analisadas em sistema CASA portátil (AndroScope – Minitube®). Para isso, as amostras foram diluídas 1:1 em TRIS–frutose–ácido cítrico com 20% de gema de ovo sem glicerol (Hatamoto; Barnabe, 2004). Alíquotas de 3 L foram avaliadas em lâminas pré-aquecidas (37 °C), registrando-se concentração (sptz/mL), motilidade total (MOT, %), progressiva (MOTP, %), VCL (µm/s), VSL (µm/s), VAP (µm/s), ALH (µm), BCF (Hz), LIN (%) e STR (%).

Após a avaliação inicial, o sêmen diluído foi refrigerado em caixa Botuflex a 5 °C por 48 h. Em seguida, cada amostra foi dividida em três alíquotas, adicionando-se pentoxifilina nas concentrações de 0, 3 ou 6 mM. As amostras foram incubadas em banho-maria a 37 °C e avaliadas nos tempos 0, 15, 30, 45, 60, 120, 180 e 240 minutos.

Resultados e Discussão

Resultado:

A análise descritiva revelou que, a partir de 15 minutos, o grupo 6 mM apresentou aumento expressivo, atingindo MOT de 70,7 ± 17,2% e MOTP de 60,5 ± 19,4%, em contraste com o grupo controle (MOT: 53,8 ± 27,6%; MOTP: 43,6 ± 26,3%) e a dose de 3 mM (MOT: 63,9 ± 22,9%; MOTP: 53,8 ± 23,1%). Esse padrão manteve-se até 30 minutos, com valores de MOT de 70,8 ± 17,3% e MOTP de 59,1 ± 21,5%, enquanto o controle permaneceu abaixo de 52% e 41%, respectivamente.

Com o avanço do tempo, houve redução gradual da motilidade em todos os grupos, mas a dose de 6 mM sustentou médias mais elevadas, ainda que próximas das demais após 2 horas (MOT: 49,1 ± 19,7%; MOTP: 34,1 ± 19,8%). No período final (4 horas), a MOT foi de 34,3 ± 19,8% e a MOTP de 20,0 ± 17,7% no grupo 6 mM, contrastando com valores inferiores do controle (MOT: 24,3 ± 18,8%; MOTP: 12,4 ± 16,5%).

As variáveis cinéticas também refletiram o efeito da pentoxifilina. A VCL foi maior em 6 mM aos 15 min (105 ± 20,7 µm/s) e 30 min (105 ± 30,1 µm/s), enquanto o controle apresentou valores reduzidos (95,5 ± 30,8 µm/s e 91,9 ± 30,0 µm/s, respectivamente). Tendência semelhante foi observada para VSL e VAP, que se mantiveram superiores em 6 mM até 30 min. ALH e BCF também foram discretamente mais elevadas no grupo 6 mM, sugerindo maior vigor flagelar. Já LIN e STR permaneceram estáveis entre os grupos, sem diferenças marcantes.

A ANOVA indicou efeito significativo da dose de pentoxifilina sobre a MOT ($F(2,354) = 8,14$; $p < 0,001$) e MOTP ($F(2,354) = 6,78$; $p = 0,001$). O fator tempo também exerceu influência significativa (MOT: $F(7,354) = 15,96$; $p < 0,001$; MOTP: $F(7,354) = 16,44$; $p < 0,001$), enquanto a interação dose tempo não apresentou efeito significativo (MOT: $p = 0,981$; MOTP: $p = 0,993$).

As análises post hoc confirmaram que, para a MOT, a dose de 6 mM promoveu motilidade significativamente

superior ao grupo controle (diferença média: 10,97 ± 2,81%; p < 0,001), enquanto a dose de 3 mM não diferiu do controle (p = 0,014) nem de 6 mM (p > 0,5). Para a MOTP, tanto 3 mM (diferença média: 7,77 ± 2,88%; p = 0,020) quanto 6 mM (diferença média: 10,10 ± 2,87%; p = 0,001) apresentaram valores superiores ao controle, mas sem diferença entre si (p > 0,69).

Discussão

Os resultados demonstraram que a adição de pentoxifilina exerceu efeito positivo sobre a motilidade total e progressiva dos espermatozoides bovinos, especialmente na dose de 6 mM. Esse efeito foi mais evidente nos primeiros 60 minutos, quando os espermatozoides tratados apresentaram médias superiores em relação ao controle, atenuando o declínio natural da motilidade.

Esses achados corroboram Barakat et al. (2015), que relataram aumento da motilidade e da atividade mitocondrial em sêmen bovino após adição de metilxantinas. O mecanismo está associado à inibição da fosfodiesterase, com consequente aumento dos níveis intracelulares de cAMP e estímulo da motilidade espermática.

A dose de 6 mM apresentou efeito mais consistente, com diferenças significativas nos testes post hoc, sugerindo resposta dose-dependente, como indicado por Barakat et al. (2015). A dose de 3 mM, embora tenha melhorado a MOTP, mostrou efeito menos acentuado, reforçando a importância da concentração ideal para manutenção da eficiência progressiva.

Comportamento semelhante foi descrito em outras espécies: Mirshokraei et al. (2011) relataram melhora da motilidade e indução da capacitação em cães; Thamwan et al. (2017) observaram preservação da qualidade espermática em suínos; e Numabe et al. (2001) verificaram aumento das taxas de fertilização in vitro em bovinos. Tais evidências reforçam o potencial da pentoxifilina como aditivo versátil na biotecnologia da reprodução.

De forma geral, os resultados deste estudo indicam que a pentoxifilina, especialmente na dose de 6 mM, favorece a manutenção da motilidade e melhora parâmetros cinéticos, com implicações práticas em protocolos de inseminação artificial e fertilização in vitro.

Conclusão

A pentoxifilina demonstrou efeito positivo sobre a motilidade e os parâmetros cinéticos dos espermatozoides bovinos, com destaque para a dose de 6 mM, que apresentou resultados superiores e sustentados ao longo do tempo. Esses achados indicam que o fármaco pode ser uma alternativa eficaz na preservação da qualidade espermática, com potencial aplicação em protocolos de inseminação artificial e fertilização in vitro.

Referências

ABIEC. Beef Report 2024: Perfil da Pecuária no Brasil. 2024. Disponível em: https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2024-perfil-da-pecuaria-no-brasil/.

BARAKAT, I. A. H.; et al. Effect of various concentrations of caffeine, pentoxifylline, and kallikrein on hyperactivation of frozen bovine semen.

DONG, J.; et al. Pregnancy and neonatal outcomes of ICSI using pentoxifylline to identi-fy viable spermatozoa in patients with frozen-thawed testicular spermatozoa.

ESTEVES, S. C.; SPAINE, D. M.; CEDENHO, A. P. Effects of pentoxifylline treatment before freezing on motility, viability and acrosome status of poor quality human sperma-tozoa cryopreserved by the liquid nitrogen vapor method.

GOULART, H. de M.; et al. Efeitos da pentoxifilina sobre a viabilidade in vitro dos es-permatozoides de equinos, após o resfriamento a 5 °C.

IBGE. Rebanho de Bovinos no Brasil. 2024. Disponível em: https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br.

KOVAI, B.; VLAISAVLJEVI, V.; RELJI, M. Clinical use of pentoxifylline for activation of immotile testicular sperm before ICSI in patients with azoospermia.

MALAFAIA, G. C.; BISCOLA, P. H. N. Anuário CiCarne da cadeia produtiva da carne bovina.

MIRSHOKRAEI, P.; et al. Pentoxifylline induces capacitation and acrosome reaction and improves quality of motility in canine ejaculated spermatozoa

NAVAS, P.; et al. Obstetric and neonatal outcomes of ICSI cycles using pentoxifylline to identify viable spermatozoa in patients with immotile spermatozoa.

NUMABE, T.; et al. Pentoxifylline improves in vitro fertilization and subsequent deve-lopment of bovine oocytes.

THAMWAN, Chanyuth et al. Pentoxifylline Supplementation of The Extender Improve Sperm Quality of Liquid Preservation Semen in Boar.

TSUNODA, R. H.; et al. Addition of pentoxifylline to skim milk–based extender on fro-zen-thawed equine sperm.