

Efeito das Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) no espermatozoide ovino

Victor Menchini Marchi Vitali¹

Henrique Thomazo Frias¹, Ken Kawaoka Nagai¹

Marcilio Nichi¹

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

victor.vitali@usp.br

Objetivos

O objetivo deste estudo foi identificar qual a espécie reativa de oxigênio mais deletéria ao espermatozoide ovino e analisar: a) integridade de membrana plasmática e acrossomal, b) atividade mitocondrial (DAB) e potencial de membrana mitocondrial (PMM), c) integridade de cromatina e d) nível oxidativo de espermatozoides (TBARS), durante o processo de criopreservação.

Métodos e Procedimentos

Foram coletados sete ejaculados de carneiros diferentes através do método da vagina artificial. Cada ejaculado foi dividido em cinco alíquotas de 200 μ L, submetidas à inbucação com ânion superóxido (xantina/xantina oxidase), H₂O₂ (utilizado diretamente), radical hidroxila (Vitamina C/Fe), uma com subproduto da cadeia de peroxidação de lipídios (MDA) e um controle. As amostras então foram submetidas às análises descritas anteriormente.

Resultados parciais

Amostras tratadas com peróxido de hidrogênio (H₂O₂) apresentaram menores parâmetros de motilidade espermática avaliadas pelo CASA (Computer Assisted Sperm Analysis; Hamilton-Thorne®, Ivos 12.3, USA), maior porcentagem de células com atividade mitocondrial alta (DAB I), maior porcentagem de células com PMM

Intermediário e Baixo e níveis de oxidação (TBARS) maiores do que as amostras tratadas com as outras EROs.

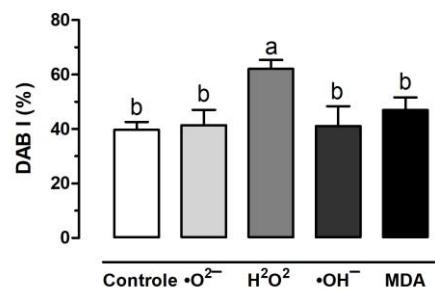


Figura 1: Espermatozoides com alta atividade mitocondrial (DAB I).

Conclusões

Apesar da maior quantidade de células com atividade mitocondrial alta (DAB I), o tratamento com H₂O₂ resultou em menor índice de motilidade analisada pelo CASA. Supostamente, o espermatozoide ovino tentou compensar os menores níveis de PMM aumentando sua atividade mitocondrial, que se mostrou ineficaz uma vez que os valores de motilidade mostraram-se inferiores às outras induções. Futuramente serão avaliadas, através da citometria de fluxo, a integridade de membrana plasmática e acrossomal e integridade de cromatina dessas células para a definição de qual ERO é a mais deletéria para o espermatozoide ovino.

Oxygen Reactive Species (ROS) effect on ram spermatozoa

Victor Menchini Marchi Vitali¹

Henrique Thomazo Frias¹, Ken Kawaoka Nagai¹

Marcilio Nichi¹

¹ College of Veterinary Medicine and Animal Sciences, University of São Paulo

victor.vitali@usp.br

Objectives

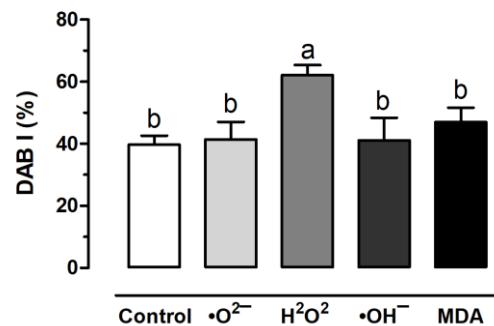
The objective of this study was to identify which ROS is most deleterious for the ram spermatozoa and to evaluate: a) acrosome and plasma membrane integrity b) mitochondrial activity (DAB) and mitochondrial membrane potential (MMP); c) chromatin integrity; d) sperm oxidative levels (TBARS) through the cryopreservation process.

Materials and Methods

Seven ejaculates were obtained from healthy rams using the artificial vagina method. Each ejaculate was divided into five 200 μ L aliquots, which were incubated with superoxide anion (xanthine/xanthine oxidase), H₂O₂ (directly added), hydroxyl radical (Vitamin C/Fe), lipid peroxidation chain sub product (MDA) and control. The samples were evaluated to the above described analysis.

Results

Samples treated with hydrogen peroxide (H₂O₂) presented lower motility parameters analyzed by CASA (Computer Assisted Sperm Analysis; Hamilton-Thorne®, Ivos 12.3, USA), higher percentages of cells with high mitochondrial activity (DAB I), higher percentages of Intermediary and Low MMP cells and higher TBARS levels than the samples treated with other ROS.



Picture 1: Spermatozoa with high mitochondrial activity (DAB I)

Conclusions

Despite the higher amount of cells with high mitochondrial activity (DAB I), the H₂O₂ treatment resulted in lower motility values analyzed by the CASA. Supposedly, the ram spermatozoa tried to compensate the Intermediate and Low MMP by raising the mitochondrial activity to maintain motility, which showed to be inefficient. The acrosome membrane, plasma membrane and chromatin integrity are still under analysis to define which ROS is the most deleterious for the ram spermatozoa.