

## DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE DE KAEMPFEROL EM CÉLULAS ESPERMÁTICAS OVINAS

JARBAS DIAS XAVIER<sup>1</sup>; RAFAEL MIELKE BARBOSA<sup>2</sup>; LAURA MORAIS NASCIMENTO<sup>3</sup>; SILVIA HUBNER<sup>4</sup>; CARINE CORCINI<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina Veterinária-UFPEL – [jarbasdx@hotmail.com](mailto:jarbasdx@hotmail.com)

<sup>2</sup>Faculdade de Medicina Veterinária-UFPEL – [rafaelmielke@gmail.com](mailto:rafaelmielke@gmail.com)

<sup>3</sup>Faculdade de Medicina Veterinária-UFPEL

<sup>4</sup>Faculdade de Medicina Veterinária-UFPEL

<sup>5</sup>Faculdade de Medicina Veterinária-UFPEL – [corcinicd@gmail.com](mailto:corcinicd@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O Kaempferol (3,5,7-tri-hidroxi-2- (4-hidroxifenil) -4H-1-benzopirano-4-ona) é um flavonóide, que é amplamente distribuídos no reino vegetal, fazendo parte da composição de diversos legumes, frutas, algumas bebidas e em plantas utilizadas na medicina tradicional. Podendo desempenhar diversos efeitos benéficos para saúde, sendo utilizado no tratamento ou na prevenção de uma ampla gama de patologias (CALDERÓN-MONTAÑO, et al. 2011).

Os Flavonóides contêm em sua estrutura química um número variável de grupos hidroxilo fenólicos e excelentes propriedades quelantes do ferro e de outros metais de transição, o que lhes conferem uma grande capacidade antioxidante (MARTÍNEZ-FLÓREZ, et al. 2002). As capacidades antioxidantes e anti-inflamatórias desses compostos estão bem documentadas por SEIFRIED et al. (2007).

Durante o processo de criopreservação, no qual nos permite estocar o sêmen por longos períodos, ocorre processos de estresse oxidativo, devido a geração de espécies reativas de oxigênio (EROS) no metabolismo normal das células espermáticas (MAXWELL et al, 1996). Considerando que a membrana espermática é rica em ácidos poliinsaturados (ZALATA et al, 1999) e que o excesso de EROS, faz uma reação oxidativa na membrana espermática e no DNA dos espermatozoides causando danos irreversíveis.

Assim esse trabalho tem como intuito analisar diferentes concentrações da substância Kaempferol pertencentes aos flavonóides em células espermáticas ovinas.

### 2. METODOLOGIA

Foram utilizados ejaculados de 5 carneiros das raças Criolo e Corriedale, mantidos na Universidade Federal de Pelotas, de coleta feita por vagina artificial.

Para os testes, foram adicionados 100µL de cada concentração de Kaempferol (SIGMA – K0133) diluído Tris-Gema. Foram utilizadas concentrações de 0 (controle), 1, 2, 3, 4% de Kaempferol em 100µL de sêmen de ovinos diluído em TRIS-Gema (OLIVEIRA et al. 2009). As análises microscópicas foram feitas após a exposição do sêmen ao Kaempferol incubadas a 37°C durante 10 minutos.

Para as análises, utilizou-se o sistema computadorizado (CASA) para avaliação da cinética espermática. Para tanto, foram colocados 3 µL de sêmen em lâmina própria para a leitura, na qual foram selecionados 6 campos para as análises. A mensuração da cinética espermática foi feita através da avaliação da motilidade total (MT) e motilidade progressiva (MP), em porcentagem, média da

distância retilínea (DSL) da média da distância percorrida (DAP), em micrômetros, e velocidade retilínea (VSL), em micrômetros por segundo. A análise estatística dos dados foi realizada com o programa Statistix 9.0, pela metodologia da análise de variância (ANOVA), comparando as médias de cinética espermática pelo teste de Tukey em relação às concentrações utilizadas. Valores de  $P < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração de 4% Kaempferol apresentou superioridade em relação aos demais tratamentos a motilidade total e motilidade ptogressiva ( $P < 0,05$ ), Tabela 1. Importante ressaltar que a motilidade espermática é dependente da ação sincronizada de diferentes ações das proteínas, íons, açúcares, espécies reativas de oxigênio e pequenas moléculas orgânicas. Muitos fatores podem causar efeito toxico de diminuir a motilidade espermática e que desta forma pode atribuir ao macho fatores de infertilidade. Porém observamos que a administração direta do Kaempferol aumentou a motilidade espermática em relação ao controle, esse aumento pode ser atribuído a uma menor taxa de peroxidação lipídica e um facilitador no transporte de energia para célula, fatores também observados nas velocidades média e distâncias percorridas.

Tabela 1 – Média ( $\pm$  erro padrão) dos parâmetros de cinética espermática, motilidade total (MT) e motilidade progressiva (MP), Distância Retilínea (DSL), média da distância percorrida (DAP) e Velocidade Retilínea (VSL), das amostras expostas imediatamente ao Kaempferol. (n=5)

Kaempferol	MT (%)	MP (%)	DSL ( $\mu\text{m}$ )	VSL ( $\mu\text{m/s}$ )	DAP ( $\mu\text{m}$ )
<b>Controle</b>	65,9 $\pm$ 2,7 <sup>B</sup>	60,1 $\pm$ 3,3 <sup>B</sup>	23,2 $\pm$ 1,4 <sup>C</sup>	50,9 $\pm$ 3,2 <sup>C</sup>	29,9 $\pm$ 1,7 <sup>D</sup>
<b>1%</b>	60,8 $\pm$ 1,5 <sup>B</sup>	57,2 $\pm$ 1,6 <sup>B</sup>	40,1 $\pm$ 2,7 <sup>AB</sup>	92,4 $\pm$ 6,1 <sup>AB</sup>	48,9 $\pm$ 2,7 <sup>ABC</sup>
<b>2%</b>	54,3 $\pm$ 4,8 <sup>C</sup>	51,5 $\pm$ 4,7 <sup>C</sup>	38,2 $\pm$ 1,2 <sup>B</sup>	87,4 $\pm$ 2,8 <sup>B</sup>	48,1 $\pm$ 1,1 <sup>ABC</sup>
<b>4%</b>	75,6 $\pm$ 2,1 <sup>A</sup>	73,0 $\pm$ 2,2 <sup>A</sup>	45,6 $\pm$ 1,7 <sup>A</sup>	105,5 $\pm$ 4,0 <sup>A</sup>	53,9 $\pm$ 1,8 <sup>AB</sup>

A, B, C Letras diferentes na linha representam diferença estatística ( $P < 0,05$ ).

Ao que se refere a distância retilínea (DSL), pode-se observar que foi maior a distância conforme aumentada a concentração do agente ao meio. Sabendo-se que a distância retilínea refere-se ao trajeto mais preciso do espermatozoide rumo ao ovócito. Com esse aumento no trajeto percorrido podemos também diminuir a concentração espermática das doses inseminantes, pois um maior número de espermatozoides estarão capacitados a fertilizar um ovócito.

Analogamente, a distância percorrida (DAP) também obteve maior distância quando esteve em contato com Kaempferol na concentração de 4%, comparado ao grupo controle, e mesmo em concentração de 1 e 2% obteve significativa variação. Sendo que distância percorrida representa o trajeto percorrido pelo espermatozoide, subentende-se que quando exposto a maiores distâncias tende a obter maior êxito em chegar ao ovócito para assim poder fecundar.

Também foi observado que a velocidade retilínea (VSL), apresentou-se análoga os demais parâmetros, onde se obteve variações significativas na presença do Kaempferol, destacando o grupo com concentração de 4% do agente. Analisando os dados apresentados observa-se uma grande variação do parâmetro, acredita-se assim que o agente teve grande influência na velocidade da célula, indicando uma possível ação na porção final e intermediária do espermatozoide, relacionando-se possivelmente com ação na mitocôndria da célula, responsável pela produção de energia da mesma.

Ademais, ainda se tem poucos estudos da utilização de Kaempferol na criopreservação de células espermáticas, assim como sua integra ação, na utilização como fármacos. Entretanto, assim como visto esse agente tem potencial ação antioxidante que indica uma possível utilização na criopreservação de células espermáticas de diferentes espécies, necessitando ainda de mais estudos sobre o mesmo para os devidos fins.

#### **4. CONCLUSÕES**

Pode – se concluir que a substância Kaempferol, analisado nesse trabalho demonstra uma possível ação antioxidante às células espermáticas ovinas na concentração de 4%. Ademais, a utilização do Kaempferol na concentração de 4% obteve melhora em parâmetros de análises espermáticas quando comparadas ao grupo controle.

#### **5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

CALDERÓN-MONTAÑO J.M.; BURGOS-MORÓN E.; PÉREZ-GUERRERO C.; LÓPEZ-LÁZARO M. A Review on the Dietary Flavonoid Kaempferol. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 11, p. 298-344

COMHAIRE, F.H.; MAHMOUD, A.M.A. ET AL. Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint. Human Reproduction, v. 5, n. 5, p. 393-398, 1999

MAXWELL, W.M.C.; WATSON, P.F. Recent progress in the preservation of ram semen. Animal Reproduction Science, v. 42, n. 1-4, p. 55-65, 1996

S. MARTÍNEZ-FLÓREZ.; J. GONZÁLEZ-GALLEGU.; J. M. CULEBRAS\* E M.<sup>a</sup> J. TUÑÓN, Los flavonóides: propiedades y acciones antioxidantes, Nutrición Hospitalaria, n. 6, p. 271-278, 2002

SEIFRID, H.E.; ANDERSON, D.E.; FISHER, E.I.; MILNER, J.A. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. J. Nutr Biochem, v. 18, n. 95, p. 67-79, 2007

ZALATA, A.A.; DEPUYDT, C.E. White blood cells cause oxidative damage to the fatty acid composition of phospholipids of human spermatozoa. International Journal of Andrology, v. 21, p. 154-162, 1998