

Efeito da carnosina na criopreservação de sêmen de garanhões com baixa congelabilidade

Giulia Kiyomi Vechiato Kawai¹, João Diego de Agostini Losano, Carolina Camargo Rocha, Andressa Dalmazzo, Maíra Morales Brito, Bruno Rogério Rui, Maria Augusta Alonso, Camilla Motta, Marcílio Nichi

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

*Autor correspondente
e-mail: gkiyomi@usp.br

Resumo

As espécies reativas de oxigênio são fundamentais na fisiologia espermática. No entanto, um desequilíbrio entre a produção e a capacidade antioxidante caracteriza o estresse oxidativo. O espermatozoide é extremamente suscetível ao estresse oxidativo, dependendo fortemente de compostos presentes no plasma seminal para a proteção desta célula contra este evento. No entanto, durante a criopreservação do sêmen equino é necessária a retirada quase total do plasma seminal. Em estudo recente, verificamos que esta remoção torna os espermatozoides sensíveis ao subproduto extremamente deletério da peroxidação lipídica, o malondialdeído (MDA). Dessa forma, a carnosina, dipeptídeo quelante de aldeídos e que está presente no plasma seminal, pode ser uma alternativa para proteção contra o acúmulo do MDA. Assim, objetivamos avaliar o possível efeito protetor da carnosina no processo de criopreservação espermática em amostras de garanhões com baixa congelabilidade. Para isso, amostras seminais de baixa congelabilidade (motilidade total pós-descongelção < 30%) foram colhidas em duplicata de sete garanhões (N = 14) da raça Mangalarga Paulista, com intervalo de sete dias entre colheitas. As amostras foram criopreservadas, segundo protocolo já estabelecido, com concentrações crescentes de carnosina adicionadas ao diluidor comercial de criopreservação (0, 1mM, 50mM e 100mM). Após a descongelção, o padrão de cinética espermática foi determinado pelo Sistema Computadorizado de Análise Espermática (CASA) e as amostras foram submetidas às análises de citometria de fluxo para avaliar a integridade das membranas plasmática e acrossomal (Iodeto de Propídio-PI e Pisum sativum conjugada a Isotiocinato de fluoresceína-FITC-PSA), potencial de membrana mitocondrial (JC-1) e a suscetibilidade da cromatina à denaturação ácida (SCSA). Além disso, avaliamos a susceptibilidade do espermatozoide à peroxidação lipídica pela mensuração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Amostras criopreservadas com 50mM de carnosina apresentaram maior número de células com elevado escore de potencial de membrana mitocondrial.



Apesar de aparentemente ser um efeito positivo, esse escore apresenta uma correlação positiva com lesão de membrana e acrossomo ($r = 0,45$; $p = 0,04$). Além disso, observamos também maior suscetibilidade dos espermatozoides ao estresse oxidativo nestas amostras, a qual correlacionou-se negativamente com integridade de membranas plasmática, acrossomal ($r = -0,50$; $p = 0,01$) e DNA ($r = -0,49$; $p = 0,02$). Estes resultados mostram que a carnosina 50mM pode ter gerado um possível comprometimento mitocondrial, levando ao aumento da susceptibilidade do espermatozoide à peroxidação lipídica. Esta alteração no status oxidativo torna-se um problema, especialmente pela maior susceptibilidade dos espermatozoides equinos aos efeitos deletérios do malondialdeído. Um motivo para este efeito seria a afinidade da carnosina em reagir com açúcares intermediários da glicólise. Dessa forma, ocorreria uma diminuição na produção de piruvato, importante substrato para o ciclo de Krebs e a fosforilação oxidativa. Tal evento poderia levar às disfunções mitocondriais com conseqüente liberação de agentes pró-oxidativos. Além disso, a inibição da via glicolítica pode afetar o ciclo das pentoses, levando à diminuição da atividade da glutathione peroxidase, importante enzima antioxidante. Mais estudos são necessários para verificar as causas dos resultados encontrados.

Palavras-chave: Criopreservação espermática. Sêmen equino. Carnosina.

Agradecimentos: à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de auxílio à pesquisa (Processo no 2016/03782-8) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).