

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TALITA ELLY TREML

O USO DA DEXAMETASONA E A FERTILIDADE DO TOURO

CURITIBA

2010

TALITA ELLY TREML

O USO DA DEXAMETASONA E A FERTILIDADE DO TOURO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Linha de Pesquisa Reprodução e Melhoramento Genético Animal, do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Romildo Romualdo Weiss.

CURITIBA

2010

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "O USO DA DEXAMETASONA E A FERTILIDADE DO TOURO" apresentada pela Mestranda TALITA ELLY TREML, declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09-CEPE/UFPR, que considerou a candidata aprovada para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 26 de fevereiro de 2010


Professor Dr. Romildo Romualdo Weiss
Presidente/Orientador


Professor Dr. Nei Moreira
Membro


Professor Dr. Rüdiger Daniel Ollhoff
Membro

A meus pais e minha irmã, por estarem sempre presentes nos bons e maus momentos de minha vida, pelo apoio, paciência, dedicação, incentivo e carinho...

À minha amiga Ana Cristina e meus amigos e colegas de trabalho pelo enorme apoio, indispensável à conclusão deste mestrado...

Ao meu grande amigo Anselmo Reynaud dos Santos, pelo apoio, dedicação, incentivo e amizade, sem os quais jamais teria conseguido chegar até aqui;

E à pessoa, cujo apoio embora recente já fez uma grande diferença, Cristiano Schmitt.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Romildo Romualdo Weiss, que além de meu Orientador foi meu grande incentivador à realização deste mestrado, e que como Orientador sempre esteve presente e disposto a me passar todo seu conhecimento com enorme presteza e responsabilidade;

Aos Médicos Veterinários Milton da Silva Nemecek e Rubem Rosso Baptista, por abrirem as portas para que este projeto pudesse ser realizado, pelo grande apoio e ajuda na realização deste e pela transmissão de conhecimentos;

À equipe do laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFPR, em especial ao técnico Olair Carlos Beltrame, pela amizade e apoio para a realização das análises bioquímicas;

À Profa. Dra. Rosana Moraes e a aluna Katlyn Barp Meyer, pela disposição e dedicação na realização das análises de Testosterona;

À minha grande amiga M.Sc. Tatiane Micheletti, a pessoa que mais entende de estatística que eu conheço, e que sem sua enorme ajuda eu estaria perdida.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	VIII
LISTA DE TABELAS.....	IX
RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	XI
INTRODUÇÃO.....	12
OBJETIVO GERAL	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA: EFEITOS DA DEXAMETASONA NA CLÍNICA MÉDICA E REPRODUTIVA.....	14
RESUMO.....	15
ABSTRACT.....	15
INTRODUÇÃO.....	16
CARACTERÍSTICAS DOS GLICOCORTICÓIDES.....	18
PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS.....	19
Propriedades Antiinflamatórias.....	20
Propriedades Imunossupressoras.....	20
EFEITOS COLATERAIS.....	21
EFEITOS NA REPRODUÇÃO.....	23
Efeitos na Reprodução das Fêmeas.....	23
Efeitos na Reprodução dos Machos.....	25
CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS.....	30
CAPÍTULO 2: O USO DA DEXAMETASONA E A FERTILIDADE DO TOURO.....	34
RESUMO.....	35
ABSTRACT.....	36
INTRODUÇÃO.....	37
MATERIAL E MÉTODOS.....	38
Animais e Manejo.....	38
Plano Experimental.....	39
Exames Reprodutivos.....	40
Exame Morfológico dos Testículos.....	40

Comportamento Sexual.....	40
Colheita do Sêmen.....	40
Avaliação do Sêmen.....	40
Análise de Testosterona.....	41
Análise de Frutose e Ácido Cítrico.....	43
Análise Estatística.....	44
RESULTADOS.....	44
DISCUSSÃO.....	51
CONCLUSÃO.....	52
REFERÊNCIAS.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Aferição visual da concentração espermática em sêmen bovino..	41
Figura 2 –	Comparação das médias dos valores de frutose e ácido cítrico entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.....	47
Figura 3 –	Comparação das médias dos valores de morfologia espermática entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.....	48
Figura 4 –	Comparação das médias dos valores de concentração de espermatozóides entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.....	48
Figura 5 –	Comparação das médias dos valores de volume e pH entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.....	49
Figura 6 –	Comparação das médias dos valores de motilidade entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.....	49
Figura 7 –	Comparação das médias dos valores de turbilhonamento e vigor entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.....	50
Figura 8 –	Comparação das médias dos valores de testosterona entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Comparação entre grupo controle (n=3) e experimental (n=3) das variáveis avaliadas por estatística paramétrica por teste ANOVA.....	45
Tabela 2 –	Comparação entre grupo controle (n=3) e experimental (n=3) pré e pós tratamento das variáveis avaliadas por estatística não-paramétrica por teste Kruskal-Wallis.....	46
Tabela 3 –	Comparação de médias e desvio padrão entre os grupos controle (n=3) e tratamento (n=3) das variáveis testadas por estatística paramétrica por meio do teste ANOVA.....	46
Tabela 4 –	Comparação de médias e desvio padrão entre os grupos controle (n=3) e tratamento (n=3) das variáveis testadas por estatística não-paramétrica por meio do teste Kruskal Wallis.....	47

RESUMO - Desde que os efeitos benéficos da cortisona foram descobertos, os esteróides adrenais e seus derivados sintéticos têm sido utilizados em larga escala e muitas vezes de maneira exagerada. A sua grande utilização se deve aos seus efeitos antiinflamatórios e imunossupressores, porém estes são acompanhados de efeitos metabólicos gerais, responsáveis pela maioria dos efeitos colaterais observados no uso crônico e/ou maciço. Já os efeitos destes medicamentos na reprodução animal são pouco conhecidos, principalmente no que diz respeito às funções sexuais dos machos. Visto que este grupo de medicamentos é de grande importância no tratamento de diversas afecções, tendo seu uso bastante amplo, torna-se necessária a investigação de possíveis interferências que o uso destes fármacos possa trazer à atividade de reprodutores. O objetivo deste estudo foi avaliar os possíveis efeitos que este grupo de medicamentos têm sobre a função sexual de touros. Para tanto foram avaliados 6 touros provenientes de uma central de inseminação de Santa Catarina, divididos em dois grupos, sendo um experimental e outro controle.

Palavras-chave: antiinflamatórios; esteróides; uso crônico; machos

ABSTRACT - Since the benefits of cortisone were discovered, the adrenal steroids and its synthetically derivable medicaments have been largely used, sometimes abused. This great utility is linked to its anti-inflammatory and immunosuppressive actions. Unfortunately, these good effects can't be separated from its collateral effects, mainly when these drugs are used for long periods of time. But these effects on animal reproduction aren't largely known, mainly about the male reproductive functions. As this group of medicaments is so important in the treatment of several affections, it become necessary an investigation of possible interferences, that the use of them can bring to the male reproduction. The aim of this study was to evaluate the possible effects that these drugs may have to the bull's sexual function. To achieve this objective six bulls from an insemination central in Santa Catarina state were evaluated and divided into two groups, one experimental and other control.

Key words: anti-inflammatory; male; steroids

INTRODUÇÃO

A dexametasona é um fármaco sintético inserido no grupo dos glicocorticóides. Estes são hormônios esteróides sintetizados a partir do colesterol na porção cortical das glândulas adrenais, os corticosteróides ou corticóides. Estes hormônios podem ser classificados como mineralocorticóides, glicocorticóides e esteróides sexuais. Os glicocorticóides são amplamente utilizados na Medicina Veterinária para o tratamento dos sinais clínicos de desordens inflamatórias, alérgicas e imunomediadas.

Estes fármacos possuem atividade antiinflamatória e imunossupressora, porém não é possível a dissociação destas duas características dos efeitos metabólicos gerais, como a ação sobre o metabolismo de carboidratos e de proteínas, mesmo em preparações sintéticas, porém nestas a atividade antiinflamatória e imunossupressora foi ampliada.

Os fármacos glicocorticóides mais utilizados são a hidrocortisona (de ação rápida), a prednisona e a prednisolona (de ação intermediária) e a dexametasona e betametasona (de ação prolongada).

Em geral, a dose imunossupressora é duas vezes maior que a dose antiinflamatória, sendo esta dez vezes maior que a dose fisiológica.

Os efeitos benéficos objetivados na terapia com glicocorticóides são pronta e seguramente atingidos. Por outro lado, sabe-se que seu uso contínuo leva ao aparecimento de inúmeros efeitos indesejáveis. Dentre estes efeitos estão a interferência na vascularização, secreção gástrica e nos mecanismos de reepitelização da mucosa; inibição da síntese de material conjuntivo, com conseqüente diminuição da espessura dérmica dificultando a cicatrização; atrofia e fraqueza muscular, devido ao seu efeito proteolítico (SPINOSA et al., 1999).

Muito se sabe a respeito das ações, indicações, efeitos colaterais e toxicidade dos glicocorticóides. Porém, há pouca informação sobre os seus efeitos na reprodução, principalmente com relação aos machos.

O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da administração de um glicocorticóide (dexametasona) sobre o comportamento sexual e características seminais do touro.

OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da administração do glicocorticóide dexametasona sobre as funções sexuais dos touros.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da dexametasona no comportamento sexual dos touros, no desenvolvimento dos órgãos genitais palpáveis, no pH do sêmen, vigor dos espermatozóides, volume do ejaculado, concentração espermática, porcentagem de espermatozóides anormais, na concentração plasmática de testosterona e na concentração de frutose e ácido cítrico no plasma seminal.

CAPÍTULO 1

**REVISÃO DE LITERATURA: EFEITOS DA DEXAMETASONA NA CLÍNICA
MÉDICA E REPRODUTIVA**

EFEITOS DA DEXAMETASONA NA CLÍNICA MÉDICA E REPRODUTIVA
(dexamethasone effects on medical and reproductive clinics)

RESUMO – A dexametasona, glicocorticóide sintético, possui inúmeras atividades. Destacam-se entre elas sua ação antiinflamatória, sendo um potente antiinflamatório esteroide de longa ação. Possui também efeito imunossupressor, e age na regulação de genes cancerígenos. Por todos estes efeitos benéficos tornou-se um fármaco amplamente utilizado na clínica tanto de seres humanos quanto de animais. Apesar de apresentar tantos benefícios, este glicocorticóide sintético causa vários efeitos colaterais, principalmente quando usado por períodos prolongados. Esta revisão tem como objetivo abordar as características da dexametasona, seus efeitos benéficos e colaterais e outras atividades, como é o caso de sua atuação na consolidação da memória e sua utilização no diagnóstico de certas afecções.

Palavras-chave: antiinflamatório; glicocorticóide; reprodução

ABSTRACT – Dexamethasone, a synthetic glucocorticoid, has many functions. One of the most important is the anti-inflammatory action. Dexamethasone is a potent long action steroidal anti-inflammatory, and it also has function as an immunosuppressant, it regulates cancer cells' genes. Because these benefits, dexamethasone has become a drug largely used in human and veterinary medicine. However, dexamethasone has side-effects when used for long period of time. The aim of this literature review is to dissert over dexamethasone drug characteristics, contraindications and side-effects, and other functions such as memory consolidation and in a diagnostic context.

Key words: anti-inflammatory; glucocorticoid; reproduction

INTRODUÇÃO

Os corticosteróides ou corticóides são hormônios esteróides sintetizados a partir do colesterol na porção cortical das glândulas adrenais. Estes hormônios podem ser classificados como mineralocorticóides, glicocorticóides e esteróides sexuais (SPINOSA et al., 1999).

Os glicocorticóides possuem atividade antiinflamatória e imunossupressora, porém não é possível a dissociação destas duas características dos efeitos metabólicos gerais, como a ação sobre o metabolismo de carboidratos e de proteínas, mesmo em preparações sintéticas, muito embora nestas a atividade antiinflamatória e imunossupressora tenha sido ampliada. Ainda assim, estes fármacos estão entre os grupos de medicamentos usados com maior frequência na Medicina Veterinária e são amplamente utilizados no tratamento de diversas condições clínicas, sendo comumente prescritos para o tratamento dos sinais clínicos de ampla variedade de desordens inflamatórias, alérgicas e imunomediadas (SPINOSA et al., 1999).

Os efeitos benéficos objetivados na terapia com glicocorticóides são pronta e seguramente atingidos. Por outro lado, sabe-se que seu uso contínuo leva ao aparecimento de inúmeros efeitos indesejáveis. Dentre estes efeitos estão a interferência na vascularização, na secreção gástrica e nos mecanismos de reepitelização da mucosa; inibição da síntese de material conjuntivo, com conseqüente diminuição da espessura dérmica dificultando a cicatrização; atrofia e fraqueza muscular, devido ao seu efeito proteolítico (SPINOSA et al., 1999).

Em indivíduos normais o produto fisiológico do estresse, os corticosteróides (cortisol em humanos e corticosterona em ratos), normalizam a atividade axial por meio de *feedback* negativo em múltiplos locais, incluindo o hipotálamo, glândula pituitária e córtex adrenal. A inibição desta ação resulta em secreção endógena e níveis anormais de glucocorticóides, o que é correlacionado com várias doenças como hipertensão, inflamação, obesidade, doenças cardíacas e diabetes (BAID e NIEMAN, 2004; WITHWORTH et al., 2005; PASQUALI et al., 2006; TOMLINSON e STEWART, 2007; TAIT et al., 2008).

Recentemente, a combinação de CRH (hormônio liberador de corticotropina) e dexametasona, provou ser 90% eficiente para diagnosticar indivíduos imunossuprimidos (VARGHESE e BROWN, 2001).

Os corticosteróides também são amplamente utilizados na Medicina em seres humanos, e são utilizados em aplicações pré-natais com a finalidade de promover a maturação pulmonar fetal em gestantes com início de trabalho de parto prematuro. Esta aplicação também tem como benefícios a redução da ocorrência em prematuros da síndrome do desconforto respiratório, da hemorragia peri e intraventricular e da mortalidade neonatal (MENEGUEL et al., 2002).

A presente revisão tem como objetivo reunir informações sobre o glicocorticóide sintético dexametasona, medicamento amplamente utilizado tanto na clínica de seres humanos como na medicina veterinária, abordando todos os seus efeitos benéficos, importantes no tratamento de diversas afecções, seus efeitos colaterais, e outras aplicações deste fármaco, enfocando suas ações na área reprodutiva.

CARACTERÍSTICAS DOS GLICOCORTICÓIDES

A função vital do córtex adrenal depende de sua produção e secreção regulada de um grupo de hormônios, todos de natureza esteróide. Demonstrou-se que no córtex adrenal existem mais de cinquenta esteróides naturais, mas que apenas poucos têm efeitos biológicos significativos. De acordo com o efeito biológico predominante, os esteróides adrenocorticais são classificados em mineralocorticóides e glicocorticóides. Estudos das propriedades químicas dos esteróides adrenocorticais demonstraram que a atividade antiinflamatória tem grande correlação com sua atividade glicocorticóide. Os efeitos colaterais indesejáveis em cães e gatos (retenção sódica, edema) são associados com a atividade mineralocorticóide (FELDMAN e NELSON, 1991).

Numerosos hormônios glicocorticóides têm sido sintetizados com a intenção de aumentar a potência antiinflamatória e reduzir a atividade mineralocorticóide (WESTERHOF e PELLICAN, 1995).

A dexametasona, glicocorticóide sintético, é o fármaco de primeira escolha para a indução de uma terapia com corticóides. Alguns clínicos preferem iniciar a terapia com dexametasona e depois substituí-la pela prednisona ou prednisolona quando a doença estiver em remissão. A dexametasona tem custo mais elevado e é o fármaco deste grupo com maior potencial de causar efeitos colaterais durante uma terapia prolongada em cães e gatos (MULLER, 1989).

Os glicocorticóides atuam na consolidação da memória, o que facilita a memorização de situações estressantes. Nesse sentido demonstrou-se que o tratamento prolongado com dexametasona promoveu uma fixação de memória clara em pacientes com desordem de estresse pós-traumático (ROHLEDER et al., 2009).

Além de todas estas atividades, este glicocorticóide também possui ação inibitória sobre a secreção e/ou atividade de algumas substâncias. Evidências experimentais demonstraram que fêmeas de *Setaria cervi*, parasitas de bovinos, contêm níveis significantes da enzima prostaglandina H sintase e que a dexametasona inibe tal enzima (RATHAUR et al., 2009).

PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS

A dexametasona mostrou-se eficaz na redução dos efeitos provocados por endotoxemia experimental em eqüinos com lipopolissacarídeos de *Escherichia coli*. Dentre estes efeitos inclui-se a temperatura retal, diminuída com a aplicação do glucocorticóide, tendo este medicamento atenuado também a neutropenia, linfopenia e leucopenia resultantes do quadro de endotoxemia (ROSA et al., 2003).

A diminuição da temperatura decorrente do uso da dexametasona pode ser devido à inibição que este medicamento faz da liberação de muitas substâncias biologicamente ativas, incluindo substâncias quimioatrativas dos leucócitos. Os corticosteróides interferem nos mediadores quimiotáticos, bloqueando o último passo de migração, retendo os neutrófilos entre o endotélio e a membrana basal (ROSA et al., 2003).

A dexametasona possui efeitos regulatórios sobre a expressão de genes de células cancerígenas mamárias e pode ser usada como tratamento de carcinomas mamários. Em comparação com outros reguladores como o acetato de medroxiprogesterona (MPA), a enzima R5020, a progesterona e a dihidrotestosterona (DHT), a dexametasona fica em segundo lugar em potência de inibição dos genes cancerígenos, sendo a ordem decrescente de inibição: MPA, dexametasona, R5020, progesterona e DHT (PENNANEN et al., 2009).

Propriedades Antiinflamatórias

Os glucocorticóides são amplamente usados pela sua atividade imunossupressiva e antiinflamatória. Esses medicamentos possuem efeito inibitório na produção e ação das citocinas (ROSA et al., 2003).

Os glicocorticóides sintéticos têm a capacidade de prevenir ou suprimir as reações inflamatórias. Eles inibem os fenômenos iniciais do processo inflamatório como a formação do edema, deposição de fibrina, migração leucocitária, dilatação capilar e atividade fagocitária. Também limitam as manifestações tardias da inflamação como a proliferação fibrocapilar, acúmulo de colágeno e cicatrização (BEVIER, 1990).

Segundo BLACKWELL (1980), estes fármacos podem impedir os neutrófilos de se aderirem às células endoteliais nas áreas de inflamação. Além disso, impedem que os neutrófilos produzam uma enzima que converte plasminogênio em plasmina, a qual facilita a migração leucocitária para as áreas inflamadas.

Devido às suas atividades antiinflamatórias, os corticosteróides têm sido usados na prevenção de displasia broncopulmonar em humanos, mas em um estudo com recém-natos de 10 a 14 dias de vida, demonstrou-se que o uso destes medicamentos, não reduziu a incidência de displasia broncopulmonar, e causou uma desaceleração no crescimento destes indivíduos (MATALOUN et al., 2005).

Propriedades Imunossupressoras

Dependendo da dose, um glicocorticóide pode ter um efeito imunossupressor sobre diferentes componentes da resposta imune em bovinos, incluindo linfopenia, eosinopenia, redução da atividade mitogênica e redução da ação citotóxica (DOHERTY et al, 1995).

De acordo com FELDMAN e NELSON (1991), quando doses altas são administradas em cães e gatos, a produção de anticorpos diminui, principalmente se for um glicocorticóide de ação prolongada.

Segundo FEKETY (1992), os glicocorticóides modificam vários aspectos do sistema imune, secundariamente a suas propriedades antiinflamatórias. Eles alteram a função dos macrófagos, monócitos e neutrófilos, deprimindo a fagocitose, respostas quimiotáticas e o ingresso dessas células até os sítios de inflamação.

Glicocorticóides causam rápida lise das células linfóides em algumas cobaias de laboratório (incluindo ratos, camundongos e coelhos), mas outras espécies animais (humanos, cães e gatos) chegam a ser resistentes a este tipo de lise (SARGISON, 1993). Segundo STUCK (1989), apesar desta resistência geral, células da leucemia linfoblástica aguda e linfomas podem ser lisados pelos glicocorticóides.

A dexametasona incita a inibição de uma molécula de adesão leucocitária poucas horas após a administração. Em um estudo com vacas que apresentavam mastite subclínica, demonstrou-se que a aplicação de glucocorticóides levou ao aparecimento de sinais clínicos, possivelmente devido à imunossupressão causada por estes medicamentos (MALLARD et al., 2009).

A aplicação de dexametasona também causa uma redução dramática na secreção de interferon- γ pelas células mononucleares e inibe a secreção de IgM pelas células B (MALLARD et al., 2009).

EFEITOS COLATERAIS

Os corticosteróides afetam o metabolismo de carboidratos, proteínas, gorduras e purinas, além de influenciar no equilíbrio hidroeletrólítico (CALVERT e CORNELIUS, 1990).

De acordo com observações de FELDMAN e NELSON (1991), os efeitos no metabolismo são geralmente de natureza catabólica.

Os níveis plasmáticos de corticosteróides também influenciam os sistemas cardiovascular e nervoso, rins, músculos esqueléticos e outros órgãos e tecidos.

Glicocorticóides promovem doença ulcerativa progressiva e hemorragia gastrointestinal por aumento da secreção de ácido e pepsina e retardo na cicatrização. Esse efeito pode ser agravado se o corticóide for associado à outra droga antiinflamatória não esteróide (BUTTERWORTH e WEAVER, 1992).

A administração prolongada de altas doses de glicocorticóides causa uma redistribuição da gordura corporal. Segundo CORAH et al. (1995), em um estudo com bovinos, o cortisol atuou no tecido adiposo facilitando a lipólise.

Hormônios glicocorticóides estimulam a síntese de proteína em alguns tecidos tais como o fígado. Em outros, o efeito é catabólico, como no caso das células linfóides e fibroblastos. Esta ação catabólica dos glicocorticóides é refletida em atrofia dos tecidos linfóides, redução da massa muscular, osteoporose, diminuição da atividade dos fibroblastos e redução da espessura dérmica (DESLER et al., 1995).

Os glucocorticóides podem causar laminite em eqüinos por meio da potencialização da ação das catecolaminas no tono vascular e imunossupressão (ROSA et al., 2003).

O uso prolongado destes fármacos no período antenatal em seres humanos levou a redução do peso ao nascimento, redução do perímetro cefálico, maior risco de óbito, infecção neonatal e supressão adrenal mais prolongada e evidente (MENEGUEL et al., 2002).

A exposição pré-natal à aplicação de dexametasona em roedores machos tratados cruzados com fêmeas controle resultou numa diminuição de peso da progênie de ambos os sexos. Já o cruzamento de fêmeas tratadas com machos controle afetou apenas os machos da progênie (DRAKE et al., 2005).

EFEITOS NA REPRODUÇÃO

Efeitos na Reprodução das Fêmeas

Os glicocorticóides induzem ao abortamento tardio, no terço final da gestação, nos ruminantes, podendo também ser utilizados para induzir o parto nestas espécies. Em vacas gestantes recomenda-se 20 mg de dexametasona ou 5 a 10 mg de flumetasona, para no mencionado período da gestação determinar o abortamento ou indução prematura do parto. Nesses animais o abortamento ou parto é induzido em até 80% dos casos, entre 2 a 4 dias após a aplicação do corticosteróide. O abortamento ocorre por contração uterina conseqüente à abrupta e intensa diminuição da concentração sangüínea de progesterona e ao aumento dos valores sangüíneos de estrógenos e prostaglandina. Na maioria dos casos, o abortamento ou parto são seguidos de retenção da placenta, fato que exigirá, para perfeito controle da evolução do caso, antibioticoterapia profilática e adequado tratamento para que não ocorram as complicações, entre as quais, destacam-se: endometrites, provocando vários graus de catarro genital e esterilidade (GRUNERT, et al., 2005).

As doses elevadas de glicocorticóides usadas para tratar transtornos imunomediados, problemas alérgicos agudos e outras afecções importantes podem levar ao aborto (AUSTAD E LUNDE, 1976).

VIGHIO e LIPTRAP (1990) demonstraram que altas doses de glicocorticóides administradas na metade do ciclo estral de vacas podem adiar o início do próximo

estro. Este atraso parece ser atribuído a uma atividade luteal prolongada. O mecanismo deste efeito não foi esclarecido.

A administração parenteral de dexametasona em vacas no período de diestro pode atrasar a transição deste período para o estro. Este atraso se dá em função da extensão do período para reiniciar o ciclo estral após a luteólise. Com isto há inibição do crescimento folicular. Há uma interferência sobre a capacidade esteroideogênica tanto do folículo em crescimento como do corpo lúteo em regressão, além de existir diminuição da secreção de gonadotropinas da pituitária anterior. A frequência e amplitude dos pulsos de LH são diminuídas inibindo o desenvolvimento dos folículos e a produção de estradiol, muito embora a produção basal de LH não seja afetada (BROUSSARD et al., 1997).

Em um trabalho feito com o objetivo de avaliar os efeitos da indução de parto com dexametasona em vacas, MALMA (1993) observou um aumento na incidência de retenção de placenta, mortalidade materna, nascimento de bezerros mortos ou extremamente fracos. Relatos não confirmados em pesquisa realizada com vacas tratadas com uma dose única de 20 mg de dexametasona, que após 265 dias de gestação, apresentaram o parto entre 36 e 47 horas após a injeção. A incidência de retenção de placenta foi de 40% e não foram observados efeitos adversos quanto à viabilidade dos bezerros, produção leiteira, fertilidade ou involução uterina (MEDINA e ULBERICH, 1997).

Há estudos que demonstram que 10 dias de tratamento com dexametasona na dose de 5 mg duas vezes ao dia ocasiona morte intra-uterina e reabsorção embrionária quando feita até os 30 dias de gestação e promove aborto se a administração for iniciada a partir dos 35 dias (FELDMAN, 1991).

Ratas expostas à administração de dexametasona no período pré-natal apresentaram queda no peso da progênie, e a aplicação de dexametasona nesta mesma espécie no útero não gravídico, teve como consequência uma progênie de baixo peso ao nascimento, intolerância à glucose, e altos níveis de produção hepática de glucose, normalizando-se a partir da terceira geração (DRAKE et al., 2005).

Nos casos de hidropsia, a dexametasona na dose de 20 a 40mg, juntamente com a prostaglandina F_{2α}, é utilizada com sucesso no tratamento desta afecção. A hidropsia é o acúmulo anormal de líquido seroso em tecidos ou cavidades, e pode ocorrer durante a prenhez na cavidade alantóica ou amniótica, na membrana corioalantóica da placenta, ou no feto propriamente. A dexametasona, juntamente com a prostaglandina usada nestes casos, tem como finalidade a indução do parto em 24 a 48 horas (MOMONT, 2005).

Em ratas demonstrou-se que este glicocorticóide inibe a produção da segunda isozima da enzima ciclooxigenase (COX), enzima esta importante na formação de prostaglandina (BROUSSARD et al., 1997).

A dexametasona mimetisa os efeitos do cortisol na supressão da reponsividade da pituitária ao GnRH (BREEN e KARSCH, 2006).

Efeitos na Reprodução dos Machos

TAHA et al. (1981) mostraram que injeções de betametasona na dose de 2 mg aplicadas duas vezes por semana em dois machos Beagle causaram alterações nas características seminais logo no primeiro dia de tratamento, com redução no volume do ejaculado, na concentração de espermatozóides e na concentração de testosterona plasmática. Não houve alteração significativa na motilidade espermática

e em um dos animais houve aumento no número de espermatozóides anormais. Como resultado da supressão da secreção de gonadotropinas, observou-se um declínio na testosteronemia e nos níveis de FSH plasmático, com conseqüente atrofia testicular, ausência de libido, oligospermia e infertilidade no cão.

O trabalho de FELDMAN e NELSON (1991) revelou que a medicação com corticóides no cão leva à oligospermia pela supressão do FSH e LH, efeito este reversível logo após a interrupção da medicação.

O tratamento com este glicocorticóide sintético durante 21 dias em cães, com doses iniciais de 0,5 mg/kg, reduzida a 0,25 mg/kg e então para 0,125 mg/kg, não teve efeito na libido e na morfologia externa dos órgãos reprodutivos. Também não houve efeito no aspecto do sêmen e no vigor dos espermatozóides, e na porcentagem dos espermatozóides anormais no ejaculado. Entretanto, houve uma redução significativa no volume do ejaculado, na concentração espermática e no número total de espermatozóides no ejaculado, assim como na concentração de testosterona (WEISS et al., 2001).

A administração oral de vitamina E em cães superou os efeitos negativos na qualidade do sêmen que o tratamento com dexametasona (para mimetizar estresse) induziu (HATAMOTO et al., 2006).

Em um estudo com seis touros, nos quais foram injetadas 20 mg de dexametasona, realizando-se dosagem de testosterona e LH em intervalos de meia hora, por seis horas consecutivas, dois dias antes e dois dias após a aplicação, constatou-se que as taxas de LH decresceram rapidamente após a aplicação, e as taxas de testosterona sofreram um pico imediatamente após a aplicação e esses níveis caíram a concentrações baixas até quatro horas após a injeção. Concluiu-se que a dexametasona suprime a secreção de testosterona. Também diminui a

liberação de LH e indiretamente reduz a síntese e/ou liberação de testosterona (THIBIER et al., 1976).

A aplicação de 20mg de dexametasona altera a resposta da aplicação de LH-RH, provocando um aumento menor nas concentrações de androstenediona em touros da raça Holandesa (CHANTARAPRATEEP et al.; 1981).

BOLY et al. (1994) observaram que a administração de 20 mg de dexametasona intra-muscular diminui drasticamente as concentrações de LH e testosterona em touros.

HORN et al. (1999) induziram degeneração testicular experimental por meio de aplicação de 20 mg de dexametasona durante sete dias consecutivos em touros de uma raça taurina pura (Aberdeen Angus) e de sua sintética derivada (Brangus-Ibagé) com o objetivo de averiguar o comprometimento da espermatogênese e o tempo de recuperação entre estas duas raças. Demonstraram que a aplicação de dexametasona levou a um decréscimo qualitativo significativo no aspecto do ejaculado, turbilhonamento e vigor dos espermatozóides. As médias de motilidade e espermatozóides normais apresentaram decréscimo já no segundo dia após o início do tratamento. A recuperação do quadro normal se deu no 44º dia do início da aplicação do corticóide, mas não houve diferenças entre os dois grupos.

Em um estudo realizado com ovinos, o uso da dexametasona em aplicações semanais por três semanas, levou a um aumento no volume do ejaculado, aumento da motilidade em massa e motilidade individual. Não se observou diferença significativa na concentração espermática e na concentração plasmática de testosterona (ALKASS, 2009).

TOHEI et al. (1997) demonstraram que ratos machos tratados com dexametasona apresentaram um declínio nos níveis plasmáticos de testosterona e inibina, mas o mesmo não ocorreu com os níveis de LH e FSH.

Em roedores o estresse materno pré-natal pode desmasculinizar e feminilizar o comportamento sexual adulto da progênie, efeito este que pode ser simulado com a aplicação pré-natal de ACTH e dexametasona. Tal estresse resulta numa diminuição da ação da 3β -hidroxiesteróide desidrogenase nos testículos fetais e reduz a concentração basal de testosterona nos machos adultos (FERIN, 2006).

O aumento do cortisol em humanos e de corticosterona em roedores, resultado de situações de estresse, predispõe a problemas de saúde como hipertensão e disfunções reprodutivas na vida adulta. O estresse induzido em fêmeas de roedores resultou numa queda de peso da ninhada ao nascimento, e um encurtamento da distância anogenital nos machos. Alterações no comportamento sexual dos machos adultos também foi correlacionado com a administração pré-natal de dexametasona, sendo que o excesso do nível de glicocorticóides sanguíneo pode ser uma das causas da síndrome da disgenesia testicular (HU et al., 2009).

A dexametasona é capaz de diminuir o comportamento agressivo de machos de marsupiais até dois meses antes da temporada de acasalamento, por inibir a secreção de cortisol. Mas durante a temporada, esta inibição não tem mais efeito. Este glicocorticóide também é capaz de reduzir os níveis de testosterona no mesmo período, mas não quando o nível deste hormônio está próximo de seu pico (WINGFIELD, 2006).

CONCLUSÃO

A dexametasona, glucocorticóide sintético, é um fármaco de ampla utilização no tratamento de uma grande variedade de afecções, seja por suas atividades antiinflamatórias e imunossupressoras, como por sua capacidade de regular genes cancerígenos, ou na reprodução animal como indutor de parto. Entretanto também traz uma série de efeitos colaterais, principalmente quando é utilizado em períodos prolongados. Por essas razões é importante o estudo e o conhecimento de todos os efeitos da dexametasona, sejam eles benéficos ou colaterais, para que o uso deste medicamento seja feito de maneira racional e com o sucesso esperado. Nesta revisão sentiu-se falta de maior número de estudos envolvendo os efeitos da dexametasona na reprodução animal, principalmente no que diz respeito aos machos, sendo que as poucas pesquisas nesta área ainda estão um pouco defasadas. Mostra-se assim, a necessidade de desenvolver pesquisas sobre o efeito da dexametasona na fertilidade de machos.

REFERÊNCIAS

ALKASS, Z.M.Y. The effect of the dexamethasone on sperm characteristic and testosterone level on Awassi rams. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 8, n. 3, p. 598-602, 2009.

AUSTAD, R.; LUND, A. Peripheral plasma levels of estradiol in the bitch after dexamethasone treatment. **Journal of Endocrinology**, p. 102, 1976.

BAID, S.; NIEMAN, L.K. Glucocorticoid excess and hipertension. **Current hipertension**, v. 6, p. 493-199, 2004.

BEVIER, D.E. Atopic dermatitis in dogs. **Veterinary Clinics of North America**, v. 20, p. 7-10, 1990.

BLACKWELL, G.J. Glucocorticoids. **Nature**, v. 287, p. 147-149, 1980.

BOLY, H.; HUMBLLOT, P.; TILLET, Y. Imunohistochemistry of LH and FSH secreting cells and response of plasma LH and testosterone to combined dexamethasone and GnRH treatment. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 100, p. 157-162, 1994.

BUTTERWORTH, S.J.; WEAVER, B.M.Q. Drug combination side effects. **Veterinary Records**, v. 130, p. 251-252, 1992.

BREEN, K.; KARSCH, F.J. New insights regarding glucocorticoids, stress and gonadotropin suppression. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 27, p. 233-245, 2006.

BROUSSARD, J.R.; ROCHA, A.; SIROIS, J.; ROUSSEL, J.D.; THIBODEAUX, J.K.; GODKE, R.A.; HANSEL, W. [1997]. Effects of dexamethasone administration to diestrus cows on systemic progesterone, estrogen and uterine cicloxygenase production. **Animal Reproduction Science**, v. 47, p. 263-271, 1997.

CALVERT, C.A.; CORNELIUS, L.M. The most common indications for using corticosteroid hormones in veterinary practice. **Veterinary Medicine**, v. 82, p. 826-831, 1990.

CHANTARAPRATEEP, P.; THIBIER, M. Plasma antrostenedione after injections of dexamethasone and luteinizing hormone releasing hormone in young post-pubertal bulls. **Theriogenology**, v. 4, n. 1, p.1-8. 1981.

CHENOWETH, P.J. Libido and mating ability in bulls. In: Morrow D.A. **Current therapy in theriogenology**, p. 342-344. Philadelphia, W. B. Saunders, 1980.

CORAH, T.J.; TATUM, J.D.; MORGAN, J.B. Effects of a dexamethasone implant on deposition of intramuscular fat in genetically identical cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 3310-3316, 1995.

DESLER, M.M.; JONES, S.J.; SMITH, C.N.; WOODS, T.L. Effects of dexamethasone and anabolic agents on proliferation and protein synthesis and degradation. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 3310-3316, 1995.

DOHERTY, M.L.; BASSETT, H.F.; QUINN, P.J.; DAVIS, W.C. Effects of dexamethasone on cell-mediated immune responses in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, p. 1300-1306, 1995.

DRAKE, A.J.; WALKER, B.R.; SECKEL, J.R. Intergenerational consequences of fetal programming by in utero exposure to glucocorticoids in rats. **American Journal of Physiology**, v. 288, p. 34-38, 2005.

FEKETY, R. Infections associated with corticosteroids and immunosuppressive therapy. **Infectious Diseases**. Philadelphia, W. B. Saunders, 1992.

FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W. **Endocrinologia y Reproducción canina y felina**, p. 245-256. Philadelphia, W. B. Saunders, 1991.

FERIN, M. [2006]. Stress and the reproductive system. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**, v. 3, p. 2627-2696, 2006.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E.H.; VALE, W.G. **Patologia e Clínica da Reprodução dos Animais Mamíferos Domésticos**. São Paulo: Livraria Varela, 2005. p. 541.

HATAMOTO, L.K.; SOBRINHO, B.C.A.; NICHI, M.; BARNABE, V.H.; BARNABE, R.C.; CORTADA, C.N.M. Effects of dexamethasone treatment (to mimic stress) and vitamin E oral supplementation on the spermogram and on seminal plasma spontaneous lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in dogs. **Theriogenology**, v. 66, p. 1610-1644, 2006.

HORN, M.M.; MORAES, J.C.F.; GALINA, C.S. Qualidade do sêmen de touros das raças Aberdeen Angus e Brangus-Ibagé em frente à degeneração testicular experimental induzida por dexametasona. **Ciência Rural**, v. 29, n. 3, 1999.

HU, G.; LIAN, Q.; GE, R.; HARDY, D.; LI, X. Phthalate-induced testicular dysgenesis syndrome: Leydig cell influence. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 20, n. 3, p. 139-145, 2009.

KRAUSE, B. Untersuchungen am Bullensperma unter Berücksichtigung der Vertilitätsdiagnostischen Bedeutung der Befunde. **Tese de Docência**, Tierärztliche Hochschule Hannover, 165 p., 1966.

MALLARD, B. A.; McBRIDE, B.W.; KEHRLI, M.E.; COUSSENS, P.M. [2009]. Bovine immunophysiology and genetics: A review of the research and career of Jeanne L. Burton. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 128, p. 96-103, 2009.

MALMA, J. Calving induction. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, p. 225-238, 1993.

MATALOUN, M.M.G.B; LEONE, C.R.; GIBELLI, M.A.C.; VAZ, F.A.C. Effects of corticosteroids in very low birth weight newborns dependent on mechanic ventilation. **Clinics**, v. 60, n.2, 2005.

MEDINA, L.; ULBERICH, J.M. Evaluation of a method to control the time of parturition in dairy heifers. **Veterinaria Argentina**, v. 14, p. 669-676, 1997.

MENEGUEL, J.F.; GUINSBURG, R.; MYIOSHI, M.H.; PERES, C.A.; KOPELMAN, B.I.; CAMANO, L. Corticosteróide Antenatal: Ciclo único versus múltiplo –

comparação de resultados. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 24, n. 8, 2002.

MOMONT, H. [2005]. Bovine reproductive emergencies. **Veterinary Clinics**, v. 21, p. 711-727, 2005.

MULLER, G.H. Immunologic disease. **Small Animal Dermatology**. Philadelphia, W.B. Saunders, 1989.

PASQUALI, R.; VICENNATI, V.; CACCIARI, M.; PAGOTTO, U. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in obesity and the metabolic syndrome. **Academic Science**, v. 1083, p. 111-128, 2006.

PENNANEN P.T.; SARVILINNA, N.S.; PURMONEN, S.R.; YLIKOME, T.J. Changes in protein tyrosine phosphatase type IVA member 1 and zinc finger protein 36 C3H type-like 1 expression demonstrate altered estrogen and progestin effect in medroxyprogesterone acetate-resistant and estrogen independent breast cancer cell models. **Steroids**, v. 74, p. 404-409, 2009.

RATHAUR, S.; SINGH, A.; YADAV, M.; RAI, R. Evidence for the presence of Prostaglandin H Synthase like enzyme in female *Setaria cervi* and its inhibition by diethylcarbamazine. **Acta Tropica**, v. 2, p. 1-32, 2009.

ROHLEDER, N.; WOLF, J.M.; KIRSCHBAUM, C.; WOLF, O.T. [2009]. Effects of cortisol on emotional but not on neutral memory are correlated with peripheral glucocorticoid sensitivity of inflammatory cytokine production. **International Journal of Psychophysiology**, v. 72, p. 74-80, 2009.

ROSA, P.C.S.; PEIRÓ, J.R.; CAMPEBELL, R.S.; VALADÃO, C.A.A.; BECHARA, C.H. [2003]. Efeitos do diclofenaco e da dexametasona na endotoxemia experimental em eqüinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 3, 2003.

SARGISON, N.D. Response to corticosteroid therapy in a case of sporadic bovine leukosis. **Veterinary Record**, v.132, p. 485-486, 1993.

SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, 2ª ed., p. 227-237, 1999.

STUCK, A.E. Risk of infectious complications in patients taking glucocorticoids. **Veterinary Infectious Disease**, v. 11, p. 954-963, 1989.

TAHA, M.B.; NOAKS, D.E.; ALLEN, W.E. The effect of some exogenous hormones on seminal characteristics, libido and peripheral plasma testosterone concentrations in the male Beagle. **Journal of Small Animal Practice**, v.22, p. 587-595, 1981.

TAIT, A.S.; BUTTS, C.L.; STERNBERG, E.M.; The role of glucocorticoids and progestins in inflammatory, autoimmune, and infectious disease. **Leukocytic Biology**, v. 24, p. 924-931, 2008.

THIBIER, M.; ROLLAND, O. The effect of dexamethasone on circulating testosterone and luteinizing hormone in young postpubertal bulls. **Theriogenology**, v. 5, n. 2, p. 53-60, 1976.

TOHEI, A.; TOMABECHI, T.; MAMADA, M.; AKAIM, M. Effects of repeated stress on the hypothalamic-pituitary-testes axis in adult rats. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.59, p. 329-334, 1997.

TOMLINSON, J.W.; STEWART, P.M. Modulation of glucocorticoid action and treatment of type-2 diabetes. **Best Practice Resident Clinical Endocrinological Metabolism**, v. 21, p. 607-619, 2007.

VARGHESE, F.P.; BROWN, E.S. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in major depressive disorders: a brief primer for primary care physicians. **Prime Care Companion**, v. 3, p. 151-155, 2001.

VIGHIO, G.H.; LIPTRAP, R.M. Plasma hormone concentrations after administration of dexamethasone during the middle of the luteal phase in cows. **American Journal of Veterinary Research**, v. 51, p. 1711-1714, 1990.

WEISS, R.R.; AMARAL, M.C.; MESSIAS, C. The effect of dexamethasone on dog fertility. **Archives of Veterinary Science**, v.6, n. 1, p. 26, 2001.

WESTERHOF, I.; PELLICAN, C.H. Effects of different applications routes of glucocorticoids on the pituitary-adrenocortical axis in pigeons. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 9, p. 175-181, 1995.

WINGFIELD, J.C. [2006]. Communicative behaviors, hormone-behavior interactions, and reproduction in vertebrates. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**, v. 3, p. 1996-2040, 2006.

WITHWORTH, J.A.; WILLIANSON, P.M.; MANGOS, G.; KELLY, J.J. Cardiovascular consequences of cortisol excess. **Vascular Health Risk Management**, v. 1, p. 291-299, 2005.

CAPÍTULO 2

O USO DA DEXAMETASONA E A FERTILIDADE DO TOURO

O USO DA DEXAMETASONA E A FERTILIDADE DO TOURO
(use of dexamethasone and the fertility of the bull)

RESUMO - A dexametasona, antiinflamatório esteroidal sintético de longa ação, é amplamente utilizada no tratamento de afecções inflamatórias, alérgicas e imunomediadas. Além destas ações, os antiinflamatórios esteroidais também possuem atividade hiperglicemiante, efeito sobre o metabolismo protéico e lipídico, promovem retenção de sódio, excreção de potássio e expansão do volume extracelular, levam ao incremento da diurese e agem sobre o metabolismo do cálcio. Na área reprodutiva podem levar a aborto, retenção de placenta, disfunções do ciclo estral e redução da fertilidade de machos. O objetivo deste estudo foi o de avaliar os efeitos da dexametasona na reprodução de touros. Para tanto avaliou-se a atividade sexual de 6 touros divididos em dois grupos, sendo um experimental que recebeu dexametasona, e outro controle. A função reprodutiva destes animais foi avaliada durante duas espermatogêneses, sendo uma antes e uma após a aplicação do medicamento. Sobre as funções avaliadas, libido, morfologia dos testículos, níveis de frutose e ácido cítrico no plasma seminal, níveis de testosterona sangüínea, volume e pH do ejaculado, concentração de espermatozóides no ejaculado, motilidade, turbilhonamento, vigor e defeitos morfológicos dos espermatozóides, não foi observada qualquer alteração significativa com o uso da dexametasona.

Palavras-chave: antiinflamatório; esteróide; machos; reprodução

ABSTRACT – Dexamethasone, a long action steroidal anti-inflammatory, is largely used on treatment of inflammatory, allergic and immunomediated diseases. Besides these actions, steroidal anti-inflammatory have hyperglycemic activity, effect on protein and lipid metabolism, promote sodium retention, potassium excretion, and expand the extracellular volume. Besides they also have a diuretic effect. In the reproductive area, this drugs can cause abortion, placenta retention, dysfunctions of the estral cycle, and decrease on male fertility. The aim of this study was to evaluate the effect of dexamethasone on bull's fertility. In order to achieve this goal the sexual activity of six bulls was evaluated. These animals were divided into two groups. One of these groups received dexamethasone. The other group was taken as control. The evaluation of the sexual activity was made during the period of two spermatogenesis, one before and one after the treatment with dexamethasone. Above the functions evaluated, libido, testicles morphology, biochemistry of seminal plasma, blood testosterone, volume and pH of the ejaculate, vigor and morphological defects of the spermatozoids, wasn't observed any significantly effect with the use of dexamethasone.

Key words: anti-inflammatory; male; reproductive; steroidal

INTRODUÇÃO

Os hormônios esteróides são produzidos na porção cortical das glândulas adrenais, glândulas estas presentes em todos os animais vertebrados. Estes hormônios podem ser classificados em mineralocorticóides, glicocorticóides e esteróides sexuais. Os mineralocorticóides interferem na manutenção do equilíbrio hídrico e eletrolítico. Os glicocorticóides afetam o metabolismo de carboidratos e proteínas, e possuem atividade antiinflamatória e imunossupressora. Nos esteróides de ocorrência natural os efeitos mineralocorticóides e glicocorticóides estão associados em maior ou menor escala. Devido às atividades antiinflamatórias e imunossupressoras dos glicocorticóides, estes se tornaram medicamentos amplamente utilizados tanto na medicina como na medicina veterinária para o tratamento de desordens inflamatórias, alérgicas e auto-imunes. Porém estes efeitos benéficos não podem ser dissociados dos efeitos colaterais como hiperglicemia, retenção de sódio, aumento da excreção de potássio, alteração no metabolismo de carboidratos, proteínas e gorduras entre outros. Para minimizar estes efeitos indesejáveis e potencializar as atividades benéficas dos glicocorticóides foram desenvolvidas preparações sintéticas, sendo uma destas a dexametasona, um glicocorticóide sintético de longa ação (SPINOSA et al., 1999).

Na reprodução o uso da dexametasona tem dentre outras funções combater desordens inflamatórias, determinar abortamento ou indução do parto.

Em ruminantes os medicamentos à base de corticóides causam abortamento no terço final de gestação. Isto ocorre por contração uterina conseqüente à abrupta e intensa diminuição da concentração sangüínea de progesterona e ao aumento dos valores de estrógeno e prostaglandina (GRUNERT et al., 2005). Porém o uso destes

medicamentos para abortamento ou indução de parto pode levar à ocorrência de retenção de placenta (MALMA, 1993).

Em cães machos demonstrou-se que a aplicação de dexametasona leva à redução do volume do ejaculado, concentração espermática e no número total de espermatozoides do ejaculado, assim como diminuição dos níveis de testosterona sanguínea (WEISS et al., 2001). Porém ainda existem poucos estudos a respeito da influência que o uso da dexametasona possa trazer à fertilidade de machos. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos que este fármaco pode ter sobre a fertilidade de touros.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e Manejo

Foram utilizados 6 touros, sendo 4 touros da raça Jersey, 1 da raça Nelore e 1 da raça Red Angus. Os mesmos possuíam peso aproximado de 600kg e idade em torno dos 5 anos. Estes animais são provenientes de uma Central de Inseminação do sul do Brasil, cujo nome será mantido em sigilo por se tratar de um estabelecimento comercial.

Todos os animais foram submetidos à avaliação clínica e andrológica, vacinados e vermifugados anteriormente ao início do trabalho.

Durante o experimento, os animais foram alimentados com ração balanceada, pastoreio em piquetes individuais e sal mineral *ad libitum*.

Plano Experimental

O experimento foi conduzido no período de 22/04/2008 a 12/08/2008, durante 18 semanas, tempo correspondente a duas espermatogêneses, e dividido em dois períodos, preliminar e experimental.

Durante a fase preliminar, foi colhido um ejaculado de cada touro uma vez por semana, por um período de 9 semanas, com o objetivo de avaliar o seu perfil seminal durante uma espermatogênese. Os exames bioquímicos foram realizados semanalmente durante cinco semanas. Também foram realizadas colheitas de amostras de sangue dos animais para dosagem de LH e testosterona sangüínea. Esta colheita foi realizada semanalmente durante quatro semanas, posteriormente se realizou esta colheita durante quatro dias consecutivos até o primeiro dia de aplicação de dexametasona.

A fase experimental foi iniciada com a divisão dos animais em dois grupos compostos por três indivíduos cada grupo, sendo um experimental e outro controle. O grupo experimental recebeu aplicações diárias de 20 mg dexametasona I.M durante cinco dias, e o grupo controle recebeu aplicações equivalentes de solução salina 0,9%. De ambos os grupos foi colhido um ejaculado de cada touro uma vez por semana, durante 9 semanas para avaliação do perfil seminal. Os exames bioquímicos do sêmen foram realizados por mais 10 semanas. Para dosagem de testosterona sangüínea nos animais na fase experimental, foram realizadas colheitas de sangue durante os cinco dias correspondentes às aplicações de dexametasona.

Exames Reprodutivos

Exame Morfológico dos Testículos

Durante o experimento, foram realizados exames físicos semanais do aparelho genital em todos os touros. Os testículos foram explorados sistemática e sucessivamente, por meio de palpação manual e inspeção visual, para verificação de tamanho, consistência e simetria.

Comportamento Sexual

Os animais foram avaliados quanto ao comportamento sexual pela classificação da libido (CHENOWETH, 1980) com escore variando de 0 a 6, com este representando o valor máximo da libido.

Colheita do Sêmen

O sêmen foi colhido por meio de vagina artificial modelo Hannover.

Avaliação do Sêmen

As amostras de sêmen foram avaliadas imediatamente após a colheita. As características avaliadas foram: volume, pH, turbilhonamento, vigor, motilidade, concentração, e morfologia espermática.

O volume foi avaliado pela verificação do tubo de ensaio coletor graduado de 0 a 10 ml.

O pH foi aferido por meio de fitas indicadoras de pH.

O vigor foi classificado de 0 a 3, sendo 0 = ausência de motilidade, 1 = pouca força de deslocamento, 2 = força de deslocamento moderada e 3 = força de deslocamento rápida.

A motilidade foi avaliada de maneira subjetiva, em gota pendente entre lâmina e lamínula, previamente aquecidas a 38°C, observada no microscópio em aumento de 400 vezes.

A concentração espermática foi aferida por meio de tubo graduado, sendo a leitura efetuada em tabela própria.

Figura 1 – Aferição visual da concentração espermática em sêmen bovino.



A avaliação da morfologia dos espermatozóides foi realizada em esfregaço celular de sêmen, previamente conservado em formol salina, utilizando-se microscopia de contraste de fase.

Análise de Testosterona

O sangue proveniente da colheita foi centrifugado e o soro congelado até o momento da análise, realizada no laboratório de Fisiologia da Reprodução Animal da Universidade Federal do Paraná.

A dosagem foi realizada pelo método de enzima-imuno-ensaio (ELISA - *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*), com leitura de absorvância em 405 nm, conforme descritos por BROWN *et al.* (2004).

Para este ensaio inicialmente 66,7µl do anticorpo (Polyclonal anti-testosterona R156/7, Coralie Munro, University of California, Davis, EUA.) foram diluídos em 5 ml

de tampão (*coating buffer*, Na_2CO_3 , NaHCO_3 , H_2O ultra pura, pH ajustado para 9,6) e $50\mu\text{l}$ desta solução de anticorpo foram adicionados em cada poço da placa (NUNC Immuno TM plates, Maxisorp). Após isso, a placa foi coberta com selador plástico e mantida a 4°C por 12 horas no máximo.

Uma vez preparada a placa, preparou-se a curva padrão, por meio de diluições seriadas de $250\mu\text{l}$ do padrão de concentração $600\text{ pg}/50\mu\text{l}$ de testosterona (17-hydroxy-4-androsten-3-one, Steraloids, Sigma A6950) até a concentração de $2,3\text{ pg}/50\mu\text{l}$, em $250\mu\text{l}$ de solução de ensaio de ELISA (NaH_2PO_4 ; Na_2HPO_4 ; NaCl ; BSA - Sigma Aldrich, A7906; H_2O ultra pura, pH ajustado para 7,00). O hormônio conjugado com a enzima HRP (Testosterone-horseradish Peroxidase) foi também diluído ($33,3\mu\text{l}$ em 5 ml da solução de ensaio de ELISA).

Imediatamente antes de dar início ao ensaio, a placa foi lavada 5 vezes com a solução de lavagem (NaCl ; Tween 20 – Sigma, P1379; H_2O ultra pura) e o excesso de solução é retirado batendo-se a placa em papel toalha. A seguir, em cada poço correspondente foram pipetados $50\mu\text{l}$ dos padrões, controles e amostras e logo após $50\mu\text{l}$ da HRP, com o cuidado de não se ultrapassar mais que 10 minutos neste processo. A placa foi novamente coberta com o selador e deixada incubando por exatamente 1 hora, em temperatura ambiente. Após esse período foi repetido o procedimento de lavagem.

Finalmente, preparou-se, imediatamente antes do uso, a solução de substrato para ELISA combinando $40\mu\text{l}$ $0,5\text{M H}_2\text{O}_2$, $125\mu\text{l}$ 40 mM ABTS (Calbiochem, ABTS^{TM} Chromophore, Diammonium Salt) e $12,5\text{ ml}$ de solução de substrato para ELISA (ácido cítrico; H_2O ultra pura, pH ajustado para 4,00). Adicionou-se $100\mu\text{l}$ em todos os poços contendo padrão, controle ou amostra. Cobriu-se a placa, para incubar em temperatura ambiente e sob agitação (Multi-Pulse Vortexer; modelo 099A VB4,

50/60Hz – Glass-Col®), até que a densidade óptica dos poços zero fique entre 0.9 e 1.1. Procedeu-se então a leitura no leitor de microplacas (TECAN).

Todas as amostras foram lidas em duplicata, com coeficiente de variação intra e inter-ensaio menor do que 10%.

Análise de Frutose e Ácido Cítrico

A amostra de sêmen foi centrifugada e o plasma foi congelado até o momento da análise. Esta foi realizada no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFPR. Para tanto foi utilizado *kit* para aferição de componentes bioquímicos do sêmen e a leitura realizada em espectrofotômetro.

A determinação de ácido cítrico se baseia no desenvolvimento de uma coloração amarela originada quando o ácido cítrico reage com a piridina e anidrido acético. Para a realização do teste pipetou-se 0,5ml de água deionizada para os tubos branco, teste e padrão, 25µL de plasma seminal para os tubos teste e 25µL de solução padrão (frutose 300mg/dL, ácido cítrico 300mg/dl e ácido benzóico 0,1%) para o tubo padrão. Colocou-se os tubos em banho de gelo por dois minutos. Ainda no banho pipetou-se 0,6ml de piridina para os tubos branco, teste e padrão. Foi realizada então homogeneização. Posteriormente pipetou-se 2,5ml de anidrido acético para todos os tubos. Homogeneizou-se e manteve-se no banho por mais dois minutos. Depois os tubos foram transferidos para o banho-maria a 37°C e incubados por cinco minutos. Posteriormente efetuou-se as leituras em 420nm (filtro azul). O resultado foi calculado dividindo-se a absorbância do teste pela absorbância do padrão, sendo este valor multiplicado por 300.

A determinação da frutose baseia-se na reação de Selivanoff, que provoca a transformação da frutose em furfural, que junto com o resorcinol produz uma

coloração rosa. O procedimento foi realizado pipetando-se 0,5ml de água deionizada para os tubos branco, teste e padrão, 25µL de plasma seminal para os tubos teste, 25µL de solução padrão (frutose 300mg/dL, ácido cítrico 300mg/dl e ácido benzóico 0,1%) para o tubo padrão, 0,5ml de reagente de cor (resorcinol 0,1%, tiouréia 0,1% e etanol 100%) para todos os tubos e 2,5ml de reagente ácido (ácido clorídrico 55%) também para todos os tubos. Homogeneizou-se e colocou-se em banho fervente por cinco minutos. Os tubos foram esfriados e as leituras realizadas em 530nm (filtro verde). O resultado foi calculado dividindo-se a absorbância do teste pela absorbância do padrão, sendo este valor multiplicado por 300.

Análise Estatística

Os resultados de frutose, ácido cítrico, porcentagem de defeitos morfológicos e concentração foram submetidos à análise estatística paramétrica por meio do teste ANOVA (Análise de Variância) para comparar os grupos tratamento e controle. Já os valores encontrados para testosterona, volume, pH, motilidade, turbilhonamento e vigor foram submetidos a estatística não-paramétrica por se tratarem de valores não normais ou não homogêneos, sendo avaliados pelo teste de Kruskal-Wallis para os mesmos grupos. Para ambos os testes foi utilizado um alfa de 0,05 (diferenças significativas = $p < 0,05$).

RESULTADOS

Durante os quatro meses que compreenderam o experimento, incluindo o período pré e pós tratamento, não houve alteração no comportamento sexual dos touros avaliados, sendo a libido dos mesmos mantida em pontuação 6, segundo a classificação de CHENOWETH, 1980, representando o valor máximo da libido.

Também não houve nenhuma alteração na morfologia dos testículos, sendo a consistência, tamanho e simetria mantidos desde o início até o final do estudo.

Para as variáveis, frutose, ácido cítrico, concentração e morfologia, avaliadas por estatística paramétrica pelo teste de ANOVA, não houve diferença estatística entre os grupos controle e experimental pré e pós tratamento.

Tabela 1 – Comparação entre grupo controle (n=3) e experimental (n=3) das variáveis avaliadas por estatística paramétrica por teste ANOVA.

Variáveis	Controle X Experimental
Frutose (ng/dL)	0,434062 ^a
Ácido Cítrico (ng/dL)	0,551094 ^a
Concentração	0,778565 ^a
Morfologia (%)	0,761880 ^a

^aNão existe diferença significativa para as variáveis testadas

Para as variáveis, volume, pH, motilidade, turbilhonamento, vigor e testosterona, avaliadas por estatística não paramétrica pelo teste Kruskal-Wallis, houve diferença significativa apenas para uma das variáveis testadas.

Tabela 2 - Comparação entre grupo controle (n=3) e experimental (n=3) pré e pós tratamento das variáveis avaliadas por estatística não-paramétrica por teste Kruskal-Wallis.

Variáveis	Controle X Experimental
Volume (mL)	0,663500 ^a
pH	0,113495 ^a
Motilidade	0,529660 ^a
Turbilhonamento	0,198710 ^a
Vigor	0,358605 ^a
Testosterona (ng/mL)	0,00740 ^b

^a Não existe diferença significativa para as variáveis testadas.

^b Existe diferença significativa para a variável testada.

Comparando-se as médias entre os grupos, pré e pós tratamento observamos esta homogeneidade de valores.

Tabela 3 – Comparação de médias e erro padrão entre os grupos controle (n=3) e tratamento (n=3) das variáveis testadas por estatística paramétrica por meio do teste ANOVA.

Variáveis	Pré Tratamento				Pós Tratamento			
	Controle		Experimental		Controle		Experimental	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
Frutose	339,05	31,04	278,77	30,55	422,06	29,34	412,82	28,97
Ácido Cítrico	715,66	55,06	597,81	68,19	889,05	47,85	722,81	42,49
Concentração	1269,67	89,06	1418,14	66,96	1464,23	61,96	1445,03	60,04
Morfologia (%)	10	0,92	8	0,83	6	0,61	7	0,54

*EP= Erro Padrão

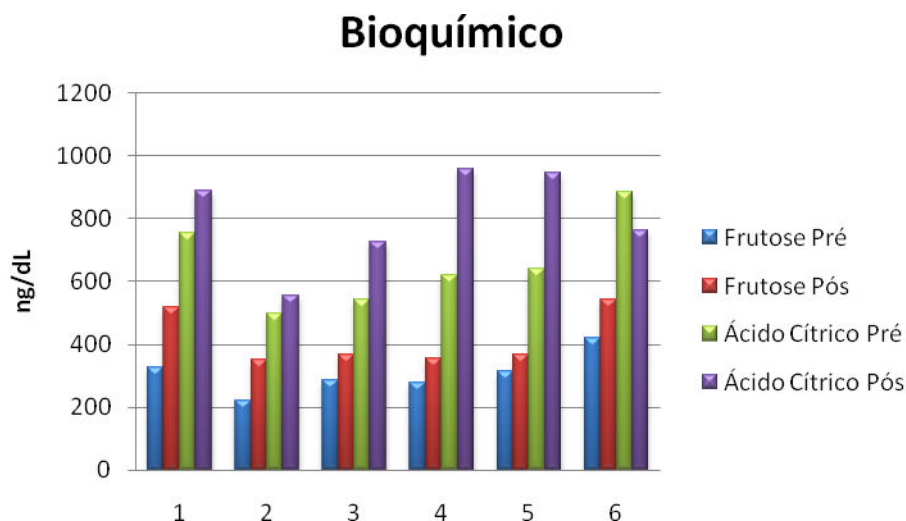
Tabela 4 – Comparação de médias e erro padrão entre os grupos controle (n=3) e tratamento (n=3) das variáveis testadas por estatística não-paramétrica por meio do teste Kruskal Wallis.

Variáveis	Pré Tratamento				Pós Tratamento			
	Controle		Experimental		Controle		Experimental	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
Volume	6,20	0,43	5,80	0,60	6,00	0,27	5,30	0,29
pH	6,59	0,03	6,50	0,00	6,55	0,02	6,42	0,06
Motilidade	90,71	1,62	92,85	0,81	86,16	1,85	80,70	3,55
Turbilhonamento	4,86	0,10	4,95	0,05	4,66	0,09	4,23	0,26
Vigor	4,95	0,05	4,95	0,05	4,83	0,07	4,43	0,23
Testosterona (ng/mL)	5,18	0,61	8,18	1,53	4,70	0,70	3,11	0,62

*EP= Erro Padrão

Graficamente temos os seguintes perfis, comparando-se as médias entre os grupos experimental, composto pelos indivíduos 1, 2 e 3 e o grupo controle, composto pelos indivíduos 4, 5 e 6.

Figura 2 – Comparação das médias dos valores de frutose e ácido cítrico entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.



Nesse caso, o perfil gráfico da bioquímica, tanto para frutose quanto para o ácido cítrico, apresentou um pequeno aumento após o tratamento. Porém este aumento ocorreu tanto no grupo experimental, como no grupo controle, não tendo

sua origem na aplicação da dexametasona. Este fato também não apresentou significância estatística.

Figura 3 – Comparação das médias dos valores de morfologia espermática entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.

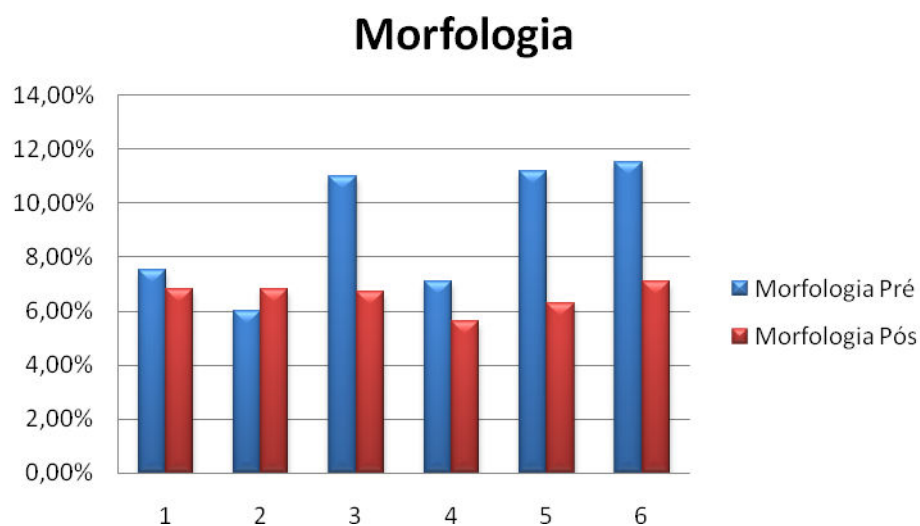


Figura 4 – Comparação das médias dos valores de concentração de espermatozoides entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.

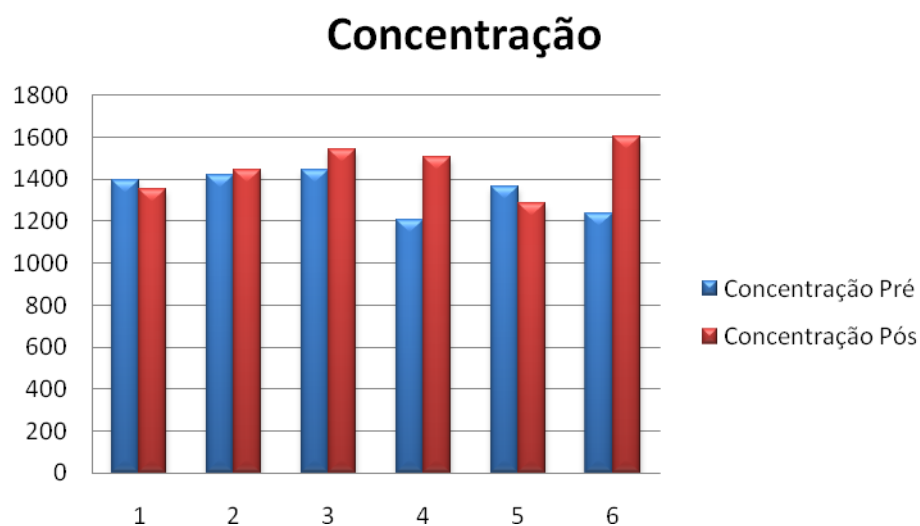


Figura 5 – Comparação das médias dos valores de volume e pH entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.

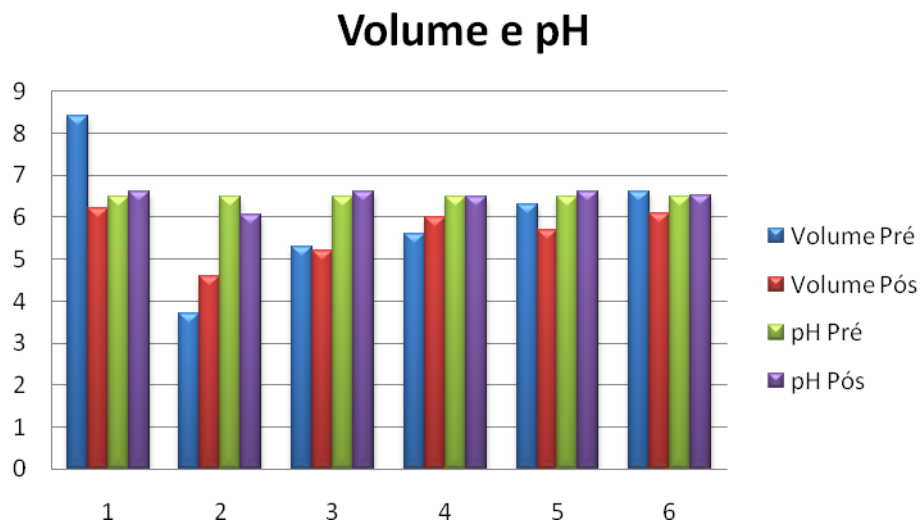


Figura 6 – Comparação das médias dos valores de motilidade entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.

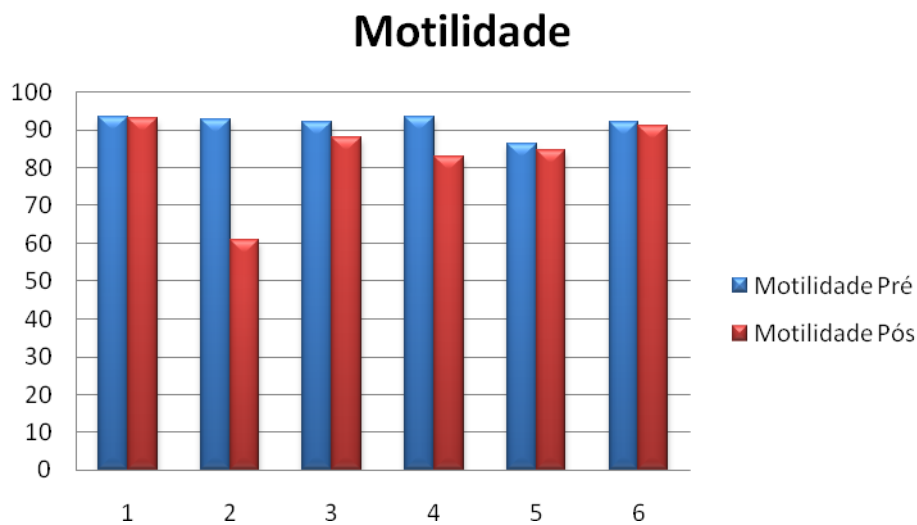


Figura 7 – Comparação das médias dos valores de turbilhonamento e vigor entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.

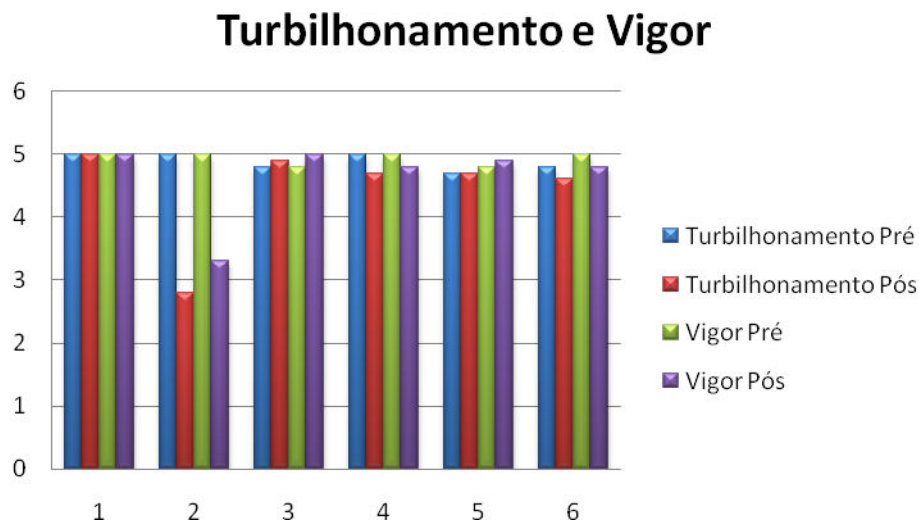
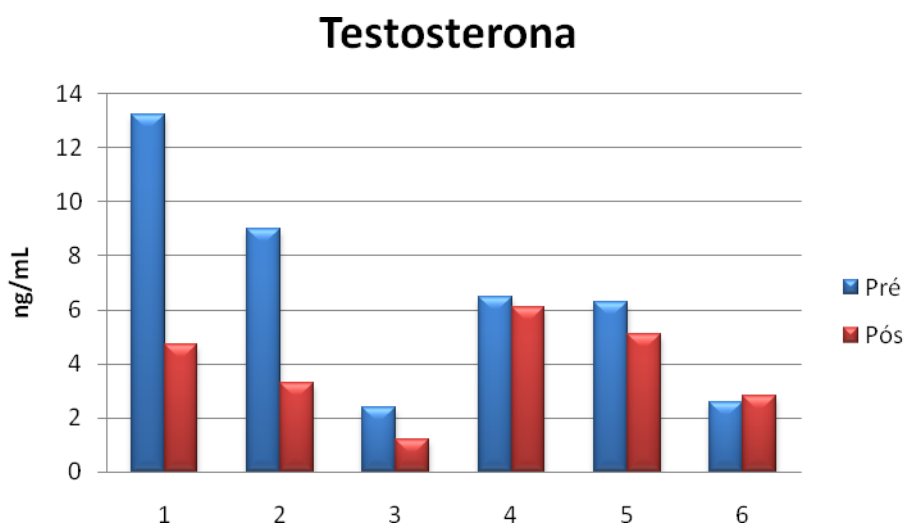


Figura 8 – Comparação das médias dos valores de testosterona entre os grupos experimental e controle pré e pós tratamento.



Para os níveis de testosterona sanguínea, observamos um decréscimo após o tratamento, somente no grupo experimental. Sendo esta a única variável para a qual encontramos diferença estatística ($\alpha= 0,05$). Mesmo assim esta significância é pequena, próxima de ruídos.

DISCUSSÃO

No presente estudo constatou-se que houve uma pequena interferência negativa na concentração sanguínea de testosterona, fato este também encontrado nos estudos de TAHA ET al. (1981) em cães, THIBIER et al. (1976) em touros, BOLY et al. (1994) por meio de injeções intra-testiculares em touros, TOHEI et al. (1997) em ratos, WEISS et al. (2001) em cães e WINGFIELD (2006) em marsupiais. Já ALKASS (2009) não encontrou diferença significativa na concentração plasmática de testosterona em ovinos.

TAHA et al. (1981) ainda relatou em seu estudo que o declínio na testosteronemia resultou em atrofia testicular, ausência de libido, oligospermia e infertilidade no cão, com redução no volume do ejaculado, concentração de espermatozóides e até aumento de anormalidades dos espermatozóides. Alguns destes fatos são corroborados por estudo posterior realizado por WEISS et al. (2001) na mesma espécie, como redução do volume do ejaculado, na concentração de espermatozóides, e no número total de espermatozóides no ejaculado. Porém, não houve interferência na libido dos animais, na morfologia dos testículos, no vigor dos espermatozóides, e na porcentagem de espermatozóides anormais.

No estudo realizado por ALKASS (2009) em ovinos, além de não ter havido interferência nos níveis de testosterona, houve aumento no volume do ejaculado, na motilidade em massa e na motilidade individual.

Em uma degeneração testicular experimental em touros provocada por dexametasona, HORN et al. (1999) encontraram um decréscimo qualitativo significativo no aspecto do ejaculado, turbilhonamento e vigor dos espermatozóides. Já os touros avaliados neste presente estudo, apresentaram uma diferença muito pequena nos níveis sanguíneos de testosterona, e não só não tiveram interferência

na libido como a mantiveram em níveis máximos de pontuação. Para os outros parâmetros houve apenas uma diferença pouco significativa em um indivíduo para a variável motilidade, sendo esta tenuamente reduzida. Volume, pH, turbilhonamento, vigor, concentração, porcentagem de espermatozóides anormais, níveis de frutose e ácido cítrico no plasma seminal permaneceram inalterados.

Estatisticamente os resultados encontrados nesta pesquisa não diferenciam significativamente entre o grupo controle e o grupo experimental. Mesmo a única variável que apresentou diferença significativa entre os dois grupos, a testosterona, tem essa diferença muito tênue. Diante disso e de todas as controvérsias entre os estudos realizados até hoje, que até mesmo são escassos, faz-se necessária a averiguação de tais resultados, principalmente no que diz respeito aos bovinos, pois não foram encontradas evidências suficientes para afirmar que a dexametasona cause algum prejuízo à fertilidade de touros. Nestes animais ainda há o agravante da dificuldade de conseguir um número grande de indivíduos a serem testados. Mas é importante que estas avaliações sejam feitas em um número maior de indivíduos e que as análises sejam feitas com maior frequência.

Aconselha-se evitar o uso do medicamento até que próximos estudos sejam realizados e que venham a confirmar a inocuidade deste fármaco à vida reprodutiva de machos bovinos.

CONCLUSÃO

No presente experimento podemos concluir que o uso da dexametasona no grupo experimental não causou nenhum dano aos parâmetros reprodutivos nos indivíduos deste grupo, comparando-se aos parâmetros reprodutivos dos animais do grupo controle. Não houve alteração significativa para as variáveis avaliadas, sendo

estas libido, morfologia dos testículos, níveis de frutose e ácido cítrico no plasma seminal, níveis de testosterona sangüínea, volume e pH do ejaculado, concentração de espermatozóides no ejaculado, motilidade, turbilhonamento, vigor e defeitos morfológicos dos espermatozóides.

REFERÊNCIAS

- ALKASS, Z.M.Y. The effect of the dexamethasone on sperm characteristic and testosterone level on Awassi rams. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 8, n. 3, p. 598-602, 2009.
- BOLY, H.; HUMBLOT, P.; TILLET, Y. Immunohistochemistry of LH and FSH secreting cells and response of plasma LH and testosterone to combined dexamethasone and GnRH treatment. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 100, p. 157-162, 1994.
- BROWN, J. L.; WALKER, S. E.; STEINMAIN, K. **Endocrine manual for the reproductive assessment of domestic and non-domestics species**. Conservation and Research Center, Smithsonian's National Zoological Park, Front Royal, Virginia – EUA, 93 p, 2004.
- CHENOWETH, P.J. Libido and mating ability in bulls. In: Morrow D.A. **Current therapy in theriogenology**, p. 342-344. Philadelphia, W. B. Saunders, 1980.
- GRUNERT, E.; BIRGEL, E.H.; VALE, W.G. **Patologia e Clínica da Reprodução dos Animais Mamíferos Domésticos**. São Paulo: Livraria Varela, 2005. p. 541.
- HORN, M.M.; MORAES, J.C.F.; GALINA, C.S. Qualidade do sêmen de touros das raças Aberdeen Angus e Brangus-Ibagé em frente à degeneração testicular experimental induzida por dexametasona. **Ciência Rural**, v. 29, n. 3, 1999.
- MALMA, J. Calving induction. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, p. 225-238, 1993.
- SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, 2ª ed., p. 227-237, 1999.
- TAHA, M.B.; NOAKS, D.E.; ALLEN, W.E. The effect of some exogenous hormones on seminal characteristics, libido and peripheral plasma testosterone concentrations in the male Beagle. **Journal of Small Animal Practice**, v.22, p. 587-595, 1981.
- THIBIER, M.; ROLLAND, O. The effect of dexamethasone on circulating testosterone and luteinizing hormone in young postpubertal bulls. **Theriogenology**, v. 5, n. 2, p. 53-60, 1976.
- TOHEI, A.; TOMABECHI, T.; MAMADA, M.; AKAIM, M. Effects of repeated stress on the hypothalamic-pituitary-testes axis in adult rats. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.59, p. 329-334, 1997.
- WEISS, R.R.; AMARAL, M.C.; MESSIAS, C. The effect of dexamethasone on dog fertility. **Archives of Veterinary Science**, v.6, n. 1, p. 26, 2001.
- WINGFIELD, J.C. [2006]. Communicative behaviors, hormone-behavior interactions, and reproduction in vertebrates. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**, v. 3, p. 1996-2040, 2006.