

Avaliação do hormônio Anti-Mülleriano à desmama e precocidade sexual de machos Nelore

Luiz Carlos Cesar da Costa Filho^{5*}, Ellen Caroline Soligo⁶, Alini Silva Peixoto², Fernanda Battistotti Barbosa¹, Eduardo Antônio de Almeida Rossignolo¹, Tallita Silva de Assis¹, Vitor Miotto Oliveira², Maria Inês Lenz Souza¹, Eliane Vianna da Costa e Silva¹

Resumo: A pediatria já utiliza o hormônio Anti-Mülleriano (AMH) como parâmetro clínico na identificação de problemas de precocidade sexual, puberdade precoce (baixas concentrações de AMH) e tardia (altas concentrações de AMH). O estudo foi conduzido com objetivo de verificar a correlação das concentrações de AMH à desmama em bezerros Nelore, de acordo com a classe de precocidade sexual. Sessenta e um machos Nelore, utilizados para este experimento, foram classificados conforme sua precocidade sexual: superprecoces (SM) - animais que apresentaram idade à puberdade até 52 semanas de idade; precoces (M) - aqueles que chegaram à puberdade entre 53 e 64 semanas de idade; e tardios (L) - aqueles que alcançaram a puberdade a partir de 65 semanas. Destes, o sangue foi coletado três vezes (desmame, 12 e 16 meses) para quantificação de AMH e testosterona (T). Na puberdade, os machos SM, embora mais jovens e com menor peso e peso de desmama, não diferiram de M e L para níveis hormonais de AMH e T. Os dados mostram que a medição de perímetro escrotal (PE) não pode ser uma única ferramenta para definir a puberdade, uma vez que cada classe deste trabalho apresentou medidas distintas. O perímetro escrotal não influenciou ($P > 0,05$) a expressão da idade à puberdade dos tourinhos. Não foi encontrada correlação da concentração do AMH com nenhuma das características estudadas ($P > 0,05$). A utilização do parâmetro de perímetro escrotal, como único fator de predição de precocidade sexual, não conseguiu identificar a precocidade sexual, sendo necessário acompanhamento por coleta de sêmen ($P > 0,05$).

Palavras-chave: AMH. Puberdade. Touros.

Evaluation of Anti-Müllerian hormone at weaning and sexual precocity of Nelore males

Abstract: Pediatrics already uses the anti-Müllerian hormone (AMH) as a clinical parameter in the identification of problems of sexual precocity, early puberty (low concentrations of AMH) and late (high concentrations of AMH). The objective of the present study was to verify the correlation of the concentrations of AMH to weaning in Nelore calves according to the sexual precocity class. Sixty-one Nelore males used for this experiment were classified as sexual precocity as: super maturing bulls (SM) - animals that presented puberty age up to 52 weeks of age; maturing (M) - those who reached puberty between 53 and 64 weeks of age; and late bulls (L) - those who reached puberty after 65 weeks. From these, blood was collected at three times (weaning, 12 and 16 months) for quantification of AMH and testosterone (T). At puberty, SM males, although younger and with lower weight and PW, did not differ from M and L for hormone levels of AMH and T. The data show that PE measurement can't be a single tool to define the Puberty, since each class of this work had different measures. The scrotal circumference did not influence ($P > 0.05$) the expression of age at puberty of the young bulls. No correlation of the concentration of AMH was founded with any of the characteristics studied ($P > 0.05$). The use of the scrotal circumference parameter as the only predictor of sexual precocity was not able to identify the sexual precocity, and follow-up by semen collection was necessary ($P > 0.05$).

Keywords: AMH. Bulls. Puberty.

⁵ Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, 79070-900, Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

⁶ GERA, 79040-453, Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

* luizccesar@hotmail.com

Introdução

Bovinos *Bos indicus* são tipicamente mais tardios sexualmente em relação ao gado *Bos taurus* (LOPEZ et al., 2006). Um método promissor para identificação de precocidade sexual em bovinos é a quantificação do hormônio Anti-Mülleriano (AMH). Em humanos, a pediatria já utiliza o AMH como parâmetro clínico na identificação de problemas de precocidade sexual, puberdade precoce (baixas concentrações de AMH) e tardia (altas concentrações de AMH) (REY et al., 1993; OKAY, 2003). Em bovinos Nelore, a concentração sérica do AMH em animais não púberes é elevada, comportamento esse inverso ao da testosterona (T). Nos animais púberes acontece uma inversão dessas concentrações, quando os níveis de AMH são reduzidos e os da T se elevam, resultados esses que demonstram que o AMH revela-se como um possível marcador biológico de precocidade sexual em machos bovinos (QUEIROZ, 2014). Assim, o objetivo do presente trabalho foi verificar a correlação das concentrações do AMH à desmama em bezerros Nelore de acordo com a classe de precocidade sexual.

Material e Métodos

Utilizou-se dados de 61 machos Nelore pertencentes a uma propriedade que realiza seleção para precocidade sexual, no estado de Mato Grosso do Sul. Após a desmama foram suplementados com concentrado (18% PB) diariamente, em uma relação concentrado/peso vivo de 1%. Os animais foram submetidos à pesagem e mensuração do perímetro escrotal (PE) e à coleta sanguínea para quantificar o nível sérico de AMH e T ao desmame, aos 12 e aos 16 meses. Aos 12 e aos 16 meses os animais foram submetidos também à eletroejaculação para obtenção do sêmen. A classe de precocidade sexual foi definida: superprecoces (SM) - animais que apresentaram idade à puberdade até 52 semanas de idade; precoces (M) - aqueles que atingiram a puberdade entre 53 e 64 semanas de idade; e tardios (L) - aqueles que alcançaram a puberdade a partir de 65 semanas de idade. Os tourinhos que após a coleta de sêmen atingiram a concentração espermática total do ejaculado de no mínimo 50×10^6 e motilidade $\geq 10\%$ foram considerados púberes, classificação já definida (WOLF et al., 1965). As coletas sanguíneas deram-se pela da punção da veia/artéria coccígea. Logo após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 20 minutos (SANTOS et al., 2000). E o soro armazenado em freezer a -18°C para dosagem de AMH. Analisou-se as concentrações séricas de AMH (ng/mL) através do método de ELISA, utilizando-se o kit comercial "Bovine AMH ELISA" (AnshLabs®, USA). As concentrações de T (ng/mL) foram obtidas utilizando o kit comercial "RIA Testosterone" (Immunotech®, USA), ambas realizadas no Instituto Gênese de Análise Científica (São Paulo, Brasil). A sensibilidade do ensaio do AMH e da T foi de 0,011 ng/mL e 0,04 ng/mL, respectivamente, e o coeficiente de variação intraensaio $<5\%$. Inicialmente, estabeleceram-se as correlações entre as variáveis, por meio da Correlação de Spearman. As variáveis foram submetidas à análise de variância considerando o efeito fixo de precocidade sexual do animal por meio do procedimento GLM do SAS (2002). Posteriormente, verificou-se o efeito fixos dos níveis séricos de AMH e T, peso, perímetro escrotal à desmama e à puberdade e idade à desmama, avaliados em modelo de regressão processada por stepwise, utilizando-se o Programa SAS.

Resultados e Discussão

Os bezerros foram desmamados, na média, com $41,31 \pm 2,71$ semanas de idade (9 meses), peso médio de $271,95 \pm 35,35$ kg, PE médio de $20,59 \pm 1,65$ cm. Os níveis séricos de AMH e T, nesta fase, foram de $16,14 \pm 1,47$ ng/mL e $2,78 \pm 2,14$ ng/mL, respectivamente. Registrou-se idade média dos animais à puberdade de $60,26 \pm 6,92$ semanas (14 meses), peso vivo médio de $367,53 \pm 6,47$ kg, com PE de $29,29 \pm 0,39$ cm, apresentando níveis séricos de $8,42 \pm 3,42$ ng/mL e $9,24 \pm 6,93$ de AMH e T, respectivamente.

Quanto à classe de precocidade, os animais classificados como L apresentaram maior medida de PE ($30,73 \pm 0,48$ cm) ao atingirem a puberdade em relação aos M ($29,39 \pm 0,49$ cm), os quais também mostraram maior PE que os SM ($26,46 \pm 0,89$ cm). Esse resultado sugere que a medida do PE não pode ser uma única ferramenta para definir a puberdade, pois cada classe deste trabalho apresentou medidas distintas. A medida do PE não influenciou significativamente a expressão da idade à puberdade dos tourinhos. Não foi identificada diferença significativa para as variáveis hormonais (AMH e T), porém, apenas os tourinhos SM apresentaram uma inversão das concentrações hormonais no momento da puberdade, pois a concentração da T já estava mais alta que a do AMH. Estes resultados diferem dos já relatados (QUEIROZ, 2014), também com animais Nelore, que revelaram que o AMH é um possível biomarcador de precocidade sexual em machos bovinos, considerando-se que o declínio nas concentrações séricas deste correlacionou-se à precocidade sexual, principalmente na distinção dos animais SM dos animais L. Na fase adulta de humanos, sugere-se que ocorra uma regulação antagônica entre AMH e T, sendo que a T parece exercer um efeito supressor sobre a secreção do AMH pelas células de Sertoli. Nestes momentos, os receptores de andrógeno (RA) já estão expressos nas células de Sertoli e a T encontra-se em alta concentração intratesticular. Assim, a T atua nos RA, através da ação parácrina, inibindo a secreção do AMH pelas células de Sertoli (REY et al.,

2003). Se esse comportamento hormonal se repetir em bovinos, pode explicar o que aconteceu com o AMH e a T nos animais SM.

Tabela 1. Médias (\pm desvio padrão) dos aspectos clínicos andrológicos e níveis séricos de hormônio AMH e de T, de acordo com a classe de precocidade sexual à desmama e à puberdade de bezerras Nelore. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$) para teste t de Student; SM – superprecoces; M – precoce; L – tardios; Idade desm (sem) – idade a desmama em semanas; desm – desmama; pub – puberdade; AMH – concentração de AMH em ng/mL; T – concentração de Testosterona em ng/mL; PE – perímetro escrotal; Mot. Progressiva – motilidade progressiva; Conc. TT – concentração espermática.

Variáveis à desmama	Classe de Precocidade Sexual		
	SM	M	L
Idade desm (sem)	39,43 \pm 0,71 ^a	41,39 \pm 0,54 ^b	42,43 \pm 0,48 ^b
AMH desm (ng/mL)	15,90 \pm 0,42 ^a	15,82 \pm 0,43 ^a	16,59 \pm 0,44 ^a
T desm (ng/mL)	2,46 \pm 0,49 ^a	2,51 \pm 0,52 ^a	3,31 \pm 0,82 ^a
PE desm (cm)	20,61 \pm 0,41 ^b	20,78 \pm 0,30 ^a	20,40 \pm 0,40 ^c
Peso desm (kg)	265,36 \pm 8,49 ^a	273,61 \pm 6,95 ^a	274,21 \pm 8,15 ^a
Variáveis à puberdade	SM	M	L
Idade pub (sem)	50,86 \pm 0,65 ^a	59,65 \pm 0,87 ^b	66,86 \pm 0,38 ^c
AMH pub (ng/mL)	9,62 \pm 1,17 ^a	8,64 \pm 0,56 ^a	7,45 \pm 0,71 ^a
T pub (ng/mL)	10,81 \pm 2,65 ^a	8,49 \pm 2,22 ^a	5,59 \pm 0,22 ^a
PE pub (cm)	26,46 \pm 0,89 ^c	29,39 \pm 0,49 ^b	30,73 \pm 0,48 ^a
Peso pub (kg)	311,31 \pm 10,26 ^c	368,48 \pm 8,00 ^b	397,08 \pm 8,24 ^a
Mot. Progressiva (%)	46,43 \pm 4,64 ^a	29,13 \pm 3,82 ^b	17,39 \pm 2,20 ^c
Conc. TT (nx10 ⁶ sptz/ejac)	303,82 \pm 55,19 ^a	182,57 \pm 45,80 ^a	80,60 \pm 16,95 ^b

Fonte: Elaborado pelos autores.

Conclusões

Não foi encontrada correlação da concentração do AMH com nenhuma das características estudadas. A utilização do parâmetro PE, como único fator de predição de precocidade sexual, não conseguiu identificar a precocidade sexual, sendo necessário acompanhamento por coleta de sêmen.

Agradecimentos

Ao grupo Genética Aditiva pelo apoio na pesquisa e a Fundect pela concessão de bolsa de Doutorado e apoio financeiro para pesquisa.

Referências

- LOPEZ, R.; THOMAS, M. G.; HALLFORD, D. M.; KEISLER, D. H.; SILVER, G. A.; OBEIDAT, B. S.; GARCIA, M. D.; KREHBIEL, C. R. Metabolic hormone profiles and evaluation of associations of metabolic hormones with body fat and reproductive characteristics of angus, brangus and brahman heifers. **The Professional Animal Scientist**, v. 22, n. 3, p. 273-282, 2006.
- OKAY, T. S. Hormônio anti-mülleriano: importância na prática pediátrica. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 49, n. 1, p. 16-17, 2003.
- QUEIROZ, V. L. D. **Hormônio anti-Mülleriano sérico como preditor da puberdade de touros jovens Nelore**. 2014. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande.
- REY, R.; LORDEREAU-RICHARD, I.; CAREL, J. C.; BARBET, P.; CATE, R. L.; ROGER, M.; CHAUSSAIN, J. L.; JOSSO, N. Anti-müllerian hormone and testosterone serum levels are inversely during normal and precocious pubertal development. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 77, n. 5, p. 1220-1226, 1993.
- REY, R.; LUKAS-CROISIER, C.; LASALA, C.; BEDECARRAS, P. AMH/MIS: what we know already about the gene, the protein and its regulation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 211, n. 1, p. 21-31, 2003.

SANTOS, M. D.; TORRES, C. A. A.; RUAS, J. R. M.; MACHADO, G. V.; COSTA, D. S.; ANGULO, L. M. Concentração sérica de testosterona em touros zebu. **Revista brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 3, p. 738-744, 2000.

SAS – STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **User's guide**. Cary: SAS Institute, 2002. 525p.

WOLF, F. R.; ALMQUIST, J. O.; HALE, E. B. Prepuberal behavior and puberal characteristics of beef bulls on high nutrient allowance. **Journal of Animal Science**, v. 24, n. 3, p. 761-765, 1965.