

Alterações da cromatina espermática identificadas por microscopia eletrônica de transmissão e sua associação com a proteômica da cabeça de espermatozoide de touro

Sperm chromatin alterations identified by transmission electron microscopy and their association with bull sperm head proteomic

K.O.E. Blandon^{1*}, L.O. Rocha², M.C. Martins³, A. Nonato³, L. Miglio², M.E. Beletti²

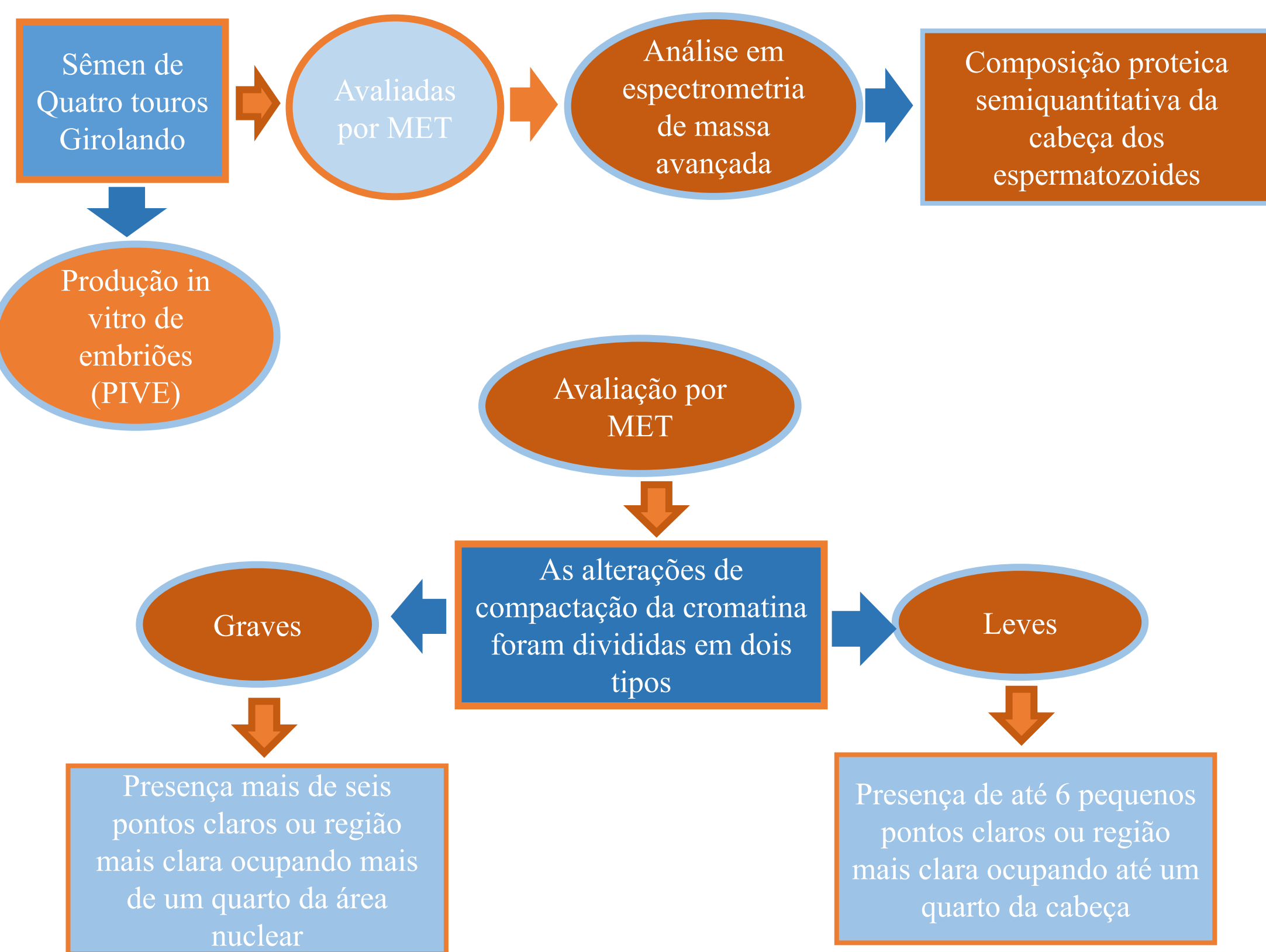
*1Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas – UFU, Uberlândia, MG, Brasil; ²ICBIM - UFU, ³FAMEV - UFU; ²ICBIM - UFU.

INTRODUÇÃO

Sabe-se que alterações na cromatina espermática interferem na fertilidade do macho, diminuindo a capacidade de fecundação do espermatozoide ou interferindo no desenvolvimento embrionário, no caso de um espermatozoide portador de alterações cromatínicas conseguir fecundar o ovócito. As alterações na cromatina vão desde a descompactação com consequente mudança da forma da cabeça e de sua hidrodinâmica até a intensa fragmentação do DNA. Vários são os métodos de identificação de alterações cromatínicas, sendo um deles a microscopia eletrônica de transmissão. Dentre as possíveis causas de alterações cromatínicas espermáticas, está sua composição proteica. Objetivou-se com o presente trabalho correlacionar alterações cromatínicas espermáticas identificadas por microscopia eletrônica de transmissão com o proteoma da cabeça de espermatozoides de touro.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de sêmen de quatro touros Girolando, as quais foram avaliadas por MET. Parte das amostras também foram utilizadas em rotinas de produção in vitro de embriões (PIVE) e para análise em espectrometria de massa avançada, obtendo-se a composição proteica semiquantitativa da cabeça dos espermatozoides.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1: Taxas de clivagem e de blastocistos normalizadas obtidas nas PIVEs de touros de diferentes fertilidades

Touro	Taxa de clivagem normalizada	Taxa de blastocisto normalizada
1	111,57	108,52
2	85,81	78,15
3	49,67	6,00
4	75,19	7,14

Tabela 2: Porcentagem dos graus de alteração cromatínica em cada touro

Touro	Alterações leves	Alterações graves	Sem alteração
1	49,66	4,7	46,64
2	87,66	12,31	0,03
3	36,36	61,36	2,28
4	41,13	51,77	7,1

Tabela 3: Coeficientes de correlação de Pearson entre os graus de alterações cromatínicas e as taxas de clivagem e blastocistos normalizadas obtidas em PIVEs.

	Clivagem	Blastocisto
G1	0,34	0,56
G2	-0,91	-0,98*

Coeficiente de correlação estatisticamente significativo. * (P menor ou igual a 0.05). G1= Alterações leves (Presença de até 6 pequenos pontos claros ou região mais clara ocupando até um quarto da cabeça). G2= Alterações graves (Presença de mais de seis pontos claros ou região mais clara ocupando mais de um quarto da área nuclear).

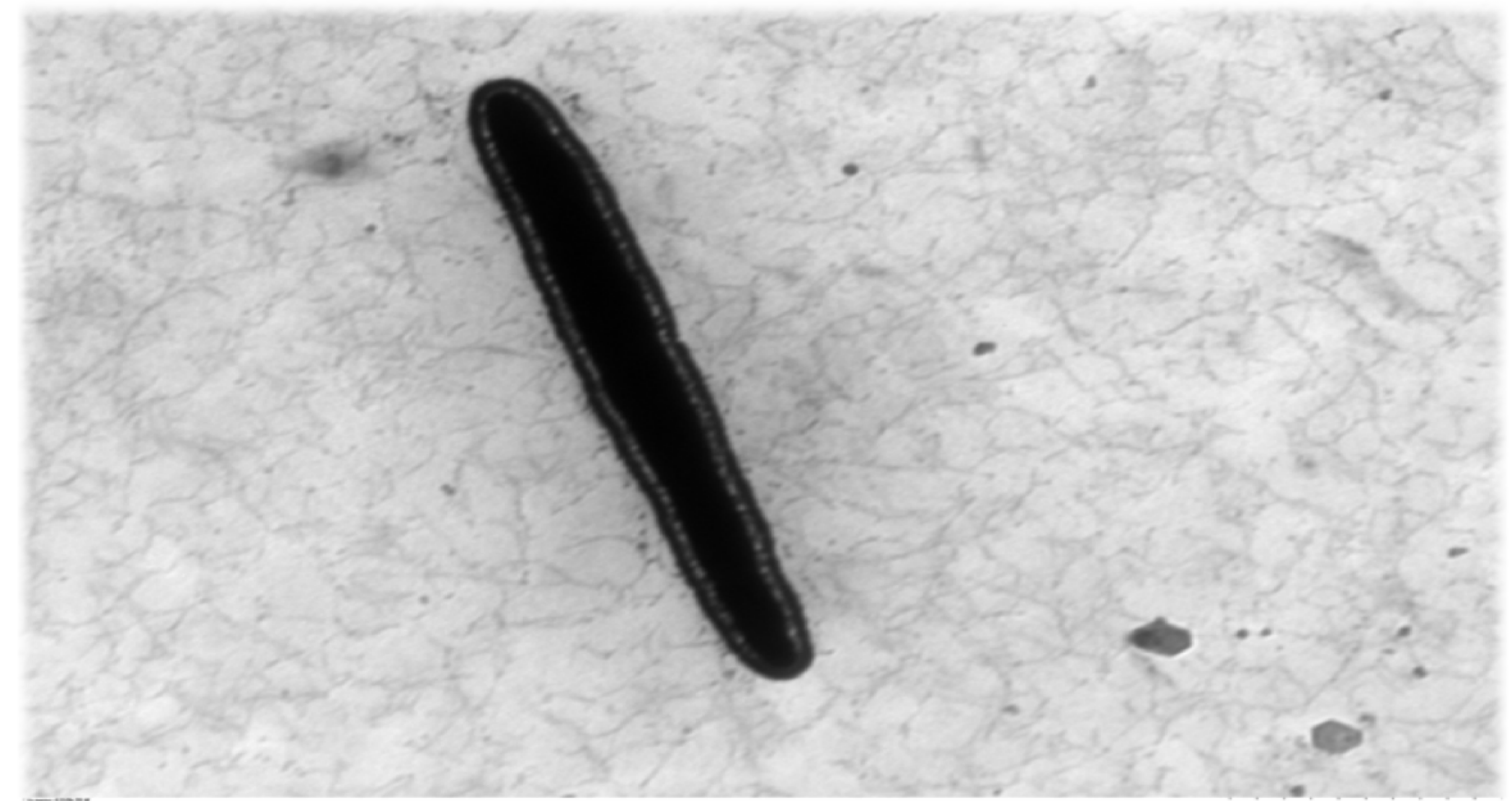


Figura 1 - Corte de uma cabeça de espermatozoide sem alteração cromatínica. (Touro 1)

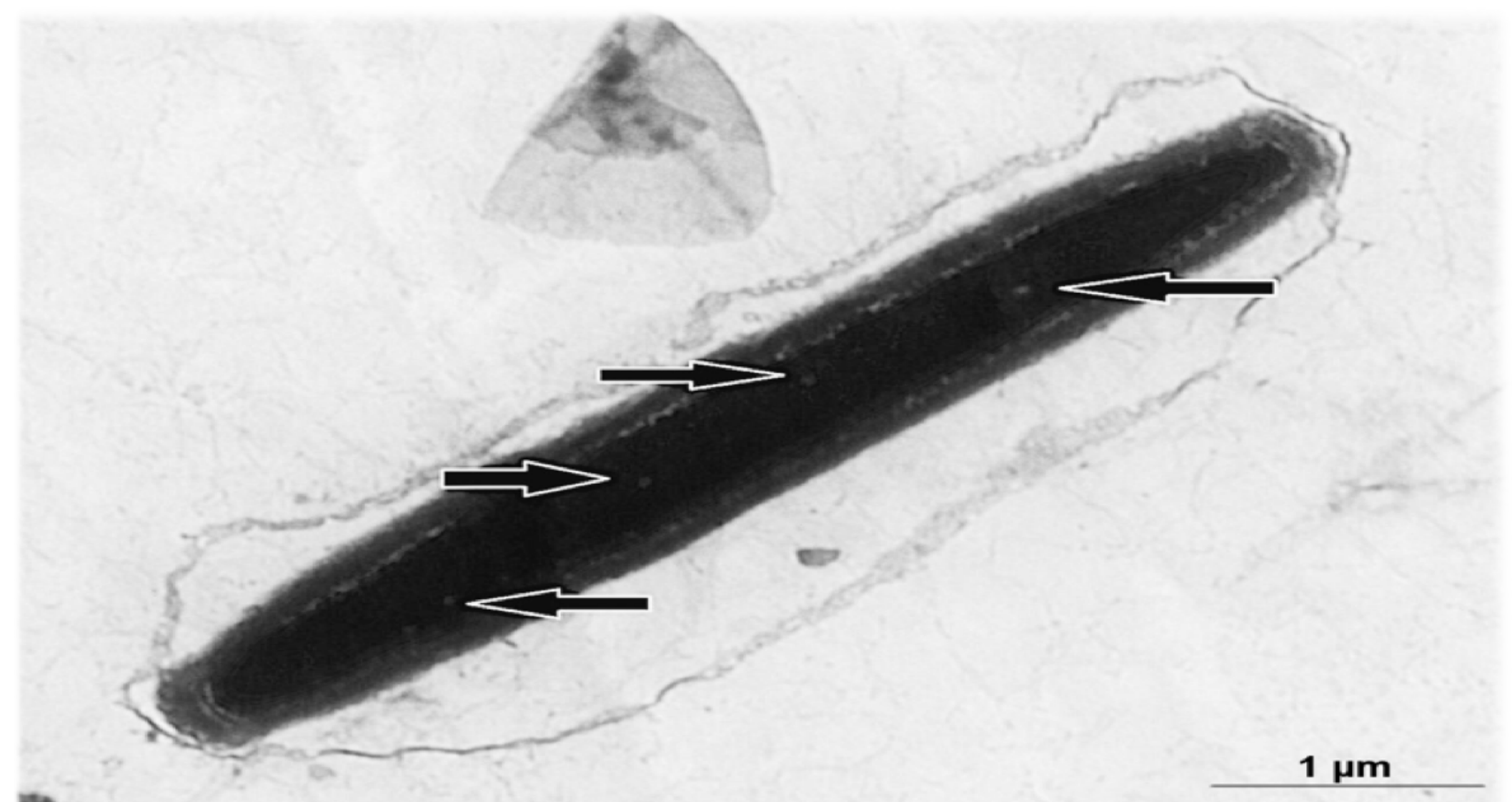


Figura 2 - Corte de uma cabeça de espermatozoide que apresenta quatro pontos claros (setas) apenas, sendo portanto classificado como alteração leve. (Touro 2)

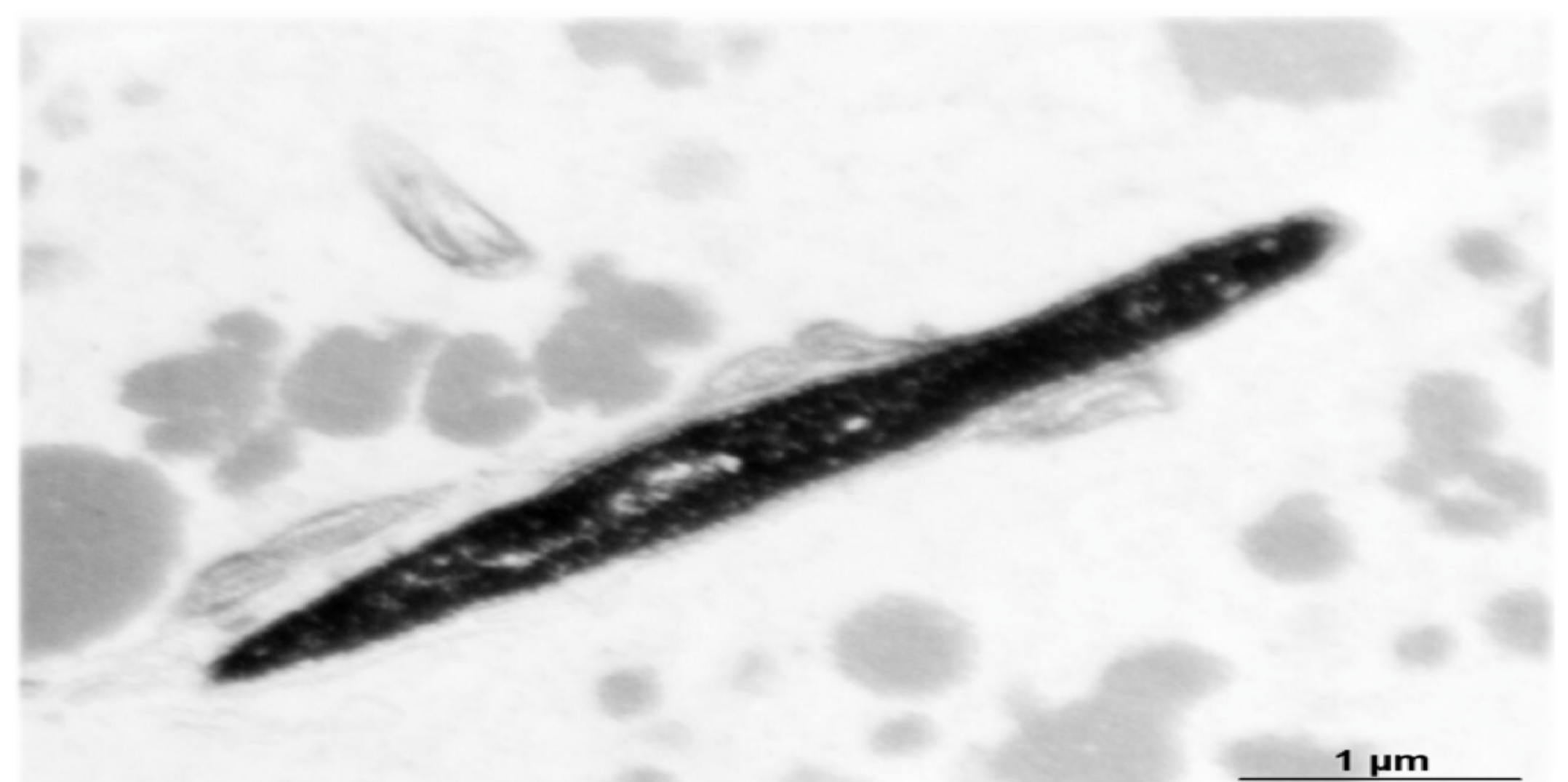


Figura 3 - Corte de cabeça de espermatozoide com presença de vários pontos claros (acima de 6), sendo portanto classificado como alteração grave. (Touro 4).

Considerando que ao contrário das alterações graves, as alterações cromatínicas leves não apresentaram correlação significativa com os resultados das PIVEs, foi avaliada apenas a existência de correlação entre o conteúdo proteico da cabeça e as alterações cromatínicas graves. Para identificar estas correlações foi utilizado o teste de correlação de Pearson entre a quantidade de cada uma das proteínas e a porcentagem de alterações cromatínicas graves. Dentre as 766 proteínas identificadas pela espectrometria de massa, as proteínas “60S ribosomal protein L12”, “60 kDa heat shock protein”, “Acetyl-CoA acetyltransferase”, “Cytochrome b-c1 complex subunit 6”, “ATP 342 synthase subunit delta”, “Limbin”, “40S ribosomal protein S7”, “DNA replication ATP-dependent helicase/nuclease DNA2” e “Activated CDC42 kinase1” apresentaram correlação positiva significativa com as alterações de cromatina graves. Essas proteínas podem estar participando diretamente ou indiretamente do processo de compactação ou apenas estar presente em grande quantidade quando as condições ideais para compactação estão presentes.

CONCLUSÕES

A presença destas proteínas pode estar prejudicando diretamente ou indiretamente o processo de compactação cromatínica ou mesmo, elas estão apenas presentes em grande quantidade quando as condições para compactação cromatínica não forem boas. De qualquer forma, elas possuem potencial para serem utilizadas como marcadores moleculares de subfertilidade e fertilidade, respectivamente.