

CORRELAÇÃO ENTRE A ATIVIDADE DA PARAOXOANASE (PON1) NO SORO SANGUÍNEO E PARÂMETROS SEMINAIS DE OVINOS

MORGANA ALVES BORGES¹; FELIPE TERRES DE CAMPOS²; KARINA LEMOS GOULARTE³; JORGEA PRADIEÉ⁴; LÍGIA MARGARETH CANTARELLI PEGORARO⁵

¹Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –EMBRAPA- Bolsista FAPERGS
ab.morgana@hotmail.com

² Médico Veterinário - felipe.t.campos@hotmail.com

³Bolsista pós-doutorado - CAPES/EMBRAPA - jpradiee@veterinaria.med.br

⁴Bolsista pós-doutorado Repropel – Universidade Federal de Pelotas - kgoularte@hotmail.com

⁵Pesquisadora na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Clima Temperado
ligia.pegoraro@embrapa.br

1. INTRODUÇÃO

A paraoxoanase-1 (PON1) é uma enzima com propriedades antiaterogênica e anti-inflamatória (SCHRADER; RIMBACH, 2011), sintetizada principalmente no fígado e circula no plasma ligada exclusivamente a lipoproteína de alta densidade (HDL) (DRAGANOV et al., 2000). O HDL tem importante papel no transporte do colesterol, componente essencial da membrana plasmática de vários tipos celulares, incluindo o espermatozoide (VISCANTI et al., 2011).

O equilíbrio intracelular é mantido por algumas enzimas como as paraoxonases, que constituem um grupo enzimático de três enzimas: PON1, PON2 e PON3. Estas enzimas possuem várias funções em diversas vias bioquímicas, tais como proteção contra danos oxidativos e peroxidação lipídica, contribuições para o sistema imune, desintoxicação de moléculas reativas, regulação da proliferação celular e apoptose, e a modulação de estresse do retículo endoplasmático (MARTINELLI N., et al., 2013).

Em humanos a atividade reduzida da enzima PON1 está correlacionada a diversos eventos fisiológicos como aterosclerose, diabetes, distúrbios neurológicos, dentre outros (LAWLOR et al., 2007; PRÉCOURT et al., 2011). Assim como é correlacionado com infecção uterina em vacas no primeiro mês de lactação (SCHNEIDER et al. 2013), e com maior desenvolvimento embrionário quando adicionado na maturação *in vitro* de bovinos (RINCÓN et al. 2016). Em ovinos ainda não existem informações sobre a atividade enzimática e sua correlação com doenças, mas sim maior atividade enzimática no soro sanguíneo do que em outras espécies (DE CAMPOS F., et al 2015). Desta maneira seria possível correlacionar a atividade enzimática da PON1 a eventos fisiológicos reprodutivos.

O objetivo do presente trabalho foi correlacionar a atividade da enzima PON1 no sangue de carneiros com os parâmetros seminais: motilidade, motilidade progressiva e concentração.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado no período de agosto a outubro de 2015, no qual foram realizadas 10 coletas de sêmen e sangue de quatro carneiros da raça Crioula, com idade entre 4 e 6 anos, duas vezes por semana. Os mesmos estavam alocados na Estação Experimental Terras Baixas da Embrapa Clima Temperado, localizada no município do Capão do Leão.

As coletas de sêmen foram efetuadas com o auxílio de manequim e com a vagina artificial a temperatura de 42°C. Após cada coleta de sêmen uma alíquota era enviada para a avaliação dos parâmetros seminais de motilidade, motilidade progressiva através do CASA® (Computer Assisted Sperm Analysis) e concentração no Laboratório de Reprodução Animal do grupo ReproPel, da Faculdade de Medicina Veterinária da UFPel.

As amostras de sangue foram obtidas por venopunção (veia jugular) após cada coleta de sêmen, utilizando o sistema a vácuo com tubos sem anticoagulante. Após a coleta, as amostras foram conduzidas ao Laboratório de Reprodução Animal da EMBRAPA, centrifugadas á 700 rpm durante 15 minutos. O soro sanguíneo foi separado e armazenado em tubos criogênicos de 1,5mL e posteriormente congelados a temperatura de -20°C.

A mensuração da atividade enzimática da PON1 foi realizada nas amostras de soro sanguíneo no Laboratório de Nutrigenômica localizado na Faculdade de Nutrição da UFPel, através do método de espectrofotometria. As amostras foram diluídas 1:3 em tampão Tris HCl 20mM, após a programação do espectrofotômetro para a reação, a leitura foi feita na faixa dos 270nm. Em seguida, alguns fatores de correção e diluição foram efetuados, e o espectro foi zerado. Determinou-se a concentração da enzima PON1 imediatamente após a adição do tampão.

A análise estatística foi realizada através do programa Statistix 10. A análise de normalidade foi realizada pelo teste Shapiro-Wilk, dos quais não paramétricos foram submetidos ao teste Dunn's para comparação das médias, e o teste de Spermann para correlação entre SS e motilidade, motilidade progressiva e concentração espermática.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstrados na Tabela 1 apresentam as análises dos parâmetros seminais dos carneiros, assim como a atividade da enzima no soro sanguíneo (SS).

Tabela 1. Média e erro padrão dos parâmetros seminais (motilidade, motilidade progressiva, concentração espermática) e atividade da enzima PON1 no soro sanguíneo (SS).

	Carneiro 1	Carneiro 2	Carneiro 3	Carneiro 4
Motilidade (%)	77,3±3,3 ^a	72,9±4,5 ^{ab}	54,3±5,9 ^b	80,2±4,0 ^a
Motilidade progressiva (%)	74,8±3,5 ^a	69,3±4,7 ^{ab}	50,0±5,8 ^b	76,2±4,7 ^a
Concentração espermática (bilhões/mL)	3,9±0,3 ^a	3,4±0,1 ^a	1,1±0,2 ^b	3,45±0,3 ^a
Atividade de PON1 SS(U/mL)	231,6±127,8 ^a	306,2±170,4 ^a	213,7±170,9 ^a	309,7±197,7 ^a

Não houve correlação dos parâmetros seminais (motilidade, motilidade progressiva e concentração espermática) e a atividade da PON1 no soro sanguíneo. Também não foram detectadas diferenças estatísticas em relação à atividade da PON1 entre os animais. No entanto, houve diferença entre os animais nos parâmetros seminais, atribuindo-se tais diferenças à variação individual.

Estudos posteriores serão realizados utilizando um número maior de animais como modelos experimentais, assim como outros parâmetros e técnicas que permitam avaliar a viabilidade seminal.

4. CONCLUSÕES

Não houve correlação entre os parâmetros seminais estudados e a atividade de PON1 no soro sanguíneo neste trabalho.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- LAWLOR, D.A.; DAY, I.N.M.; GAUNT, T.R.; HINKS, L.J.; TIMPSON, N.; EBRAHIM, S.; DAVEY, S.G. The association of the paraoxonase (PON1) Q192R polymorphism with depression in older women: findings from the British Women's Heart and Health Study. **Epidemiology Community Health**, v.81, p.49-55, 2014
- PRÉCOURT, L.P.; AMRE, D.; DENIS M.C.; LAVOIE, J.C.; DELVIN, E.; SEIDMAN E.; LEVY, E. The three-gene paraoxonase family: physiologic roles, actions and regulation. **Atherosclerosis**, v.214, p.20-36, 2011.
- VISCONTI, P.E.; KRAPF, D.; DE LA VEGA-BELTRÁN, J.L.; ACEVEDO, J.J.; DARSZON A. Ion channels, phosphorylation and mammalian sperm capacitation. **Asian Journal of Andrology**, v.13, p.395-405, 2011.
- MARTINELLI, N.; CONSOLI, L.; GIRELLI, D.; GRISON, E.; CORROCHER, R.; OLIVIERI, O. Paraoxonases: ancient substrate hunters and their evolving role in ischemic heart disease. **Advances in Clinical Chemistry**, v.59, p.65-100, 2013
- SCHRADER, C.; RIMBACH, G. Determinants of paraoxonase 1 status: genes, drugs and nutrition. **Current Medicinal Chemistry**, v.18, p.5624-5643, 2011.
- DRAGANOV, D.I.; WATSON, C.E.; BILLECK, S.S.; LADU, B.N. Rabbitserum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. **The Journal Biological Chemistry**, v.43, p.33435-33442, 2000.
- RINCÓN, J.; MADEIRA, E.M.; CAMPOS, F.T.; MION, B.; SILVA, J.F.; ABSALÓN-MEDINA, V.A.; BUTLER, W.R.; CORRÊA, M.N.; PEGORARO, L.; SCHNEIDER, A. Exogenous paraoxonase-1 during oocyte maturation improves bovine embryo development in vitro. **Reproduction in Domestic Animals**, v., 2016
- SCHNEIDER, A.; ABSALON-MEDINA, V.A.; ESPOSITO, G.; CORRÊA, M.N.; BUTLER, W.R. Paraoxonase (PON) 1, 2 and 3 Expression in Granulosa Cells and PON1 Activity in Follicular Fluid of Dairy Cows. **Reproduction in Domestic Animals** v.48, p.989-994, 2013.
- DE CAMPOS, F.T.; PRADIEE, J.; DA SILVA, J.F.; GHELLER, M.M.; SCHNEIDER, A.; PEGORARO, L.M.C. Atividade da paraoxonase (pon-1): plasmática, líquido folicular e sêmen de ovinos da raça. In: **SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA E O CARIBE**, 10., Bento Gonçalves, RS, 2015, **Anais...** Bentos Gonçalves: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, 10º Sirgealc, 2015. v10. p.49.