

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO

MARINA MOLINA

ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DE *CHROMATOID BODIES* NA
ESPERMATOGÊNESE DE CAMUNDONGOS EM DIFERENTES IDADES E POSSÍVEIS
COMPLICAÇÕES DO ENVELHECIMENTO SOBRE A FERTILIDADE

BAURU

2021

MARINA MOLINA

ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DE *CHROMATOID BODIES* NA
ESPERMATOGÊNESE DE CAMUNDONGOS EM DIFERENTES IDADES E POSSÍVEIS
COMPLICAÇÕES DO ENVELHECIMENTO SOBRE A FERTILIDADE

Monografia do curso de Biomedicina,
apresentado ao Programa Institucional de
Iniciação Científica do Centro Universitário do
Sagrado Coração (Edital 2020/2021) - Centro
Universitário Sagrado Coração.

Orientadora: Prof.^a Dra. Rita Luiza Peruquetti

BAURU

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com
ISBD

Molina, Marina	
M722a	Análise ultraestrutural de chromatoid bodies na espermatogênese de camundongo em diferentes idades e possíveis implicações do envelhecimento sobre a fertilidade masculina / Marina Molina. -- 2021. 23f. : il.
	Orientadora: Prof. ^a Dra. Rita Luiza Peruquetti
	Monografia (Iniciação Científica em Biomedicina) - Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP
	1. Espermatogênese. 2. Chromatoid Body. 3. Envelhecimento. 4. Espermatozoides. I. Peruquetti, Rita

Elaborado por Lidyane Silva Lima - CRB-8/9602

MARINA MOLINA

ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DE *CHROMATOID BODIES* NA
ESPERMATOGÊNESE DE CAMUNDONGOS EM DIFERENTES IDADES E POSSÍVEIS
COMPLICAÇÕES DO ENVELHECIMENTO SOBRE A FERTILIDADE

Monografia do curso de Biomedicina,
apresentado ao Programa Institucional de
Iniciação Científica do Centro Universitário do
Sagrado Coração (Edital 2020/2021) - Centro
Universitário Sagrado Coração - Centro
Universitário Sagrado Coração.

Aprovado em: ____/____/____.

Banca examinadora:

Prof.^a Dra. Rita Luiza Peruquetti (Orientadora)
Centro Universitário Sagrado Coração

Centro Universitário Sagrado Coração

Centro Universitário Sagrado Coração

Dedico este trabalho a minha família, com
carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais pela determinação e empenho ao me proporcionar a oportunidade de estudar, pelo amor indescritível e por serem os maiores exemplos de caráter e sabedoria. Obrigada por me impulsionarem a conquistar meus sonhos e por me mostrarem que o estudo é o caminho mais valioso.

Agradeço a Deus pelas bênçãos derramadas em minha vida e por me sustentar em todos os momentos.

Agradeço aos meus irmãos pela relação de companheirismo e por sempre acreditarem no meu potencial.

Agradeço aos meus amigos, familiares e pessoas queridas que forneceram palavras de incentivo, o apoio foi essencial para a realização desse trabalho. Em especial, Larissa Colavite Garcia e Beatriz Martignago Sanches, obrigada pela relação de honestidade e afeto que nós criamos, sem vocês eu não teria chegado até aqui. Ao meu namorado Gabriel Stevanato Dias pelo amor e carinho dedicado a nós.

Agradeço às minhas companheiras Jessica Yan Gong e Marina Brasil Mattos pela troca de conhecimento durante o desenvolvimento do projeto.

Agradeço à minha amiga Ingrid Gallerani Servato pela amizade e confiança, por me encorajar e fornecer suporte no decorrer da vida acadêmica, e fora dela.

Agradeço as minhas colegas de estágio pelo ambiente maravilhoso de trabalho, pelo apoio inenarrável e por nunca duvidarem da minha capacidade. Com vocês, pude aprender muito além de ensinamentos teóricos.

Agradeço a FAPESP, pelo auxílio financeiro cedido a este projeto e por proporcionar recursos à ciência brasileira.

Agradeço ao Centro Universitário Sagrado Coração e ao corpo docente pelo estímulo a pesquisa e ao saber.

Agradeço, por fim, a minha orientadora Rita Luiza Peruquetti pela oportunidade de integrar um projeto tão rico e pelo infindável conhecimento cedido. Sou eternamente grata por essa oportunidade.

RESUMO

Introdução: O envelhecimento promove múltiplos danos moleculares e celulares que influenciam diretamente na espermatogênese. Esse processo afeta os testículos, órgãos responsáveis pela espermatogênese e pela função endócrina, e impacta a fertilidade masculina no fim da vida, tanto na quantidade quanto na qualidade dos espermatozoides. Nas células reprodutoras masculinas, há uma organela essencial no processo de espermiogênese chamada de *chromatoid body* (CB). O CB está comumente associado à função de transcrição do RNA, portador de proteínas e ação de vesículas, e, durante a espermiogênese, age como um anel envolvendo o espermatozoide em formação até que se desfaz, é eliminado como resíduo corporal e fagocitado pelas células de Sertoli. **Objetivos:** O objetivo desse trabalho foi realizar análises ultraestruturais em *chromatoid bodies* (CB) encontrados em células germinativas masculinas em camundongos de diferentes faixas etárias. **Metodologia:** Foram utilizados 15 camundongos machos da linhagem Swiss com idades entre 45 e 180 dias, distribuídos em três grupos (n=5/grupo). Os procedimentos experimentais estavam de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA/USC), sob protocolo número 2088080817. **Resultados e Conclusões:** Após análise das imagens obtidas em microscopia eletrônica de transmissão, foi possível observar algumas alterações morfológicas. Em camundongos Swiss jovens (45 dias), o CB se apresenta próximo ao núcleo nas espermátides redondas e rodeado por mitocôndrias. Assim que a célula começa a se alongar, em camundongos Swiss adultos (120 dias), pode-se observar o *chromatoid body* formado próximo às mitocôndrias, com estrutura bem definida e aumentada, no polo oposto do acrossomo, que atuará na formação da calda. Já em camundongos velhos (180 dias), o CB apresenta tamanho reduzido, perda da peça intermediária e estrutura fragmentada, as mitocôndrias se aproximam do acrossomo, se desassociando do CB. Ao decorrer da vida dos camundongos, é possível analisar mudança no volume da organela. Portanto, fica evidente a influência do envelhecimento na atuação da espermatogênese.

Palavras-chave: Espermatogênese. *Chromatoid body*. Envelhecimento. Espermatozoides.

ABSTRACT

Introduction: The aging promotes multiple molecular and cellular damage that directly influence spermatogenesis. This process affects the testes, organs responsible for spermatogenesis and endocrine function, and impacts male fertility at the end of life, both in the quantity and quality of sperm. In male reproductive cells, there is an essential organelle in the spermiogenesis process called the chromatoid body (CB). CB is commonly associated with the RNA transcription function, carrying proteins and vesicle action, and, during spermiogenesis, acts as a ring involving the forming sperm until it breaks down, is eliminated as body residue and phagocytosed by the cells of Sertoli. **Objectives:** The objective of this work was to perform ultrastructural analyzes on chromatoid bodies (CB) found in male germ cells in mice of different age groups. **Methodology:** Fifteen male Swiss mice, aged between 45 and 180 days, divided into three groups (n=5/group) were used. The experimental procedures were in accordance with Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA), having been approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA/USC), under protocol number 2088080817. Results and **Conclusions:** After analyzing the images obtained in transmission electron microscopy, it was possible to observe some morphological changes. In young Swiss mice (45 days old), CB appears close to the nucleus in round spermatids and surrounded by mitochondria. As soon as the cell starts to elongate, in adult Swiss mice (120 days), one can observe the chromatoid body formed close to the mitochondria, with a well-defined and enlarged structure, at the opposite pole of the acrosome, which will act in the formation of the sperm. In old mice (180 days), the CB has a reduced size, loss of the intermediate part and fragmented structure, the mitochondria approach the acrosome, disassociating themselves from the CB. During the life of mice, it is possible to analyze changes in the volume of the organelle. Therefore, the influence of aging on the performance of spermatogenesis is evident.

Keywords: Spermatogenesis. Chromatoid body. Aging. Sperm.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	Breve apresentação dos eixos temáticos do projeto	10
1.2	OBJETIVOS	14
2	MATERIAIS E MÉTODOS	15
2.1	Modelos biológicos	15
2.2	Análises morfológicas de CBs de espermátides iniciais – Microscopia Eletrônica de Transmissão	15
3	RESULTADOS	17
3.1	Jovens	17
3.2	Adultos	17
3.3	Velhos	19
4	DISCUSSÃO	20
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	21
	REFERÊNCIAS	22

1 INTRODUÇÃO

1.1 Breve apresentação dos eixos temáticos do projeto

- Envelhecimento e espermatogênese

O envelhecimento ocorre com múltiplos danos moleculares e celulares que acometem todos os órgãos dos seres vivos, as falhas são gradativas até resultar na morte. Esse processo, claramente, também acomete os testículos (órgãos responsáveis pela espermatogênese e pela função endócrina) e afeta diretamente a fertilidade masculina no fim da vida, tanto na quantidade quanto na qualidade dos espermatozoides. É difícil especificar em que período da vida dos homens ocorre essas mudanças hormonais e fisiológicas que afetam a reprodução já que, diferentemente das mulheres, não há uma fase predeterminada como a menopausa. Segundo estudos realizados na UFPR em ratos, há redução significativa do número de espermatídes e da área dos túbulos seminíferos no último terço de vida dos animais (MIRANDA, 2017).

- *Chromatoid Body* (CB)

Organela citoplasmática presente somente em células reprodutoras masculinas, normalmente associada à função de transcrição do RNA, portador de proteínas e ação de vesículas, já que está frequentemente conectado ao complexo de Golgi, às mitocôndrias e ao nucléolo. Há estudos que afirmam que sua origem vem de fragmentos de material nucleolar, chamados ‘nuages’, que migram para o citoplasma nas primeiras etapas da espermatogênese (PERUQUETTI, 2009). Os ‘nuages’ são caracterizados por serem densos em elétrons, não membranosos, que se localizam próximos as mitocôndrias ou núcleo, com tamanho variante. O CB aparece primeiramente como fibras citoplasmáticas espessas e material granulado nos interstícios dos aglomerados mitocondriais. Após a meiose, se condensa em lóbulos nas espermatídes redondas e começa a se desmontar durante o alongamento da célula (WANG, 2020). Durante a espermiogênese, o CB age como um anel envolvendo o flagelo do espermatozoide que está sendo formado e quando o mesmo está pronto, o *chromatoid body* se desfaz diminuindo de tamanho e é eliminado como resíduo corporal e fagocitado pelas células de Sertoli (BHUPINDER, 1961).

O CB possui em seu interior uma proteína muito importante chamada de RNA helicase. Ao decorrer do tempo, foi aceita a ideia de que o *chromatoid body* é responsável por um mecanismo de processamento e armazenamento pós-transcrição de diversos mRNA que serão compartilhados entre células vizinhas e usados para tradução quando o material genético das espermatídes fica na forma inativa de heterocromatina (PARVINEN, 2005).

As proteínas presentes em sua composição são estudadas como fundamentais na produção de espermatozoides saudáveis e em grandes quantidades. Duas delas, CLOCK e BMAL1 do ciclo circadiano, foram encontradas na constituição do CB e podem ter ligação com sua formação e fisiologia (PERUQUETTI; MATEO; CORSI, 2012).

A maior parte do proteoma dos *chromatoids bodies* é ligado ao RNA, mais especificamente relacionados à PIWI (piRNAs), mRNAs e RNAs não codificantes longos (lncRNAs) e também há ligação com a proteína SAM68, codificada pelo gene KHDRBS1, que passa pelo CB por um período muito breve (MEIKAR, 2013).

Segundos estudos realizados na University Museum, há o aparecimento de 1 à 3 *chromatoid bodies* em ratos no espermatócito primário. Esses costumam estar próximos do núcleo ou no eixo celular. Um deles é o principal que já está presente desde o início enquanto os outros aparecem no decorrer do crescimento da célula. Os CBs só permanecem até o período da anáfase na divisão meiótica (SUD, 1961).

- CB e envelhecimento

Segundo estudos por análise de imunofluorescência e *Western blot*, realizados em camundongos, foi possível identificar que nos animais jovens e adultos os *chromatoid bodies* possuíam aspecto redondo simples enquanto nos idosos eles apresentavam alterações morfológicas e numéricas, além de conter diferença na quantidade de proteínas na sua composição, como MVH, CLOCK, MIWI E BMAL1. O envelhecimento pode afetar a formação dos CBs, agindo diretamente na fertilidade masculina de homens mais velhos (SANTOS et al., 2018).

A análise do transcriptoma e do proteoma do CB permitiu entender que essa organela é enriquecida com proteína de ligação de mRNA, microRNA, piRNA e RNA, regulando assim o armazenamento de mRNA (WANG, 2020).

- A regulação da espermatogênese

As células de Sertoli são células somáticas essenciais na formação dos testículos e na ocorrência da espermatogênese, facilitando o progresso das células germinativas em espermatozoides pelo contato direto, já que mantém o contato físico. A regulação da espermatogênese ocorre pela ação dos hormônios FSH e testosterona nas células de Sertoli (GRISWOLD, 1998), além de sofrer influência de outros hormônios como GnRH e LH, produzidos no hipotálamo. O LH auxilia na esteroidogênese incentivando as células de Leyding a produzir testosterona e o FSH auxilia na proliferação e desenvolvimento da espermatogênese (SHARMA; AGARWAL, 2011). Pela capacidade em regular a espermatogênese, as células de Sertoli, juntamente com as células germinativas residentes, também atuam na regulação dos túbulos seminíferos (GRISWOLD, 1998).

Os túbulos seminíferos são formados por três camadas: camada de fibrócitos que se origina do tecido conjuntivo, camada média com células mioides e camada interna com colágeno. Aproximadamente 40% dos túbulos são compostos por células de Sertoli e, dessas células, 40% são ocupadas por espermátides alongadas (SHARMA; AGARWAL, 2011).

Durante a formação do testículo na fase embrionário, as células de Sertoli captam os gonócitos das células germinativas dentro dos túbulos seminíferos recém-formados e inibem a tendência dessas células entrarem em meiose. Após a formação do testículo, as células de Sertoli e as células germinativas sofrem rápida proliferação. Na puberdade, as mitoses da célula de Sertoli são cessadas e inicia-se a progressão das células germinativas em espermatozoides através da meiose (GRISWOLD, 1998).

As células de Sertoli são capazes de formar produtos específicos que são necessários para a sobrevivência das células germinativas e preparam um ambiente único e essencial para o compartimento adluminal (próximo ao lúmen). As glicoproteínas secretadas podem ser categorizadas em grupos com base em suas propriedades bioquímicas e atuam como fatores de crescimento. A primeira categoria inclui proteínas transportadoras e bioprotetoras essenciais no transporte de íons metálicos e proteínas como a transferrina. A segunda categoria inclui proteases e inibidores de proteases, importantes no processo de remodelação de tecidos durante a espermição e o movimento dos espermátócitos no compartimento adluminal. A terceira categoria consiste nas proteínas que formam a membrana basal entre as células de Sertoli e as células peritubulares. Por último, a quarta categoria é composta pelas glicoproteínas reguladoras (GRISWOLD, 1998).

A espermatogênese pode ser dividida em três fases: proliferação e diferenciação das espermatogônias, meioses e espermiogênese. Durante o processo, as espermatogônias se dividem por mitose para formar espermatócitos primários, espermatócitos secundários e espermatídes. As espermatídes podem ser separadas em seis estágios: Sa1, Sa2, Sb1, Sb2, Sc1 e Sc2. A partir do estágio Sa1, há desenvolvimento das mitocôndrias, do centríolo, do complexo de Golgi e do filamento axial, aparecimento da vesícula acrossomal e desenvolvimento do *chromatoid body*. Entre os estágios Sb1 e Sb2, a formação do acrossomo é finalizada, e há início do desenvolvimento da cauda e formação da peça intermediária. Esse processo se conclui nos estágios Sc1 e Sc2. Então, a espermatíde madura se libera da célula de Sertoli e entra no lúmen do túbulo seminífero como um espermatozoide (SHARMA; AGARWAL, 2011).

Em um estudo realizado em 2004, na França, pesquisadora da Universidade Louis Pasteur removeram os testículos de camundongos sexualmente maduros em uma placa de Petri contendo salina tamponada com fosfato para analisar os túbulos seminíferos desses animais. Foi constatado que, em camundongos, existem 12 estágios designados e cada um tem um repertório de células germinativas. Essas células são organizadas em camadas concêntricas nos túbulos seminíferos, começando com as espermatogônias na camada mais externa, seguida por espermatócitos, espermatídes redondas e então espermatídes maduras (KOTAJA et al.; 2004).

Desde a primeira etapa da maturação, observou-se que o *chromatoid body* ainda estava descondensado. A partir do segundo estágio, essa organela começou a ficar mais próxima ao Complexo de Golgi e só se afastou a partir da quinta fase. O estágio oito marca o ponto de liberação das espermatídes das células de Sertoli para o lúmen, onde começam a ir em direção ao epidídimo. A última etapa analisada, denominada de estágio 12, apresenta núcleo alongado com cromatina condensada, a estrutura do espermatozoide está quase completa e o acrossomo já está bem visível (KOTAJA et al.; 2004).

1.2 OBJETIVOS

O objetivo desse projeto foi realizar análises ultraestruturais em *chromatoid bodies* (CB) encontrados em células germinativas masculinas e sua ligação com a espermatogênese. O estudo será feito em camundongos Swiss a fim de analisar o impacto do envelhecimento sobre a organização ultraestrutural do CB em animais de diferentes faixas etárias.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Modelos biológicos

Foram utilizados 15 camundongos machos da linhagem Swiss com idades entre 45 e 180 dias, distribuídos em três grupos (n=5/grupo). Os animais foram mantidos em biotério da Universidade do Sagrado Coração (USC), alocados em gaiolas de polietileno (43x30x15cm) com substrato de maravalha autoclavada, em condições controladas de luminosidade (12 horas de luz/12 horas de escuro) e temperatura (média de 23°C). Receberam água e ração para roedores à vontade. Os procedimentos experimentais estavam de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA/USC), sob protocolo número 2088080817. Ao final dos períodos experimentais, cada animal foi eutanasiado por exsanguinação, recebendo antes uma dose de Dopalen + Anasedan para sua contenção física.

A divisão dos grupos de trabalho está demonstrada na Tabela 1.

GRUPOS EXPERIMENTAIS
Grupo 1 (G1, n=5): Túbulos seminíferos de camundongos Swiss com 45 dias (jovens).
Grupo 2 (G2, n=5): Túbulos seminíferos de camundongos Swiss com 120 dias (adultos).
Grupo 3 (G3, n=5): Túbulos seminíferos de camundongos Swiss com 180 dias (velhos).

Tabela 1: Distribuição dos grupos amostrais que serão utilizados nas análises propostas no presente estudo.

2.2 Análises morfológicas de CBs de espermátides iniciais – Microscopia Eletrônica de Transmissão

Foram utilizados segmentos de aproximadamente 0,5mm de túbulos seminíferos nos estágios do ciclo espermatogênico IV-VI, pois são os estágios onde encontramos espermátides iniciais em maior quantidade, identificados com microscópio de transiluminação. No caso dos túbulos seminíferos dos animais BMAL1 KO foram coletados fragmentos aleatórios, pois os mesmos não possuem diferenciação de estadiamento de ciclos espermatogênicos, devido a ausência de espermatogênese completa.

Posteriormente, os fragmentos foram fixados em glutaraldeído a 3% e ácido tânico a 0,25% em tampão Miloning, pH 7,3, durante 2 horas em temperatura ambiente. Após a lavagem em tampão, os fragmentos foram pós-fixados em tetróxido de ósmio (1%), durante 2 horas em geladeira, e em seguida, essas amostras foram lavadas em água destilada e desidratadas, em baterias de acetona em ordem crescente de concentração e passarão por uma infiltração em araldite pura por 2 horas, a 37°C. Desses fragmentos testiculares incluídos em araldite, foram obtidos cortes semi-finos e ultra-finos, em ultramicrotomo. Os cortes ultra-finos foram coletados em grids e, posteriormente, contrastados com acetato de uranila a 2%, por 20 minutos (WATSON, 1958) e, depois, em citrato de chumbo a 2%, em solução de hidróxido de sódio 1N, por 6 minutos (VENABLE; COGGESHALL, 1965). Os resultados das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram documentados por eletromicrografias obtidas com sistema analisador de imagens.

Em cada grupo experimental foram analisados parâmetros como: (1) Tamanho de CBs; (2) Número de CBs; (3) Forma de CBs.

3 RESULTADOS

3.1 Jovens

Nos animais jovens (45 dias), como demonstrado na Figura 1, foi possível observar a organela próxima ao núcleo nas espermatídes redondas e rodeado por mitocôndrias. Sua estrutura ainda se encontra em processo de formação.

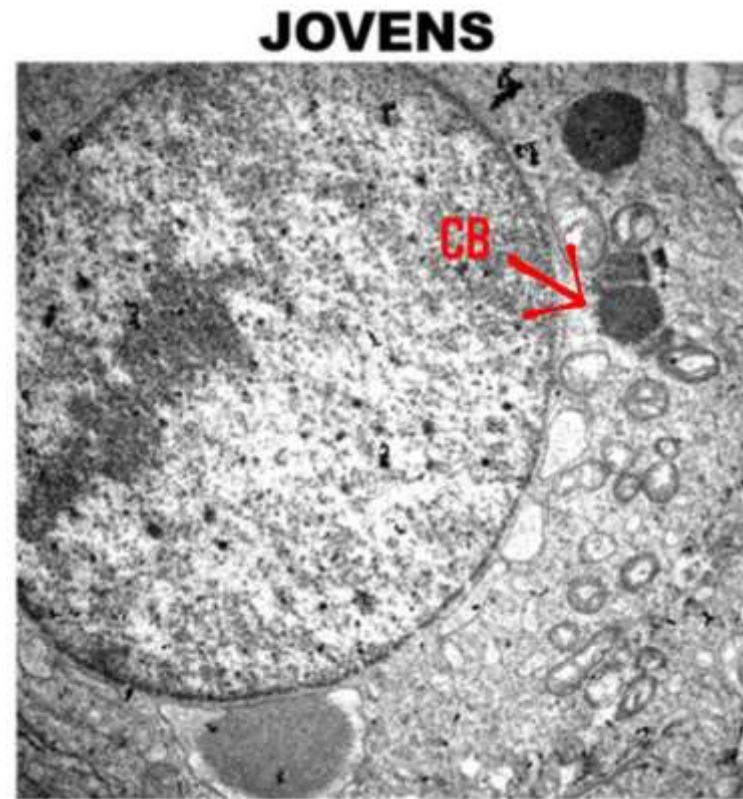
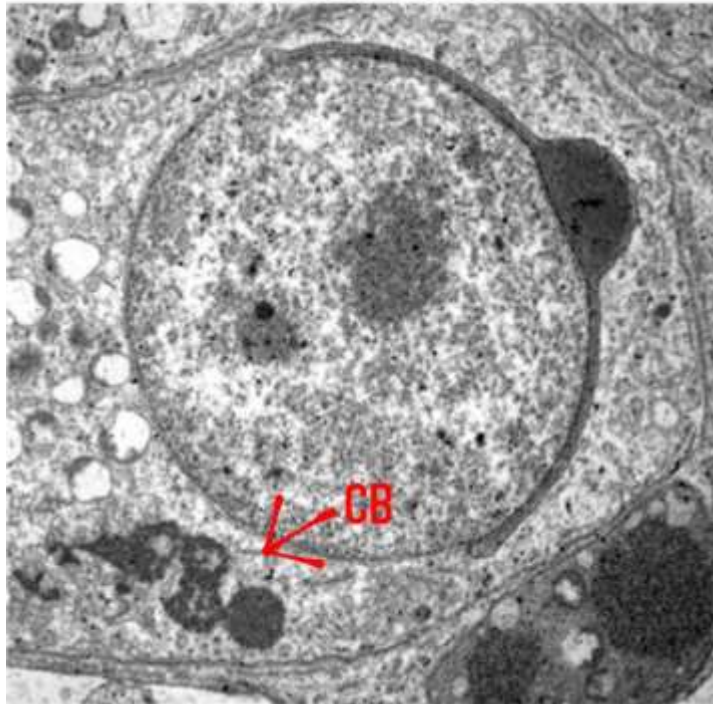


Figura 1: Análise ultraestrutural dos túbulos seminíferos de camundongos jovens. Elaborada pela autora.

3.2 Adultos

Assim que a célula começa a se alongar, em camundongos Swiss adultos (120 dias), pode-se observar o *chromatoid body* formado próximo às mitocôndrias, com estrutura bem definida e aumentada, no polo oposto do acrossomo, que é a estrutura que armazenará vesículas com enzimas que irão atuar, futuramente, no processo de fecundação (promovendo a reação de penetração nas camadas dos ovócitos).

ADULTOS



*Figura 2: Análise ultraestrutural dos túbulos seminíferos de camundongos adultos.
Elaborada pela autora.*

3.3 Velhos

Já em camundongos velhos (180 dias), o CB apresenta tamanho reduzido, perda da peça intermediária e estrutura fragmentada, as mitocôndrias se aproximam do acrossomo, se desassociando do CB.

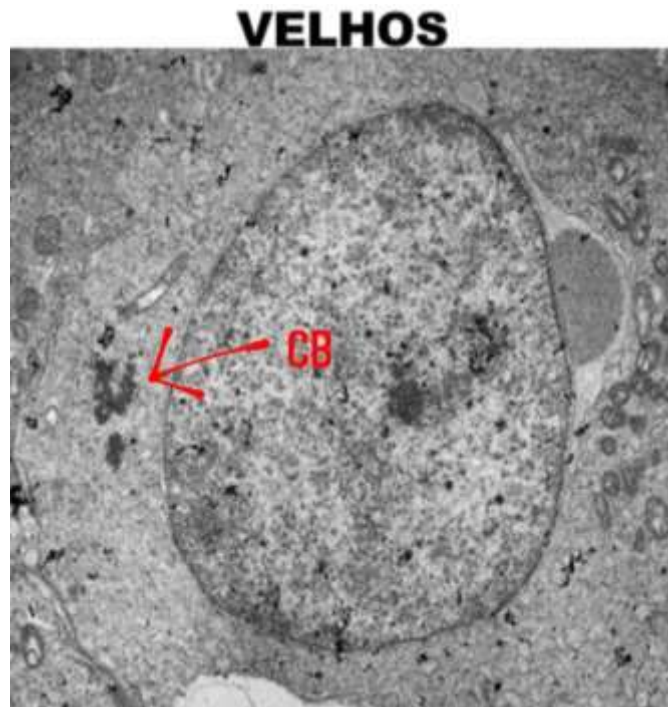


Figura 3: Análise ultraestrutural dos túbulos seminíferos de camundongos velhos. Elaborada pela autora.

Pela análise ultraestrutural por microscopia eletrônica de transmissão, foi possível observar mudanças nítidas na estrutura do *chromatoid body* tanto em posição quanto em quantidade. A organela está constantemente associada à mitocôndrias durante a fase ativa da espermatogênese.

4 DISCUSSÃO

Um aspecto interessante do CB é o movimento intracitoplasmático. O CB se move ao redor do núcleo e faz contato frequente com o poro nuclear, coletando material como os miRNAs e mRNAs. O armazenamento de RNA no CB evita a degradação do mRNA, estrutura essencial na fertilidade (ROBLES et. al, 2017).

Imediatamente após a segunda divisão meiótica, o CB e o complexo de Golgi são dispersos no citoplasma da espermatíde jovem. Mas muito em breve, durante a fase 1 da espermiogênese, essas organelas assumem a forma compactada, típica das etapas futuras. Essa morfogênese envolve a presença de vesículas de configuração contínua e bastante rápida. No decorrer dos seus movimentos citoplasmáticos, o CB faz contato também com o complexo de Golgi. No estágio 3 a movimentação diminui e cessa finalmente no estágio 5. Esses deslocamentos durante todo o processo de espermiogênese sugerem participação na maturação da espermatíde (PARVINEN, JOKELAINEN; 1974).

Em algumas espermatídes jovens do estágio 1 da espermiogênese, o CB está localizado em uma reentrância profunda do envelope nuclear. Utilizando micrografias de contraste de fase, é possível observar vesículas entre o envelope e o CB. No início, o chromatoid body apresenta uma estrutura mais compacta e está normalmente localizado perto do complexo de Golgi (PARVINEN, JOKELAINEN; 1974).

Como relatado em estudos, após a meiose, o CB se condensa em lóbulos nas espermatídes redondas e começa a se desmontar durante o alongamento da célula (WANG, 2020). Segundo estudos por análise de imunofluorescência e *Western blot*, realizados em camundongos, foi possível identificar que nos animais jovens e adultos os *chromatoid bodies* possuíam aspecto redondo simples enquanto nos idosos eles apresentavam alterações morfológicas e numéricas, além de conter diferença na quantidade de proteínas na sua composição (SANTOS et. al., 2018).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao decorrer da vida dos camundongos, é possível analisar mudança no volume, na posição e na estrutura da organela. Portanto, fica evidente a influência do envelhecimento na organização morfológica do CB, e consequentemente, na sua atuação durante espermatogênese, processo que depende diretamente da ação das proteínas concentradas no chromatoid body. Pela diminuição da atividade dessa organela, há, consequentemente, alteração também na qualidade e quantidade de espermatozoides.

REFERÊNCIAS

- GRISWOLD, Michael D. **The central role of Sertoli cells in spermatogenesis**. Washington: Seminars in Cell & Developmental Biology. v. 9, n. 4, p. 411-416. 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/scdb.1998.0203>. Acesso em: 22 mar. 2021.
- MEIKAR, Oliver. **Chromatoid body mediated RNA regulation in mouse male germline**. Turku: University of Turku. 2013. Disponível em: <http://urn.fi/URN:ISBN:978-951-29-5623-4>. Acesso em: 15 mar. 2020.
- MIRANDA, Eduardo Pereira de. **Análise estereológica dos efeitos do envelhecimento na espermatogênese em testículos de ratos**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 2017. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1884/52875>. Acesso em: 25 fev. 2020.
- OAKBERG, Eugene F. **Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium**. American Journal of Anatomy. v. 99, n. 3, p. 507-516. 1956. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/aja.1000990307>. Acesso em: 21 mar. 2021.
- PARVINEN, Martin; JOKELAINEN, Pentti T., **Rapid Movements of the Chromatoid Body in Living Early Spermatids of the Rat**, Biology of Reproduction, v. 11, Issue 1, 1. p 85-92. 1974., Disponível em: <https://doi.org/10.1095/biolreprod11.1.85>. Acesso em: 22 out. 2021.
- PARVINEN, Martti. **The chromatoid body in spermatogenesis**. Turku: Internacional journal of andrology. v. 28, n. 4, p 189-201. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2005.00542.x>. Acesso em: 10 mar. 2020.
- PERUQUETTI, Rita Luiza. **Caracterização do ciclo nucleolar e da formação do corpo cromatóide na espermatogênese de alguns vertebrados**. São José do Rio Preto: Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. 127 f. Tese (doutorado). 2009. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/102725>. Acesso em: 29 mar. 2020.
- PERUQUETTI, Rita Luiza; DE MATEO, Sara; SASSONE-CORSI, Paolo. **Circadian Proteins CLOCK and BMAL1 in the Chromatoid Body, a RNA Processing Granule of Male Germ Cells**. PLoS ONE. v. 7, n. 8, e42695. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042695> . Acesso em: 29 mar. 2020
- ROBLES, V; HERRAZES, P; LABLLÉ, C; et al. **Molecular basis of spermatogenesis and sperm quality**. Gen Comp Endocrinol. v. 245. p 5-9. 2017. Disponível em: [doi:10.1016/j.ygcen.2016.04.026](https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.04.026). Acesso em: 20 out. 2021.
- SANTOS, EG. et al. **Aging and chromatoid body assembly: Are these two physiological events linked?** Experimental Biology and Medicine. v. 243, n. 11, p. 917-925. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1535370218784871>. Acesso em: 30 mar. 2020.
- SHARMA, Rakesh; AGARWAL, Ashok. **Spermatogenesis: An Overview**. Nova Iorque: Sperm chromatin for the Researcher. v. 1, n. 1, p 19-44. 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6857-9_2 . Acesso em: 27 jan. 2021.

SUD, Buphinder N. **Morphological and Histochemical Studies of the Chromatoid Body and Related Elements in the Spermatogenesis of the Rat.** s3-102. p. 119-129. Oxford: Journal of Cell Science. 1961. Disponível em: <https://jcs.biologists.org/content/joces/s3-102/60/495.full.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2020.

WANG, Xiaoli et. al. **Mitochondria Associated Germinal Structures in Spermatogenesis: piRNA Pathway Regulation and Beyond.** 9(2):399. *Cells*. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cells9020399>. Acesso em: 20. Ago. 2020.