



UNIVERSIDADE PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

BACHAREL EM MEDICINA VETERINÁRIA

BRUNO GIMENEZ BARRICO

**EFEITOS DA ASTAXANTINA SOBRE OS ACHADOS ULTRASSONOGRÁFICOS
DA BOLSA ESCROTAL DE TOUROS NELORE DE BAIXA QUALIDADE
ESPERMÁTICA**

Botucatu

2023

BRUNO GIMENEZ BARRICO

**EFEITOS DA ASTAXANTINA SOBRE OS ACHADOS ULTRASSONOGRÁFICOS
DA BOLSA ESCROTAL DE TOUROS NELORE DE BAIXA QUALIDADE
ESPERMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP, para obtenção do grau de médico veterinário

Área de concentração: Reprodução Animal

Preceptor: Profa. Dra. Eunice Oba

Coordenador de estágio: Prof. José Paes de Oliveira Filho

Botucatu

2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Barrico, Bruno Gimenez.

Efeitos da astaxantina sobre os achados ultrassonográficos da bolsa escrotal de touros nelore de baixa qualidade espermática / Bruno Gimenez Barrico. - Botucatu, 2023

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Eunice Oba
Capes: 50504002

1. Andrologia veterinária. 2. Antioxidante. 3. Carotenoides. 4. Bovino - Reprodução. 5. Ultrassonografia.

Palavras-chave: Andrologia; Antioxidante; Astaxantina; Reprodução bovina; Ultrassonografia.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof^a Dr^a Eunice Oba pelas oportunidades concedidas, pelos diversos ensinamentos, pela confiança e amizade.

Ao meu coorientador Renan Denadai pelo papel fundamental na minha formação e pela amizade.

À minha mãe Gislene Zampieri Gimenez Veiga e meu pai Marcos Barrico pelas minhas bases, pelo apoio incondicional e pelo amor.

À minha querida irmã Giovanna Gimenez Barrico pelos conselhos, pelo entendimento das minhas dores e, principalmente, pela nossa amizade.

À minha namorada Bianca de Arruda Soares pelo companheirismo, pelo amor, pelos sonhos compartilhados e por sempre acreditar em mim.

A todos meus familiares, em especial, ao Nabor e Andréia pelo alicerce e pelo apoio.

Aos meus amigos e colegas graduandos, Henrique Serra Carrenho, Isabella Gonçalves Netto Alt dos Reis, Letícia Cavarzan Lopes, Silmara Rodrigues dos Santos, Gabriel Badial Ferreira, Daiane Bressan Lima por tornarem a caminhada mais prazerosa. Sem vocês, jamais conseguiria!

Aos meus grandes amigos Gustavo Miranda Cantagallo e Eduardo Ryoichi Kano Saito pela amizade e parceria em todos os momentos através dos anos.

À minha amiga Joice Maria Bazerla Andreta pela oportunidade de realização desse trabalho, pelas ajudas e conversas.

A todos que se envolveram e tornaram capaz a execução deste projeto.

À UNESP e ao Departamento de Reprodução Animal pelo que me proporcionaram durante toda a graduação.

A todos, muito obrigado!

*“Being happy is the goal,
but greatness is my vision.”*

(Childish Gambino)

RESUMO

O desenvolvimento de novas terapêuticas dentro da medicina veterinária é primordial para a sua evolução. O uso de antioxidantes tem sido amplamente estudados, especialmente na andrologia, haja visto a sensibilidade da produção seminal a partir do estresse oxidativo, independentemente da sua etiologia. Sobre isso, o carotenóide astaxantina, produzido pela microalga *Haemococcus pluvialis*, possui efeitos anti-inflamatórios, antineoplásicos e, principalmente, antioxidantes já constatados. A ultrassonografia tem sido uma importante ferramenta na avaliação andrológica nos bovinos e tem um valor ainda maior pelo diagnóstico imediato, essencial para o acompanhamento de lesões. O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da astaxantina sobre aspectos ultrassonográficos de touros Nelore com histórico de baixa produção espermática. Foram utilizados 5 touros (n = 5) distribuídos em dois grupos: controle - CONT (n = 2) e tratados - ASTX (n = 3). Os animais tratados receberam astaxantina oral – 0,50 mg por kg de peso vivo diariamente por 60 dias com suplemento mineral. O grupo CONT recebeu um sachê placebo apenas com o suplemento mineral. As avaliações ultrassonográficas foram feitas um dia antes do início da administração dos produtos (D -1) e um dia após o término (D 61). Não houve nenhuma mudança significativa sobre os achados de intensidade de pixel dos testículos e epidídimos, que pudesse sugerir um efeito antioxidante da astaxantina. Os resultados precisam ser confirmados em um estudo maior, explorando outras abordagens de avaliação, principalmente a nível seminal.

Palavras-chave: antioxidante, reprodução bovina, andrologia, ultrassonografia, astaxantina.

ABSTRACT

New therapies development in the veterinary medicine is essential for its growth. The use of antioxidant has been widely studied, especially in andrology, since seminal production is so sensible from oxidative stress, whatever the etiology might be. About that, the carotenoid astaxanthin, produced from the microalgae *Haemococcus pluvialis*, has anti-inflammatory, antineoplastic and, more important, antioxidant effects already proven. Ultrasonography have been an important tool in bovine andrologic exam e has a greater value for an immediate diagnosis, key for injuries monitoring. The present study's objective is to evaluate astaxanthin effects on ultrasonography findings of Nelore bulls with low sperm quality history. Five bulls were allocated in two groups: control – CONT (n = 2) and treated – ASTX (n = 3). Treated animals received oral astaxanthin – 0,50 mg per kg of live weight daily for 60 days with mineral supplement. CONT group received only a mineral supplement placebo sachet. Ultrasonography exams were performed one day before the beginning of products administration (D -1) and one day after the ending (D 61). There was no changing on the testicles and epididymis' pixel intensity findings that may suggests an astaxanthin antioxidant action. The results need to be confirmed on a larger study, exploring new evaluation approaches, particularly at a seminal level.

Keywords: antioxidant, bovine reproduction, andrology, ultrasonography, astaxanthin.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 ANATOMOFISIOLOGIA DOS ÓRGÃOS DA BOLSA ESCROTAL	2
2.2 ULTRASSONOGRAFIA ANDROLÓGICA	2
2.2.1 Testículos	3
2.2.2 Epidídimos	4
2.3 ANTIOXIDANTES NA ANDROLOGIA	4
2.3.1 Astaxantina	5
3. OBJETIVOS	6
4. METODOLOGIA	6
4.1 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS	6
4.2 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA	7
5. RESULTADOS	7
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10

1. INTRODUÇÃO

A constante evolução do setor pecuário evidenciada nas últimas décadas no país se deve, entre variados fatores, ao desenvolvimento de biotécnicas, de ferramentas diagnósticas e de novas substâncias que visam diminuir as perdas produtivas e potencializar a eficiência reprodutiva do plantel nacional.

Entretanto, apesar da guinada do uso da inseminação artificial nos últimos anos, de 10% do rebanho nacional em 2017, para 23% em 2021 (ASBIA, 2021), é importante salientar que mais de $\frac{3}{4}$ das fêmeas em idade reprodutiva no Brasil são submetidas pelo processo de monta natural, o que revela o valor da qualidade do touro tanto no potencial genético, quanto na aptidão reprodutiva. Distúrbios nutricionais, sanitários e outras patologias podem prejudicar a performance reprodutiva através de um desequilíbrio na produção de espécies reativas de oxigênio.

Tendo em vista a variedade das patologias reprodutivas de machos, se faz necessário lançar mão de princípios capazes de atuar de forma multifatorial, tanto na prevenção quanto na terapêutica dessas enfermidades, buscando substâncias de possível produção e com propriedades antineoplásicas, antioxidantes e anti-inflamatórias. O carotenóide do grupo xantofila, astaxantina, produzida pela microalga *Haemococcus pluvialis*, já teve sua ação comprovada em diversas vertentes veterinárias e dentro da medicina humana (ALAHMAR, 2018; HEIDARI-KHOEI, 2019; QAMAR, 2020).

Isto posto, a ultrassonografia, como exame não invasivo e de baixo custo, tem se mostrado uma ferramenta relevante na clínica geral do animal e no exame andrológico em específico. Em relação a este último, com o advento da ultrassonografia, foi possível examinar órgãos internos com precisão ímpar, o que o torna um exame complementar fundamental na busca de um diagnóstico precoce e, conseqüentemente, um melhor prognóstico de eventuais enfermidades reprodutivas que acometem todo o trato reprodutivo. Outro aspecto importante da ultrassonografia é a sua capacidade de avaliação imediata, o que possibilita realizar um acompanhamento fiel da evolução clínica de cada caso, através do tempo.

Dessa forma, este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da suplementação de astaxantina sobre os parâmetros ultrassonográficos dos órgãos da bolsa escrotal em touros Nelore que apresentavam alta porcentagem de defeitos espermáticos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANATOMOFISIOLOGIA DOS ÓRGÃOS DA BOLSA ESCROTAL

A bolsa escrotal é composta de dois testículos, dois epidídimos e dois cordões espermáticos. A bolsa é localizada na região inguinal e assume posição vertical na espécie bovina (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Os testículos são envoltos por camadas de tecidos que também compõem a bolsa: pele externa, túnica Dartos (camada subcutânea), fáschia espermática externa e músculo cremaster, constituindo o escroto; fáschia espermática interna e lâmina parietal, constituindo o processo vaginal. O testículo propriamente dito possui uma cápsula de tecido fibroso e, abaixo dela, uma membrana serosa. A cápsula é responsável pela lobulação piramidal que divide o parênquima testicular em septos e, no centro do testículo, formará o mediastino. O parênquima testicular é constituído de túbulos seminíferos (células de sustentação e manutenção, de Sertoli, e espermatogônias), que possuem a função espermatogênica do órgão, cercados de estroma (vascularização, inervação e células secretoras de testosterona, de Leydig). (KÖNIG; LIEBICH, 2016; HAFEZ; HAFEZ, 2004).

O epidídimo é aderido medialmente aos testículos e é classicamente dividido em cabeça, corpo e cauda. Está internamente anexado aos testículos, de modo que, após alcançar o epidídimo, os ductos eferentes se fusionam, formando o ducto do epidídimo, que se enovela por um comprimento de até 50 metros. A função epididimária é de maturação e armazenamento espermático e é nele onde o fluido testicular é absorvido (KÖNIG; LIEBICH, 2016).

2.2 ULTRASSONOGRAFIA ANDROLÓGICA

O exame andrológico tem por objetivo avaliar o potencial reprodutivo de machos, na intenção de reduzir o risco de utilizar touros com problemas de subfertilidade e, conseqüentemente, aumentar a performance reprodutiva de um

rebanho. Para que um touro seja considerado apto para a reprodução ele precisa: dispor de boa integridade física e aprumos; apresentar libido na presença de fêmeas; ter capacidade de saltar com ereção e intromissão; possuir boa qualidade de sêmen (PALMEIRO, 2013)

Acerca disso, o exame andrológico padrão, como recomendado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (2013), não possui a ultrassonografia como procedimento de rotina. Porém, como uma avaliação segura, barata e fácil de ser executada, o exame ultrassonográfico traz vantagens acerca da localização e caracterização de alterações estruturais no trato reprodutivo do macho.

Entretanto, durante o levantamento de bases bibliográficas para o presente experimento, os estudos que visavam a exploração ultrassonográfica através da análise quantitativa de intensidade de pixel para a avaliação dos efeitos de um antioxidante foram escassos. Vale ressaltar ainda, que os parâmetros numéricos de parênquima dos órgãos da bolsa testicular não são padronizados pelo fato de serem variáveis segundo raça, idade e nutrição (PASTORE et al., 2015; RODRIGUES, 2018).

2.2.1 Testículos

Para um assertivo exame dos testículos, uma inspeção e uma palpação adequada devem preceder a avaliação ultrassonográfica, a fim de identificar assimetrias, irregularidades e alterações de temperatura. A seguir deve-se realizar cortes nos planos sagital e transversal percorrendo toda a extensão da bolsa escrotal, avaliando o parênquima testicular, epidídimo, cordão espermático e a parede escrotal. Espera-se um parênquima homogêneo com média ecogenicidade e uma linha ou ponto, a depender do plano de corte, hiperecótico indicando o mediastino (MOMONT; CHECURA, 2014)

Das patologias testiculares de principal importância para esse estudo, as mais frequentes são as degenerações e as afecções provenientes de transtornos inflamatórios e neoplásicos (SIMÕES, 2015).

Em vista disso, na ultrassonografia, as degenerações testiculares assumem formas heterogêneas com pontos hiperecóticos, indicando possível fibrose, a

dependem do grau de evolução (AHMADI et al., 2012; BRITO et al., 2003). Na sua fase mais avançada, os testículos diminuem de tamanho e aumentam significativamente sua ecogenicidade. Diferentemente, alterações neoplásicas podem manifestar diversos padrões de ecogenicidade conforme o tipo de infiltrado celular, hiperecótico, misto ou hipocótico em relação ao parênquima fisiológico. Inflamações testiculares podem ser notadas com o aumento da heterogenicidade geral do órgão (KASTELIC; BRITO, 2012)

Embora já tenha sido comprovada a ausência de correlação entre a intensidade de pixel do parênquima testicular e a qualidade seminal, o mesmo estudo mostrou sua utilidade no diagnóstico de lesões fibróticas testiculares (TOMLINSON, 2017).

2.2.2 Epidídimos

As alterações de epidídimo e cordão espermático também influenciam diretamente na qualidade espermática de touros. Destacam-se epididimite, espermatocele, traumas, hemorragias, obstruções e granuloma espermático, se tratando de epidídimo.

A cabeça do epidídimo pode ser encontrada em um corte sagital, em uma posição dorsocranial da bolsa testicular. Fisiologicamente, possui um padrão menos ecogênico que o parênquima testicular. Já a cauda do epidídimo pode ser localizada ventrocaudalmente ao testículo, podendo ser facilmente palpada e identificada na ultrassonografia, apresentando padrão heterogêneo (MOMONT; CHECURA, 2014).

2.3 ANTIOXIDANTES NA ANDROLOGIA

Diversos estudos já comprovaram a ação prejudicial que o desequilíbrio nos níveis das espécies reativas de oxigênio podem causar na função reprodutiva dos touros (HENKEL et al., 2003; OZMEN et al., 2007; TAROZZI et al., 2007; TREMELLEN, 2018). Através da peroxidação lipídica, o estresse oxidativo é capaz de lesionar membranas celulares e alterar sua permeabilidade seletiva, diminuindo a chance dos espermatozóides realizarem os processos de reação acrossomal e fertilização adequadamente (AITKEN e KRAUSZ, 2001; COCUZZA et al., 2007; OLUWAKEMI e OLUFFEYISPE, 2016). Além disso, o aumento nos níveis das

espécies reativas de oxigênio pode atingir as fitas de DNA ou mesmo afetar o empacotamento da cromatina (CHANDRA, 2015).

Em consequência disso, para que se mantenha a homeostase redox, é necessário o desenvolvimento de substâncias que consigam diminuir a oxidação de um substrato, convertendo as espécies reativas de oxigênio em moléculas de água. Para isso, enzimas, intituladas de antioxidantes, fazem uso de cofatores para a realização de suas particulares reações. Diferentemente, antioxidantes não enzimáticos, como o selênio, coenzima Q10, ácido úrico, ácido lipoico, zinco, as taurinas, as glutatonas, grupo carotenoide, ascorbato, tocoferol e grupo flavonóide, removem o agente oxidante ou recuperam áreas já lesadas (LEITE et al., 2011).

2.3.1 Astaxantina

Os carotenóides, família que compreende mais de 600 pigmentos, são divididos em carotenos e xantofilas, onde as xantofilas possuem em sua estrutura oxigênio, além de apenas carbono e hidrogênio, como os carotenos (HIGUERA-CIAPARA; FELIX-VALENZUELA; GOYCOOLEA, 2006). A astaxantina é um exemplo de xantofila e é produzida, entre outros organismos, pela microalga *Haemococcus pluvialis* e sinteticamente (NISHIDA et al., 2022), apresentando coloração vermelha e efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e antineoplásicos já constatados (DOKUMACIOGLU et al., 2018; HEIDARI-KHOEI et al., 2019; QAMAR et al., 2020; GUO et al., 2021; KOHANDEL et al., 2022).

O carotenóide mais estudado até o presente momento é o betacaroteno, que possui ação pró-Vitamina A essencial para os organismos animais que são incapazes de sintetizá-la. Diferentemente deste, a astaxantina não satisfaz essa função, salvo em cenários de intensa deficiência (SANGEETHA; BASKARAN, 2010). Porém, quando comparada a outros carotenóides, a ação antioxidante da astaxantina é, no mínimo, 10 vezes maior (DOKUMACIOGLU et al., 2018; HEIDARI-KHOEI et al., 2019; QAMAR et al., 2020, GUO et al., 2021). Essa particularidade lhe é conferida por sua composição química estrutural, que conta com os grupos hidroxila e cetona, predispondo sua estrutura à oxidação. Além disso, ela age na captura de radicais livres na superfície e no interior da membrana

fosfolipídica, por meio da cadeia de polieno e da porção terminal do anel (HUSSEIN et al., 2006; KISHIMOTO et al., 2010; SANTOS-SANCHEZ et al., 2020).

Em relação ao seu efeito anti-inflamatório, a astaxantina possui mecanismos bem descritos, inibindo a produção de mediadores inflamatórios e de algumas enzimas adaptativas, além de regular quimiocinas e citocinas e promover a produção de fatores de atenuação da inflamação. Na medicina humana, foi relatado seus efeitos benéficos em doenças neurológicas, gastrointestinais, hepáticas, renais e dermatológicas (CHANG; XIONG, 2020).

3. OBJETIVOS

Avaliar o impacto da suplementação oral de astaxantina sobre os achados ultrassonográficos de testículos e epidídimos de touros Nelore de baixa qualidade espermática.

4. METODOLOGIA

4.1 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Utilizou-se cinco touros da raça Nelore com idade média acima de 24 meses e 750 kg de peso, que foram mantidos em piquetes individuais, com acesso a silagem de milho, e água ad libitum. Os animais foram aleatoriamente alocados em dois grupos experimentais: controle (sem suplementação com astaxantina oral – CONT, n = 2) e tratados (com suplementação de astaxantina oral – ASTX, n = 3). Os animais do grupo ASTX, foram suplementados com astaxantina – 0,50 mg por kg de peso vivo por dia (COSTA, 2021), por meio do fornecimento de sachês em pó (PRIYADARSHINI; AGGARWAL, 2018), manipulados em farmácia veterinária a partir da associação do princípio ativo com suplemento mineral pronto para bovinos de corte (Fosbovi® - Tortuga, Brasil).

A suplementação foi administrada uma vez ao dia, por 60 dias. Os animais do grupo CONT receberam um sachê placebo contendo apenas o veículo mineral (sem astaxantina). Optou-se por esta apresentação farmacológica para garantir a ingestão da dose diária.

Com o objetivo de explorar a capacidade terapêutica da astaxantina, foram selecionados apenas touros com histórico de alta contagem de defeitos espermáticos totais (> 30% em 200 células).

4.2 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA

Avaliações ultrassonográficas modo-B foram realizadas utilizando equipamento SonoScape E2V® com um transdutor transretal na frequência de 7,5 MHz. Os touros foram contidos em um brete adequado e mantidos em posição quadrupedal. Não foi utilizado nenhum tipo de sedação. Os exames constituem uma avaliação dos testículos, epidídimos e cordões espermáticos através de todo o perímetro da bolsa escrotal. Os exames foram performados por um médico veterinário qualificado, objetivando formar imagens de alta qualidade, evitando-se artefatos. As imagens foram salvas e, posteriormente, avaliadas.

Através do programa Image-Pro Plus® versão 4.5.0.29 (Media Cybernetics Inc., San Diego, CA, USA), as imagens foram analisadas com os valores numéricos de pixel em escala de cinza de 0 (preto absoluto) a 255 (branco absoluto). A intensidade de pixel testicular foi medida pela mensuração de 6 círculos de 1 centímetro de diâmetro no parênquima testicular (três laterais e três mediais) e distando aproximadamente 1 centímetro do mediastino. Para a cauda do epidídimo, foi avaliado apenas um círculo de maior tamanho possível, buscando avaliar a maior área. Foram obtidos os valores médios, mínimos, máximos e de desvio padrão de pixel. (Figura 1).

Foram calculadas média e desvio padrão, com diferença significativa mínima com 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores quantitativos dos padrões ultrassonográficos de pixel do parênquima testicular e epididimário dos dois grupos (ASTX e CONT) estão apresentados na Tabela 1. Não houve diferença estatística significativa para nenhuma variável analisada nesse estudo ($p > 0,05$).

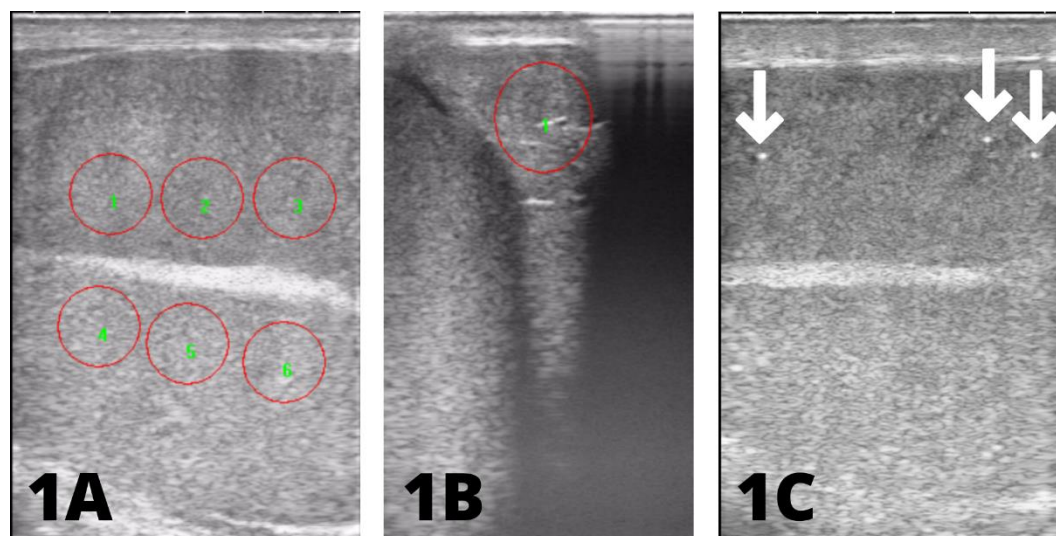


Figura 1. Imagens ultrassonográficas modo-B de testículo (1A) e cauda do epidídimo (1B). Imagem de parênquima testicular com focos hiperecóticos apontados pelas setas (1C).

Tabela 1. Média \pm desvio padrão de pixel (média, mínimo, máximo e desvio padrão) do parênquima testicular e epidídimos de bovinos.

Variáveis	ASTX		CONT	
	Inicial	Final	Inicial	Final
Testículos				
Média	153,13 \pm 20,89	160,66 \pm 22,18	164,83 \pm 16,88	171,62 \pm 30,49
Mínimo	98 \pm 17,75	103 \pm 17,49	107,25 \pm 13,52	109,62 \pm 24,96
Máximo	205,16 \pm 28,33	211,72 \pm 25,79	213,58 \pm 17,64	219,95 \pm 24,58
Desvio padrão	15,38 \pm 2,01	16,53 \pm 2,57	15,67 \pm 2,06	16,52 \pm 2,30
Epidídimo				
Média	77,33 \pm 17,99	89,67 \pm 7,85	108,50 \pm 5,50	109,00 \pm 11,00
Mínimo	34,00 \pm 11,22	33,00 \pm 0,82	52,50 \pm 5,50	37,00 \pm 3,00
Máximo	141,67 \pm 19,07	188,00 \pm 11,31	220,50 \pm 29,50	221,50 \pm 19,50
Desvio padrão	17,63 \pm 0,72	21,62 \pm 2,56	21,51 \pm 2,06	22,92 \pm 1,88

Todas as variáveis da tabela apresentaram diferença estatística $p > 0,05$.

A astaxantina tem sido estudada em diversas espécies, mostrando potencial tanto para aplicação em biotecnologias, quanto na utilização clínica, principalmente em alterações reprodutivas. Comhare et al. (2005) estudou a utilização de astaxantina como tratamento complementar em homens subférteis e observou uma diminuição nas quantidades de espécies reativas de oxigênio, além de melhorar a taxa de prenhez significativamente. Nafaji et al. (2020) mostrou que a astaxantina

reverteu danos causados pelo estresse oxidativo no epitélio testicular em galos reprodutores.

Vários pesquisadores já estudaram os efeitos da astaxantina na reprodução animal, sobretudo com enfoque em diluentes para criopreservação de sêmen e em meios de cultivo celular (BASIOURA et al., 2020; FANG et al., 2015; KIM; LEE, 2018; ISPADA et al., 2018), porém não existem teses sobre a suplementação oral desse antioxidante na andrologia bovina.

Costa et al. (2021) melhorou a taxa de recuperação de oócitos viáveis em vacas holandesas através da suplementação de astaxantina oral. Na produção, a astaxantina garantiu maior ganho de peso, quando adicionada à dieta, em novilhas Karan Fries; isso ocorre pela ação antioxidante que mitigou os efeitos prejudiciais do estresse térmico causados pelo calor da Índia (KUMAR; SINGH, 2018). Ambos os estudos provam o efeito sistêmico potencial da astaxantina oral.

Como esperado pelo histórico de baixa qualidade seminal, todos os touros apresentavam uma ecogenicidade de parênquima testicular superior aos padrões da raça encontrados em outros estudos no início do experimento (ARTEAGA; BARTH; BRITO, 2005; PASTORE et al., 2015; RODRIGUES, 2018) e, ao final da administração, esse parâmetro permaneceu inalterado.

Na avaliação de epidídimo, os resultados iniciais e finais do grupo ASTX se aproximaram mais dos encontrados por Rodrigues (2018) para a raça Nelore acima de 18 meses. Os valores acima do esperado para o grupo CONT podem indicar possíveis patologias que justificariam o histórico de baixa qualidade espermática desses touros.

Um touro apresentou pontos hiperecóticos no parênquima testicular (Figura 1), podendo apontar para um processo infeccioso, traumático ou degenerativo (BARTH, 2008). A astaxantina não teve efeito sobre qualquer aspecto desses focos.

Em suma, a astaxantina não foi capaz de reverter alterações dos órgãos da bolsa escrotal a níveis ultrassonográficos. Ensaios maiores serão necessários para a confirmação dos resultados, avaliando principalmente a qualidade do sêmen, além de apreciar a possibilidade da combinação da astaxantina com outras terapias convencionais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMADI, B.; LAU, C. P.; GIFFIN, J.; SANTOS, N.; HAHNEL, A.; RAESIDE, J.; CHRISTIE, H.; BARTLEWSKI, P. Suitability of epididymal and testicular ultrasonography and computerized image analysis for assessment of current and future semen quality in the ram. **Experimental Biology and Medicine**, v.237, n. 2, p. 186-193, 2012.

AITKEN, R. J.; KRAUSZ, C. Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. **Reproduction**, v. 122, 497-506, 2001.

ALAHMAR, A. T. The effects of oral antioxidants on the semen of men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. **Clinical and Experimental Reproductive Medicine**, v. 52, n. 2, p. 57-66, 2018.

ARTEAGA, A. A.; BARTH, A. D.; BRITO, L. F. C. Relationship between semen quality and pixel–intensity of testicular ultrasonograms after scrotal insulation in beef bulls. **Theriogenology**, v. 64, n. 2, p. 408–415, jul. 2005.

BARTH, A. D. et al. Fibrotic lesions in the testis of bulls and relationship to semen quality. **Animal Reproduction Science**, v. 106, n. 3-4, p. 274–288, jul. 2008.

BASIOURA, A.; TSAKMAKIDIS, I. A.; MARTINEZ, E. A.; ROCA, J.; LI, J.; MOLINA, M. F.; MOLINA, M. F.; THEODORIDIS, A.; BOSCOS, C. M.; PARRILLA, I. Effect of astaxanthin in extenders on sperm quality and functional variables of frozen-thawed boar semen. **Animal Reproduction Science**, v. 218, 2020.

BRITO, L. F. C.; SILVA, A. E. D. F.; BARBOSA, R. T.; UNANIAN, M. M.; KASTELIC, J. P. Effects of scrotal insulation on sperm production, semen quality, and testicular echotexture in *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* bulls. **Theriogenology**, v. 79, n. 1-2, p. 1-15, 2003.

CHANDRA, K.; SALMAN, A. S.; MOHD, A.; SWEETY, R.; ALI, K. N. Protection against FCA induced oxidative stress induced DNA damage as a model of arthritis and in vitro anti-arthritic potential of *costus speciosus* rhizome extract. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v.7, p. 383–389, 2015.

CHANG, M. X.; XIONG, F. Astaxanthin and its Effects in Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases: Recent Advances and Future Directions. **Molecules**, v. 25, n. 22, p. 5342, 16 nov. 2020.

COCUZZA, M.; SIKKA, S. C.; ATHAYDE, K. S.; AGARWAL, A. Clinical Relevance of Oxidative Stress and Sperm Chromatin Damage in Male Infertility: An Evidence Based Analysis. **International Brazilian Journal of Urology**, v. 33, n. 5, p. 603-621, 2007.

COMHAIRE, F. H. et al. Combined conventional/antioxidant “Astaxanthin” treatment for male infertility: a double blind, randomized trial. **Asian Journal**

of **Andrology**, v. 7, n. 3, p. 257–262, set. 2005.

COSTA, R. A. **Efeito da Suplementação com Astaxantina na Qualidade Oocitária e Desenvolvimento In Vitro de Embriões de Vacas Holandesas Durante o Verão**. 2021. 79 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, 2021.

DOKUMACIOGLU, E.; ISKENDER, H.; YENICE, G.; KAPAKIN, K. A.T.; SEVIM, C.; HAYIRLI, A.; SARAL, S.; COMAKLI, S. Effects of astaxanthin on biochemical and histopathological parameters related to oxidative stress on testes of rats on high fructose regime. **Andrologia**, v. 50, n. 7, 2018.

FANG, Y.; ZHONG, R.; CHEN, L.; FENG, C.; SUN, H.; ZHOU, D. Effects of astaxanthin supplementation on the sperm quality and antioxidante capacity of ram semen during liquid storage. **Small Ruminant Research**, v. 130, p. 178-182, 2015.

GUO, H. T.; WANG, J. R.; SUN, L. Z.; JIN, X. H.; SHI, X. Y.; SHI, X. Y.; YUE, S. L.; YUE, S. L. Effects of astaxanthin on plasma membrane function and fertility of boar sperm during cryopreservation. **Theriogenology**, v. 164, p. 58-64, 2021.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. São Paulo, Brasil, Manole, 7ed, 2004.

HEIDARI-KHOEI, H.; FAKHRI, S.; PARVARDEH, S.; SHAMS MOFARAHE, Z.; BANINAMEH, Z.; VARDIANI, M. Astaxanthin prevents the methotrexate-induced reproductive toxicity by targeting oxidative stress in male mice. **Toxin Reviews**, v. 38, n. 3, p. 248-254, 2019.

HENKEL, R.; KIERSPEL, E.; HAJIMOHAMMAD, M.; STALF, T.; HOOGENDIJK, C.; MEHNERT, C.; MENKVELD, R.; SCHILL, W. B.; KRUGER, T. F. DNA fragmentation of spermatozoa and assisted reproduction technology. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 7, n. 4, p. 477- 484., 2003.

HIGUERA-CIAPARA, I.; FÉLIX-VALENZUELA, L.; GOYCOOLEA, F. M. Astaxanthin: A Review of its Chemistry and Applications. **Food Science and Nutrition**, v. 46, p. 185-196, 2006.

HUSSEIN, G.; SANKAWA, U.; GOTO, H.; MATSUMOTO, K.; WATANABE, H. Astaxanthin, a Carotenoid with Potential in Human Health and Nutrition. **Journal of Natural Products**, v.69, n. 3, 2006.

ISPADA, J. et al. Astaxanthin counteracts the effects of heat shock on the maturation of bovine oocytes. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 30, n. 9, p. 1169, 2018.

KASTELIC, J.; BRITO, L. Ultrasonography for Monitoring Reproductive Function in the Bull. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p. 45–51, jun. 2012.

KISHIMOTO, Y.; TANI, M.; UTO-KONDO, H.; IIZUKA, M.; SAITA, E.,

- SONE, H.; KURATA, H.; KONDO, K. Astaxanthin suppresses scavenger receptor expression and matrix metalloproteinase activity in macrophages. **European Journal of Nutrition**, v. 49, p. 119-126, 2010.
- KOHANDEL, Z.; FARKHONDEH, T.; ASCHNER, M.; POURBAGHER-SHAHRI, A. M.; SAMARGHANDIAN, S. Anti-inflammatory action of astaxanthin and its use in the treatment of various diseases. **Biomedicine; Pharmacotherapy**, v. 145, 2022.
- KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos Animais Domésticos: Texto e Atlas Colorido**. 6ª. Ed, p. 417-419: Artmed, 2016.
- KUMAR, S.; SINGH, S. V. Influence of astaxanthin supplementation on attainment of puberty and lipid peroxidation in Sahiwal and Karan Fries (Holstein × Tharparkar) heifers during summer season. **Biological Rhythm Research**, v. 51, n. 1 p. 15-28, 2020.
- LEE, E.; KIM, D. Effects of Astaxanthin on Miniature Pig Sperm Cryopreservation. **BioMed Research International**, v. 2018, p. 1–9, 2018.
- LEITE, P. A.; SCHREDER, G. G.; ALMEIDA, C. L. R.; ZÚCCARI, C. E. S. N.; SILVA, E. V. C. criopreservação do Sêmen Bovino. UNOPAR Científica. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 13, p. 279-286, 2011.
- MOMONT, H.; CHECURA, C. Ultrasound Evaluation of the Reproductive Tract of the Bull. **Bovine Reproduction**, p. 79–91, 22 ago. 2014.
- NAJAFI, D. et al. Effect of astaxanthin nanoparticles in protecting the post-thawing quality of rooster sperm challenged by cadmium administration. **Poultry Science**, v. 99, n. 3, p. 1678–1686, mar. 2020.comh
- NISHIDA, Y.; NAWAZ, A.; HECHT, K.; TOBE, K. Astaxanthin as a Novel Mitochondrial Regulator: A New Aspect of Carotenoids, beyond Antioxidants. **Nutrients**, v.14, n. 107, 2022.
- OLUWAKEMI, O.; OLUFEYISIPE, A. DNA fragmentation and oxidative stress compromise sperm motility and survival in late pregnancy exposure to omega-9 fatty acid in rats. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 19, p. 511-520, 2016.
- OZMEN, B.; KOUTLAKI, N.; YOUSSEY, M.; DIEDRICH, K.; AL-HASANI, S. DNA damage of human spermatozoa in assisted reproduction: origins, diagnosis, impacts and safety. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 14, n. 3, p. 384-395, 2007.
- PALMEIRO, A. J. M. **Otimização da eficiência reprodutiva numa vacada no Alentejo – Estudo de caso**. Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa para obtenção do grau de mestre em Medicina Veterinária, orientada por Rui Jorge Batista Martelo e coorientada por George Thomas Stilwell. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa (hoje Universidade de Lisboa), 2013.

- PASTORE, A. A.; TONIOLLO, G. H.; CARDILLI, D. J.; CANOLA, J. C.; MERCADANTE, M. E. Z.. Contribuição da ultrassonografia na avaliação andrológica de bovinos Nelore. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, Belo Horizonte, v. 39, n. 1, p. 32-40, 1 mar. 2015. Disponível em: www.cbra.org.br. Acesso em: 12 out. 2022.
- PRIYADARSHINI, L.; AGGARWAL, A. Effect of Astaxanthin Supplementation on Blood Plasma Leptin and IgG Profiles in Pre and Postpartum Murrah (*Bubalus bubalis*) Buffaloes during Different Seasons. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, n. 6, p. 1303-1311, 2018.
- QAMAR, A. Y.; FANG, X.; BANG, S.; SHIN, S. T.; CHO, J. The effect of Astaxanthin supplementation on the post-thaw quality of dog semen. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 55, n. 9, p. 1163-1171, 2020.
- RODRIGUES N. N. **Biometria e parâmetros ultrassonográficos de testículos, epidídimos e glândulas genitais acessórias em touros Nelore e Caracu em duas classes de idade**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / Jaboticabal, 2018.
- SANGEETHA, R. K.; BASKARAN, V. Retinol-deficient rats can convert a pharmacological dose of astaxanthin to retinol: Antioxidant potential of astaxanthin, lutein, and β -carotene. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 88, p. 977–985, 2010.
- SANTOS-SÁNCHEZ, N. F.; HERNÁNDEZ-CARLOS, B.; TORRES-ARIÑO, A.; SALAS-CORONADO, R. Astaxanthin and its Formulations as Potent Oxidative Stress Inhibitors. **Pharmacognosy Reviews**, v. 14, n. 27, p. 8-15, 2020.
- SIMÕES M. R. S. Ultrassonografia como diagnóstico da integridade testicular de bovinos. **Rev. Cient. Rural-Urcamp**, Bagé-RS, vol. 17, n.1, 2015.
- TAROZZI, N.; BIZARRO, D.; FLAMIGNI, C.; BORINI, A. Clinical relevance of sperm DNA damage in assisted reproduction. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 14, n. 6, p. 746-757, 2007.
- TREMELLEN, K. Oxidative stress and male infertility—a clinical perspective. **Human Reproduction Update**, v. 14, n. 3, p. 243–258, 2008.
- TOMLINSON, M. The value of trans-scrotal ultrasonography at bull breeding soundness evaluation (BBSE): The relationship between testicular parenchymal pixel intensity and semen quality. **Theriogenology**, v. 89, p. 169–177, fev. 2017.