

CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE TESTOSTERONA EM RUFIÕES EQÜINOS DA RAÇA MANGALARGA¹

Luiz Antonio Franco Silva,² Maria Clorinda Soares Fioravanti,² Antonio Pinho Marques Jr.³ e Luiz Altamiro Garcia Nogueira⁴

ABSTRACT

Plasmic Concentration of Testosterone in Mangalarga Stallion Teasers

The plasmic concentration of testosterone in Mangalarga stallions teasers was estimated to be compared to stallions, in different seasons. Fifteen stallions divided into 3 groups of 5 animals each were used. Group I was used as control, and the all animals from groups II and III were made teasers by the method of circumsision with penis shortening. No diferences were observed.

KEY WORDS: Equine, testosterone, teasers.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar a concentração plasmática de testosterona em rufiões eqüinos da raça Mangalarga. Utilizaram-se 15 eqüinos, não castrados, com idade variando de 38 a 55 meses, separados em três grupos de cinco animais. O Grupo I foi utilizado para controle e os Grupos II e III foram transformados em rufiões pelo método de circuncisão com encurtamento do pênis. Não foi observada diferença estatisticamente significativa nos níveis plasmáticos do hormônio entre ganhões e rufiões e nem entre as diferentes épocas de avaliação.

PALAVRAS-CHAVE: Eqüino, testosterona, rufião.

INTRODUÇÃO

Vários fatores afetam a fertilidade na espécie eqüina. Um deles é a identificação do cio. Muitos criatórios têm procurado sanar esse problema por meio da utilização de rufiões.

Os mecanismos que controlam o comportamento reprodutivo do ganhão não estão totalmente esclarecidos. Os hormônios androgênicos, entretanto, são necessários para a expressão característica do macho (McDonnel 1986, McDonnel 1989). Na literatura disponível não foi encontrado qualquer trabalho que determinasse as concentrações

1 Entregue para publicação em agosto de 1995.

2 Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. C.P. 131. CEP 74001-970 - Goiânia-GO

3 Universidade Federal de Minas Gerais

4 Universidade Federal Fluminense

plasmáticas de testosterona em rufiões eqüinos, o que dificulta a avaliação do desempenho sexual desses animais.

Em garanhões existe uma variabilidade muito grande na conduta sexual, que pode ser também afetada pela idade, pelo ambiente, pelo estado nutricional, pela dor e pela estação do ano (Andrade 1986, McDonnel 1987). Também para Berndtson *et al.* (1977), a idade e a estação do ano influenciam o comportamento sexual dos garanhões, mas os autores acrescentam que as variações dos níveis séricos de testosterona podem também aí ter influência.

O comportamento sexual de 20 pôneis castrados foi observado durante quatro minutos de exposição a uma fêmea em cio, induzido através da aplicação subcutânea de 0,5 mg de cipionato de estradiol, em dias alternados, para cada avaliação. Após a castração, os cavalos foram divididos em três grupos, sendo que o primeiro recebeu, subcutaneamente, 200 mg/kg de propionato de testosterona, em óleo, de 48 em 48 horas, por três semanas, para manter a concentração plasmática desse hormônio. O segundo grupo recebeu o fator liberador dos hormônios gonadotróficos (GnRH), na dosagem de 25 mg via subcutânea, a cada três horas, durante três semanas. Tal método, em pôneis, duplica os níveis de testosterona plasmática, uma a duas horas após a aplicação do fator. O terceiro recebeu a combinação de GnRH e testosterona. Esse grupo apresentou duração do galanteio e frequência do reflexo de "Flehmen" significativamente ($P < 0,01$) maiores e frequência de vocalização, assim como duração da ereção, significativamente ($P < 0,01$) menores do que o grupo que recebeu apenas testosterona. Só o GnRH não apresentou efeito aparente sobre o comportamento sexual dos cavalos, levando-se a acreditar que os dois hormônios atuam conjuntamente para maior evidênciação do comportamento pré-copulatório em garanhões (McDonnel *et al.* 1989).

Os níveis de testosterona nos garanhões são dependentes da idade, estação de cruzamento e horário em que são coletadas as amostras. O valor médio encontrado em animais sexualmente maduros foi de $2,10 \pm 0,10$ ng/ml, sendo que as concentrações máximas foram verificadas pela manhã (Ganjam & Kenney 1975, McDonnell 1980). Entretanto, ao se compararem os níveis plasmáticos desse hormônio em garanhões criptorquídicos e normais, com idade entre um e cinco anos, observou-se uma concentração média de $0,71 \pm 0,46$ e de $0,62 \pm 0,41$ ng/ml, respectivamente, entre os dois tipos de animais testados (Coryn *et al.* 1981). Para McDonnell *et al.* (1989), a concentração plasmática de testosterona variou de 0,35 a 1,75 ng/ml para garanhões normais, e para eqüinos castrados a média permaneceu em torno de 0,1 ng/ml.

No garanhão existe um *feedback* positivo do hormônio luteinizante sobre as concentrações plasmáticas de testosterona. Assim, verifica-se um aumento deste último na primavera e no verão, e uma diminuição no outono e no inverno (Hyland 1990), podendo atingir 0,30 ng/ml nos meses de maior luminosidade e 0,12 ng/ml naqueles com fotoperíodo menor (Harris *et al.* 1983). Uma sazonalidade para esse hormônio foi verificada também em garanhões selvagens, com 34 animais adultos apresentando um pico de $3,04 \pm 0,63$ ng/ml no mês de maio e $1,55 \pm 0,34$ em dezembro e com valores médios maiores que 2,4 ng/ml durante a estação reprodutiva e menores que 2 ng/ml fora desta (Turner & Kirkpatrick 1982).

Com o intuito de aprimorar os parâmetros que podem afetar o desempenho sexual de rufiões eqüinos da raça Mangalarga, preparados através de circuncisão com encurtamento do pênis, fez-se uma determinação da concentração plasmática de testosterona nesses animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 15 eqüinos machos, não castrados, da raça Mangalarga, com idade inicial variando de 38 a 55 meses, procedentes de diversos municípios do Estado de Goiás.

Os eqüinos foram separados ao acaso dentro do plantel disponível, em três grupos, contendo cinco animais cada um, sendo que o Grupo I foi utilizado para controle e os Grupos II e III foram transformados em rufiões através da metodologia de circuncisão com encurtamento de pênis, utilizando-se técnica similar à de Turner & Mcilwraith (1985) e Colahan *et al.* (1991).

Todos os animais foram submetidos a uma avaliação prévia do desempenho sexual, utilizando-se critérios semelhantes àqueles estabelecidos por McDonnell (1986), os quais foram também utilizados após a cirurgia. A avaliação do desempenho sexual dos animais foi realizada no curral, mas os grupos I e III permaneceram separados das fêmeas durante todo o experimento, exceto no momento da rufiação.

Cerca de 10 ml de sangue de cada animal foram colhidos em frascos, contendo etileno-diamino-tetra-acetato a 10%, por punção da veia jugular, dois dias antes da cirurgia, aos 45, 100 e 180 dias do pós-operatório. O material foi submetido a 3.000 rpm, por dez minutos e o plasma obtido foi armazenado a -20°C, para posterior determinação da concentração plasmática de testosterona. Todas as colheitas foram realizadas obedecendo sempre à mesma ordem e horário. Os níveis de testosterona de cada animal foram avaliados através de quatro determinações, coincidentes com a época em que os animais foram submetidos à avaliação do comportamento sexual.

Um sistema de espectrofotometria gama¹ foi utilizado para a determinação da concentração de testosterona plasmática nas amostras. Esta determinação foi efetuada utilizando-se equipos comerciais² método direto, usado na rotina do Laboratório de Endocrinologia da EV/UFMG.

Para a análise experimental dos dados relacionados com o comportamento sexual e com a determinação da concentração plasmática de testosterona, utilizou-se o delineamento em parcelas subdivididas com três tratamentos (grupos de eqüinos) e quatro subtratamentos (tempos de observação). A eventual associação entre as variáveis estudadas foi verificada através da correlação de Pearson. Utilizou-se o teste de Tukey para comparar as diferenças entre as médias (Snedecor & Cochran 1967).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A amplitude de variação na concentração de testosterona plasmática, determinada através de radioimunoensaio, oscilou de 0,10 ng/ml a 0,57 ng/ml nos três grupos de

1. BECKMAN, mod. GAMA 310 system USA. - Fullerton - Califórnia-USA.

2. D.P.C. Diagnostic Products Corporation - Los Angeles-USA.

equínos. Os valores médios desses hormônios foram de $0,20 \pm 0,07$ ng/ml para o grupo I, de $0,30 \pm 0,11$ ng/ml para o grupo II e de $0,26 \pm 0,11$ ng/ml para o grupo III (Tabela 1). A análise de variância mostrou não haver diferença significativa ($P > 0,05$) entre os três grupos de equínos e as quatro épocas estudadas.

A associação entre as variáveis idade, parâmetros de comportamento sexual e concentração plasmática de testosterona está demonstrada na Tabela 2.

As médias encontradas neste experimento foram semelhantes às determinadas por Coryn *et al.* (1981), McDonnel *et al.* (1989) e Hyland (1990), porém menores que as citadas por Ganjan & Kenney (1975), McDonald (1980) e Harris *et al.* (1983). Essas variações se devem provavelmente às diferenças de idade e grau de maturidade sexual entre os animais utilizados nos diferentes trabalhos.

Tabela 1: Concentração plasmática de testosterona (média \pm DP) em quatro diferentes épocas de avaliação, em equínos da raça Mangalarga

Grupos	Nº Do Animal	Épocas de Observação				Média \pm Dp	
		(¹) 1	2	3	4	Individual	Grupo
I	1	0,33	0,37	0,32	0,27	0,32 \pm 0,03	
	2	0,12	0,14	0,15	0,11	0,13 \pm 0,01	
	3	0,14	0,13	0,14	0,12	0,13 \pm 0,01	
	4	0,2	0,26	0,18	0,19	0,21 \pm 0,01	
	5	0,21	0,23	0,25	0,24	0,23 \pm 0,01	
Méd. Período \pm DP		0,20 \pm 0,07	0,22 \pm 0,08	0,21 \pm 0,06	0,18 \pm 0,06		
II	6	0,51	0,27	0,24	0,25	0,31 \pm 0,11	
	7	0,28	0,32	0,24	0,3	0,28 \pm 0,03	
	8	0,1	0,16	0,13	0,23	0,15 \pm 0,05	
	9	0,49	0,37	0,38	0,37	0,40 \pm 0,05	
	10	0,49	0,35	0,34	0,36	0,38 \pm 0,06	
Méd. Período \pm DP		0,37 \pm 0,16	0,29 \pm 0,07	0,26 \pm 0,08	0,30 \pm 0,05		
III	11	0,24	0,11	0,12	0,11	0,14 \pm 0,05	
	12	0,21	0,22	0,36	0,23	0,25 \pm 0,06	
	13	0,44	0,57	0,32	0,28	0,40 \pm 0,11	
	14	0,27	0,31	0,27	0,32	0,29 \pm 0,02	
	15	0,25	0,22	0,25	0,22	0,23 \pm 0,01	
Méd. Período \pm DP		0,28 \pm 0,08	0,28 \pm 0,15	0,26 \pm 0,08	0,23 \pm 0,07		
Méd. geral per.		0,28 \pm 0,13	0,26 \pm 0,12	0,24 \pm 0,08	0,24 \pm 0,08		

¹ Diferentes épocas de colheita das amostras (dois dias antes da cirurgia, aos 45, 100 e 180 dias do pós-operatório).

DMS para comparar as médias do grupo = 0,15

DMS para comparar as médias dos tempos de observação = 0,06

Diferença não significativa ($P > 0,05$)

Tabela 2: Coeficiente de correlação (r) entre idade, número de montas com ereção, número de reflexos de "Flehmen", tempo à ereção, tempo à primeira monta, número de vocalizações, número de mordiscamentos, número de descansos e concentração plasmática de testosterona.

	Montas Com Ereção	Montas Sem Ereção	Reflexos de "F"	Tempo à Primeira Ereção	Tempo à Primeira Monta	Vocaliz.	Mordisc.	Escoic	Descanso	Nível P. Testost.
Idade	-0,03	0,04	-0,07	-0,14	-0,20	-0,02	-0,06	-0,11	-0,15	-0,25
Mont. c/ ereção		-0,12	-0,22	-0,38 ¹	0,34 ¹	-0,07	-0,23	-0,05	-0,18	-0,07
Mont. s/ ereção			-0,05	0,02	-0,24	0,16	-0,22	-0,23	0,07	-0,04
Reflexo de "F"				0,46 ¹	0,40 ¹	-0,11	0,18	0,09	0,11	0,11
Tempo à ereção					0,94 ¹	-0,16	0,69 ¹	0,17	0,15	0,22
Tempo à 1ª monta						-0,22	0,74 ¹	0,22	0,13	0,24
Vocalização							-0,19	-0,22	-0,24	-0,13
Mordisca-mento								0,12	0,06	0,21
Escoicea-mento									0,45 ¹	0,03
Descansos										0,06

1 - Significativo (P < 0,05)

A influência da idade e da estação do ano sobre o comportamento reprodutivo dos garanhões e concentrações séricas de testosterona, proporcionando aumento desse hormônio na primavera e no verão e redução no outono e no inverno, foi citada por Berndtson *et al.* (1977) e Hyland (1990). Esta influência é citada também por Ganjam & Kenney (1975), MacDonald (1980), Turner & Kirkpatrick (1982) e Harris *et al.* (1983), que afirmam também que a concentração plasmática de testosterona apresenta variação diária, com o pico ocorrendo pela manhã. Por sua vez, Coryn *et al.* (1981) e McDonnell *et al.* (1989) encontraram como valores normais de testosterona plasmática, para garanhões adultos, de 0,21 a 1,75 ng/ml. Neste estudo, verificou-se que os níveis séricos médios de testosterona variaram de $0,20 \pm 0,07$ a $0,30 \pm 0,11$ ng/ml, não havendo diferença entre as épocas de colheita das amostras. A possível ausência de sazonalidade nas condições brasileiras, fato apontado por Andrade (1986), provavelmente ocorreu na região onde se desenvolveu este experimento, uma vez que não houve diferença para tal hormônio entre as épocas avaliadas. A colheita das amostras sanguíneas realizada num só período (manhã) e sempre na mesma ordem, pode ter contribuído muito para essa uniformidade. A determinação da concentração hormonal teve, neste trabalho, a finalidade de auxiliar a avaliação da libido e do desempenho dos rufiões. A análise estatística sugere, por outro lado, que a técnica cirúrgica empregada não interferiu na concentração do hormônio e que as variações observadas entre animais podem ser devidas, provavelmente, à individualidade.

A associação de testosterona e fatores liberadores do hormônio gonadotrófico (GnRH), aplicada via subcutânea, em pôneis castrados, aumentou a duração da atitude de galanteio, da ereção e da incidência do reflexo de "Flehmen". Aparentemente há pouca correlação entre os níveis normais desses hormônios e o comportamento sexual de garanhões inexperientes (McDonnell *et al.* 1989). Entretanto, neste trabalho, a variabilidade dessas atitudes pode ser atribuída a outros fatores, como ambiente, idade, manipuladores e nutrição, uma vez que não se encontrou, também, qualquer correlação entre os níveis plasmáticos de testosterona e as atitudes expressas pelos rufões durante o cortejo. Além disso, não se utilizou a hormonioterapia neste experimento.

CONCLUSÕES

Nas condições em que já foi realizado este experimento, chegou-se às seguintes conclusões:

- 1 As concentrações plasmáticas de testosterona determinadas em eqüinos da raça Mangalarga foram consideradas normais para a espécie.
- 2 Não foi observada diferença na concentração plasmática de testosterona entre garanhões e rufões.
- 3 Não ficaram evidenciadas variações entre as concentrações plasmáticas de testosterona nas diferentes épocas estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, L.S.** 1986. Fisiologia e manejo da reprodução eqüina. 2. ed. Recife. 387 p.
- Berndtson, W.E , E. L. Squires, D. L. Thompson.** 1974. Reproductive physiology of the stallion. IV. Seasonal changes in the testosterone concentraton of the peripheral plasma. J. Rep. Fert., 39:115.
- Colahan, P. T., I. G. Mayhen & A. M. Merrit .** 1991. Equine medicine and surgery. 4. ed., Goleta: American Veterinary Publications. 1.859p.
- Coryn M., A. Moor & R. Bouters .** 1981. Clinical, morphological and endocrinological aspects of cryptorchidism in the horse. Theriogenology., 16 (4): 488-96.
- Ganjan, V.K. & R. M. Kenney.** 1975. Androgens and oestrogens in normal and cryptorchid stallions. J. Reprod Fert. Suppl., 23: 67-73.
- Harris, J. M., C. H. G. Irvine & M. J. Evans.** 1983. Seasonal changes inserum levels of FSH, LH and testosterone and in semen parameters in stallions. Theriogenology, 19 (3): 311-22.
- Hyland, J. H.** 1990. Reproductive endocrinology: its role in fertility and infertility in the horse. Br. Vet. J., 146 (1): 1-16. Review.
- McDonald, L. E.** 1980. Veterinary endocrinology and reproduction. 3. ed., Philadelphia: Lea & Febiger. 560 p.
- McDonnell, S.** 1986. Rproductive behavior of the stalion. Vet. Clin. of N. Am. E. Practive., 2 (3): 535-55.

- McDonnell, S., N. K. Diehl, & M. C. Garcia . 1989.** Gonadotropin releasing hormone (GNHR) affects precopulatory behavior in testosterone-treated geldings. *Physiol. & Behav.* 45: 145-9.
- Snedecor, G. W. & W. N. Cochran. 1967.** Statistical methods. 6. ed., Iowa: State University Press. 593 p.
- Turner, J. W. & J. F. Kirkpatrick. 1982.** Androgens, behavior an fertility control in feral stallions. *J. Reprod. Ferti. Supl.*, 32: 79-87.
- Turner, A. S. & G.W. McIlwraith. 1985.** Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte. São Paulo: Roca. p. 103-8.