XIV Salão Iniciação Científica da PUCRS

Alteração da Presença da Proteína PDIA1 em Animais Imunocastrados

Pâmela Maria Seibel, Ivan Cunha Bustamante Filho

Centro Universitário UNIVATES Núcleo de Estudos em Biotecnologia Animal Rua Avelino Tallini, 171 – Prédio 08, sala 308. Bairro Universitário – Lajeado/RS

Resumo

A modulação do perfil proteico é requerida para a maturação espermática. Durante a passagem pelo epidídimo, a membrana celular do espermatozoide adquire características importantes e essenciais para a ligação com a zona pelúcida do oócito e transitar na cavidade uterina. Chaperonas da família PDI (proteína dissulfeto isomerase) foram descritas e associadas ao controle funcional de proteínas ADAM, altamente envolvidas em processos de fertilização. A ativação ou inativação biológica da proteína ADAM17 é realizada por sua chaperona PDIA1, através da manipulação da conformação estrutural nas ligações dissulfeto. O objetivo desse trabalho foi verificar a presença da chaperona PDIA1 em espermatozoides de diferentes regiões do epidídimo, em suínos imunocastrados. As amostras analisadas foram obtidas de animais controle (n=11), castrados cirurgicamente, e animais com deficiência andrógena (n=7), imunocastrados pela vacina Vivax (Pfizer). Espermatozoides das diferentes regiões do epidídimo (cabeça, corpo e cauda) foram coletados e preparados. Acrescentou-se PBS e concentrou-se por centrifugação. Após, as células foram ressuspendidas em tampão lise, homogeneizadas, centrifugadas a 10.000 g, por 1 hora a 4°C, sendo o extrato proteico armazenado a -20°C. Utilizou-se a técnica de eletroforese SDS-PAGE seguida do Western Blotting para confirmação da presença da proteína nas amostras. O anticorpo Anti-PDIA1 foi incubado como anticorpo primário e a reação de imunofluorescência ocorreu pela adição do substrato ECL. A análise quantitativa das bandas através do software ImageJ, demonstrou que, em animais do grupo controle, a chaperona PDIA1 só estava presente nos espermatozoides da região da cabeça e corpo do epidídimo (p<0,01), indicando uma possível relação da sua atuação em estágios iniciais da maturação espermática. Entretanto, em animais imunocastrados, a proteína estava presente em todas as regiões do epidídimo (p<0,01). Estes resultados podem indicar um possível controle endócrino da expressão dessa proteína.

Palavras-chave

Espermatozoide; chaperonas; imunocastrados; epidídimo.