

ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÉNIO – PODERÃO SER USADAS COMO INDICADORES DE QUALIDADE ESPERMÁTICA?

Sousa, Ana Paula ^{1,4*}; Escada-Rebello, Sara ^{1,2*}; Almeida-Santos, Teresa ^{1,4,5}; Paiva, Artur ⁶ e Ramalho-Santos, João ^{1,3}

¹ Grupo Biologia da Reprodução e Células Estaminais, Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra, Portugal; ² Programa Doutor em Biologia Experimental e Biomedicina, Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra, Portugal; ³ Departamento Ciências da Vida, Universidade de Coimbra, Portugal; ⁴ Serviço de Medicina da Reprodução, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal; ⁵ Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal; ⁶ Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal;

* Contribuíram de igual modo para a realização do trabalho

INTRODUÇÃO

Atualmente, 15% dos casais enfrentam problemas de infertilidade, dos quais, 50% devem-se ao fator masculino. Para além disso, as taxas de sucesso das técnicas de procriação medicamente assistida (PMA) rondam os 32%. Tal deve-se não só à heterogeneidade dos ejaculados (contendo gâmetas funcionais e não-funcionais), mas também ao facto de que a análise seminal tradicional, o espermograma, é pouco preditiva em termos de funcionalidade da célula. Isto vem reforçar a necessidade de identificar *function-based biomarkers* que possam ser usados tanto para diagnóstico como para a seleção dos melhores gâmetas para PMA. A relação estabelecida entre a funcionalidade mitocondrial e a qualidade espermática, vem evidenciar o uso de parâmetros mitocondriais, tais como os níveis de espécies reativas de oxigénio (ROS, *reactive oxygen species*), como forma de identificar e segregar uma subpopulação de células mais funcionais.

OBJETIVOS

Correlacionar os níveis de ROS de cada amostra com os dados do espermograma, a fim de perceber se os níveis dos mesmo podem ser usados como indicadores de qualidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras de espermatozoides obtidas de pacientes a iniciar/ou em tratamento de fertilidade foram analisadas para recolher parâmetros tais como, concentração, mobilidade e morfologia. As células foram posteriormente analisadas por citometria de fluxo e os resultados foram correlacionados com os valores do espermograma previamente obtidos.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

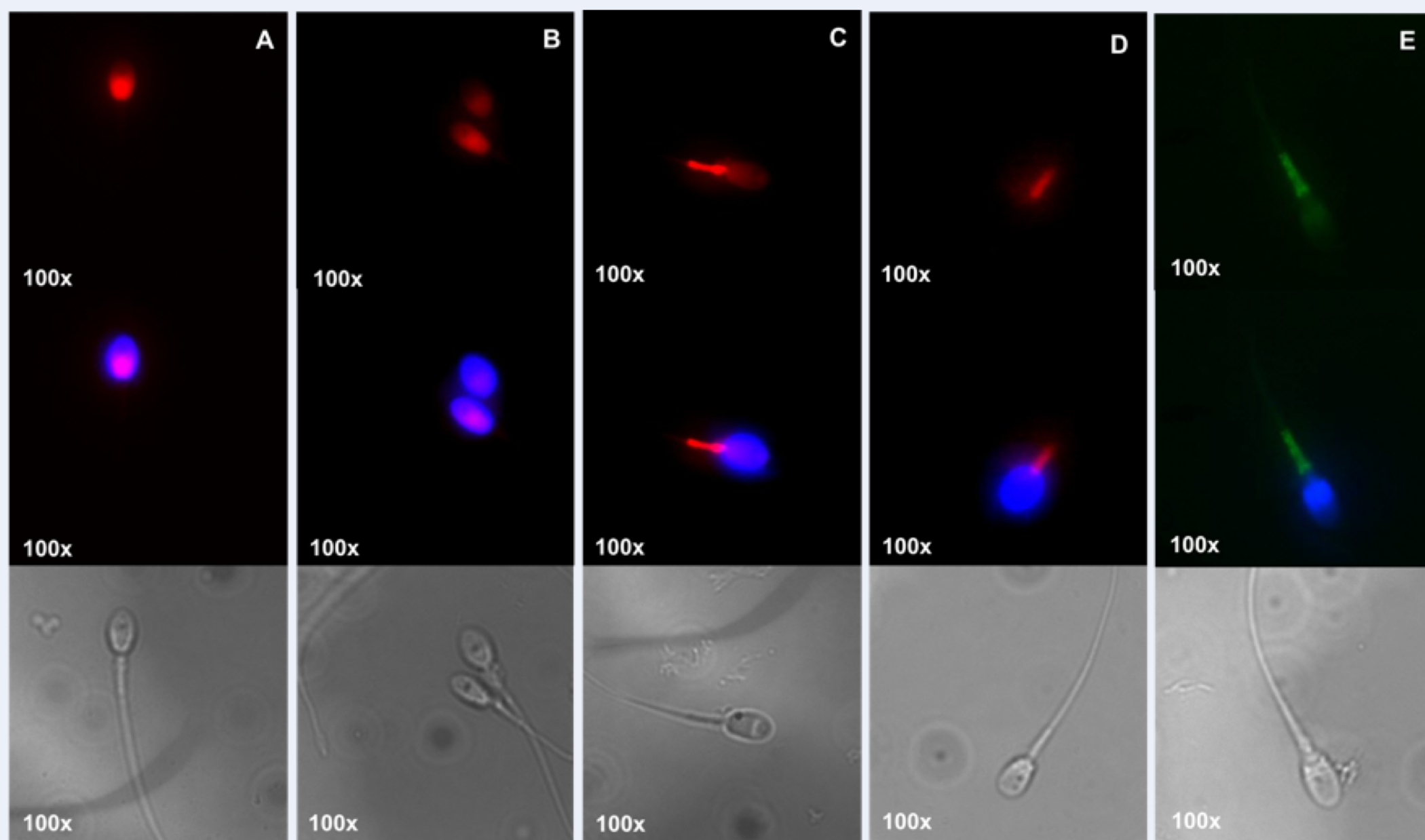


Figura 1. Imagens representativas de microscopia de fluorescência de espermatozoides marcados com sondas fluorescentes específicas para espécies reativas de oxigénio. A) MitoSOX™ Red, B) DHE, C) RedoxSensor™ Red CC-1, D) CellROX Orange Reagent e E) MitoPY1. Primeira fila – sondas de ROS, segunda fila – sondas de ROS e marcação do núcleo (Hoechst) and Terceira fila – imagem campo claro. As imagens foram adquiridas com ampliação de 100x.

Tabela 1. Correlação entre os níveis de intensidade média de fluorescência (IMF) das sondas de ROS com os parâmetros seminais. Estes parâmetros foram adquiridos aquando da realização do espermograma. Os valores de IMF foram adquiridos por citometria de fluxo (FACS Calibur, Becton Dickinson; Nova Jersey, EUA). A análise estatística foi realizada recorrendo ao software IBM® SPSS® Statistics versão 22.0 (Armonk, Nova Iorque, EUA). Valores de p: * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

	Concentração	pH	Mobilidade A+B	Mobilidade D	Morfologia normal	Morfologia anormal
MitoSOX™ Red	r = -0,219 *p = 0,019 n = 114	r = -0,267 *p = 0,015 n = 82	r = -0,243 **p = 0,009 n = 114	r = 0,320 **p = 0,001 n = 114	--	--
DHE	r = -0,229 **p = 0,004 n = 155	--	r = -0,412 ***p = 0,000 n = 155	r = 0,388 ***p = 0,000 n = 155	--	r = -0,263 *p = 0,010 n = 94
RedoxSensor™ Red CC-1	--	r = -0,275 *p = 0,026 n = 66	--	r = 0,283 **p = 0,004 n = 100	--	--
MitoPY1	--	--	--	--	r = -0,257 *p = 0,014 n = 91	r = 0,235 *p = 0,026 n = 91

Os resultados obtidos mostram uma correlação estatisticamente significativa entre os níveis de ROS e os parâmetros espermáticos. Apesar das correlações serem relativamente baixas (valores de r entre os 0,2 e 0,4), os resultados comprovam mais uma vez a relação previamente estabelecida, sugerindo o uso dos níveis de ROS como biomarcadores para a seleção dos gametas mais aptos.