

Métodos de avaliação de alterações cromatínicas em espermatozoides de touros

Alexsandra Alves Bezerra Martins^{*1}, Bruna Gomes Alves², Bruno Augusto Nassif Travençolo², Aline Costa de Lúcio², Marcelo Emílio Beletti².

1. Bolsista de Iniciação Científica do CNPq do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia. [*alexandrabezerra.advet@gmail.com](mailto:alexandrabezerra.advet@gmail.com)

2. Pesquisadores do departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM) da Universidade Federal de Uberlândia.

Palavras-chave: azul de toluidina, citometria de fluxo, espermatozoide

Introdução

Reprodutores com espermograma normal podem vir a se comportar como subférteis ou apresentar intervalos de subfertilidade inexplicáveis pelo espermograma de rotina, e alterações na compactação da cromatina dos espermatozoides foram observadas na maioria destes eventos, indicando uma possível causa para tal fenômeno. A análise da estrutura da cromatina espermática (*sperm chromatin structure assay* - SCSA) é o método considerado padrão (ouro) internacionalmente, porém é de alto custo e baixa repetibilidade. No entanto, existem outros métodos com menor custo, contudo ainda não padronizados ou correlacionados com o SCSA. Diante disso, o objetivo deste estudo foi correlacionar dois métodos distintos de avaliação de cromatina espermática em touros: análise computacional de esfregaços de sêmen corados com azul de toluidina (AT) e citometria de fluxo (SCSA).

Resultados e Discussão

Quarenta amostras de sêmen de touros insulados foram avaliadas pelos dois métodos. Nos esfregaços de sêmen corados com AT foram avaliados os tipos de alterações na cromatina de acordo com a localização da descompactação, e por SCSA avaliou-se a fragmentação do DNA pela proporção de cabeças de espermatozoides coradas em verde e vermelho, sendo estas as que possuem alterações na cromatina. Após as análises estatísticas utilizando-se ANOVA e correlação de Pearson, percebe-se que a descompactação cromatínica identificada pela avaliação computacional de esfregaços de sêmen corados com AT é semelhante à alteração identificada por SCSA, mas não idêntica.

Conclusões

Conclui-se que a análise por AT por possibilitar identificar diferentes tipos de alterações de cromatina com prováveis diferentes etiologias, ser mais acessível e possuir objetividade semelhante ao SCSA é um método alternativo de análise da cromatina espermática.

Agradecimentos

Agradecemos aos órgãos de fomento à pesquisa: CAPES, CNPq e FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

BELETTI, M.E. Cromatina espermática: quebrando paradigmas. In: XX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, abr./jun. 2013. Uberlândia. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.37, n.2, p.92-96, 2013.

BELETTI, M.E.; COSTA, L.F. A systematic approach to multi-species sperm morphometrical characterization. Analytical and Quantitative Cytology, Saint Louis, v.25, p.97-107, 2003.

BELETTI, M.E.; COSTA, L.F.; GUARDIEIRO, M.M. Morphometric features and chromatin condensation abnormalities evaluated by toluidine blue staining in bull spermatozoa. Brazilian Journal of Morphological Sciences, Campinas, v.22, n.2, p.85-90, 2005.

BELETTI, M.E.; COSTA, L.F.; VIANA, M.P. A comparison of morphometric characteristics of sperm from fertile *Bos taurus* and *Bos indicus* bulls in Brazil. Animal Reproduction Science, Amsterdam, v. 85, n. 1-2, p. 105-116, 2005b.

BELETTI, M.E.; COSTA, L.F.; VIANA, M.P. A computational approach to the characterization of bovine sperm chromatin alterations. Biotechnic and Histochemistry, Baltimore, v.79, n.1, p.17-23, 2004.

BELETTI, M.E.; COSTA, L.F.; VIANA, M.P. A spectral framework for sperm shape characterization. Computers in Biology and Medicine, Washington, v.35, n.6, p.463-473, 2005a.

BELETTI, M.E.; MELLO, M.L.S. Comparison between the toluidina blue stain and the Feulgen reaction for evaluation of rabbit sperm chromatin condensation and their relationship with sperm morphology. Theriogenology, v.62, p.398-402, 2004.

BELETTI, M.E.; Mello, M.L.S. Methodological variants contributing to detection of abnormal DNA-protein complexes in bull spermatozoa. **Brazilian Journal Genetics**, Ribeirão Preto, v.19, n.1, p.97-103, 1996.

EVENSON, D.P.; JOST, L.K.; MARSHALL, D.; ZINAMAN, M.J.; CLEGG, E.; PURVIS, K.; ANGELIS, P de.; CLAUSSEN, O. P. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. **Human Reproduction**, Oxford, 1999.

EVENSON, D.P.; LARSON, K.L.; JOST, L.K. Sperm chromatin structure assay is useful for fertility assessment. **Methods in Cell Science**, v.22, p.169-189, 2002.

GLEDHILL, B. L. Studies on the DNA content, dry mass and optical even of morphologically normal and abnormal bull spermatozoa heads. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Gardermoen, v.7, n.1, p.1-20, 1966.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reproduction in Farm Animals**. New York: Wiley-Blackwell, p. 509, 2000.

KANAYAMA, C.Y.; BELETTI, M.E. Avaliação computacional da compactação da cromatina e de características morfológicas da cabeça de espermatozoides de coelho (*Oryctolagus cuniculus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, p.94-99, 2011.

MELLO, M.L.S. Induced metachromasy in bull spermatozoa. **Histochemistry**, Berlin, v.74, n.3, p.387-392, 1982.

TEJADA, R.I.; MITCHELL, J.C.; NORMAN, A.; MARIK, J.J.; FRIEDMAN, S. A test for the practical evaluation of male fertility by acridine (AO) fluorescence. **Fertility and Sterility**, Birmingham, v.42, n.1, p.87-91, 1984.