

O EFEITO DO ENVELHECIMENTO NA QUALIDADE OVOCITÁRIA: PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E MITOCONDRIAIS

Ana Paula Sousa^{1,2}, Raquel Fernandes², Ana Filipa Ferreira^{1,3}, Sandra Reis², João Ramalho-Santos^{2,4},
Teresa Almeida-Santos^{1,2,3}

¹ Serviço de Medicina da Reprodução, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra; ² Centro de Neurociências e Biologia Celular,
³ Faculdade de Medicina e ⁴ Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra.

Introdução

Nas últimas décadas, as mulheres têm vindo a adiar, cada vez mais, a maternidade, sobretudo no mundo ocidental. Contudo, o aumento da idade da mulher caracteriza-se pelo decréscimo da fertilidade, que está associado a uma diminuição da qualidade ovocitária. No ovócito, a produção de energia pelas mitocôndrias é crucial para que a maturação ovocitária e o desenvolvimento embrionário inicial ocorram de forma apropriada. Vários estudos demonstraram que alterações na função mitocondrial ao nível do ovócito estão associadas a uma menor qualidade ovocitária e embrionária. O envelhecimento ovocitário tem sido também associado à disfunção mitocondrial ao nível do ovócito.

Objetivo

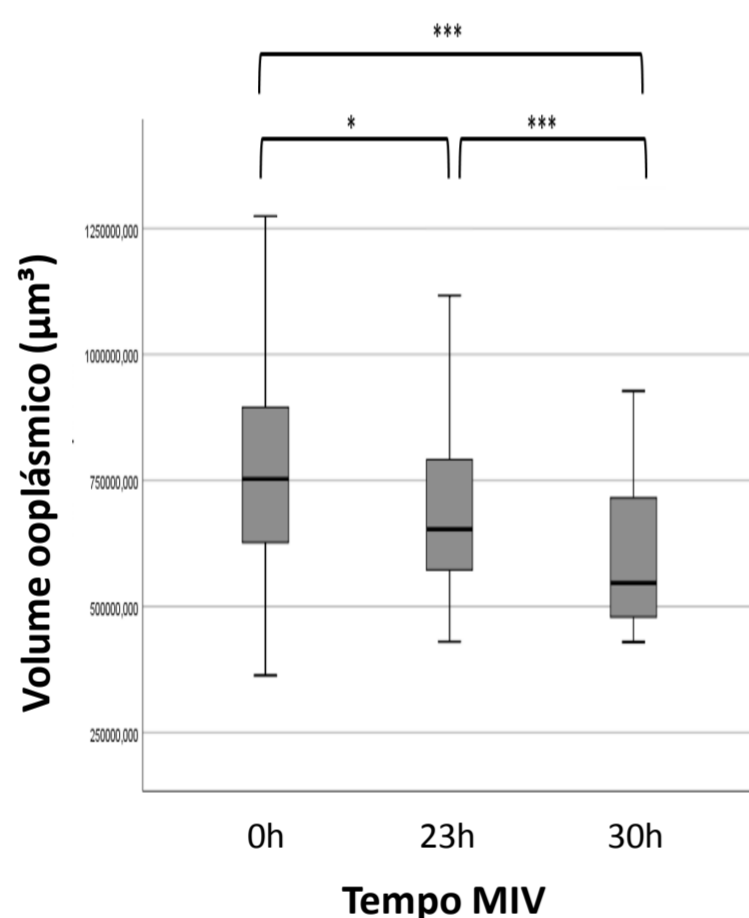
Avaliar o impacto do envelhecimento nos ovócitos, comparando parâmetros morfológicos (volume) e mitocondriais (massa, distribuição, agregação, atividade e níveis de stress oxidativo).

Material e Métodos

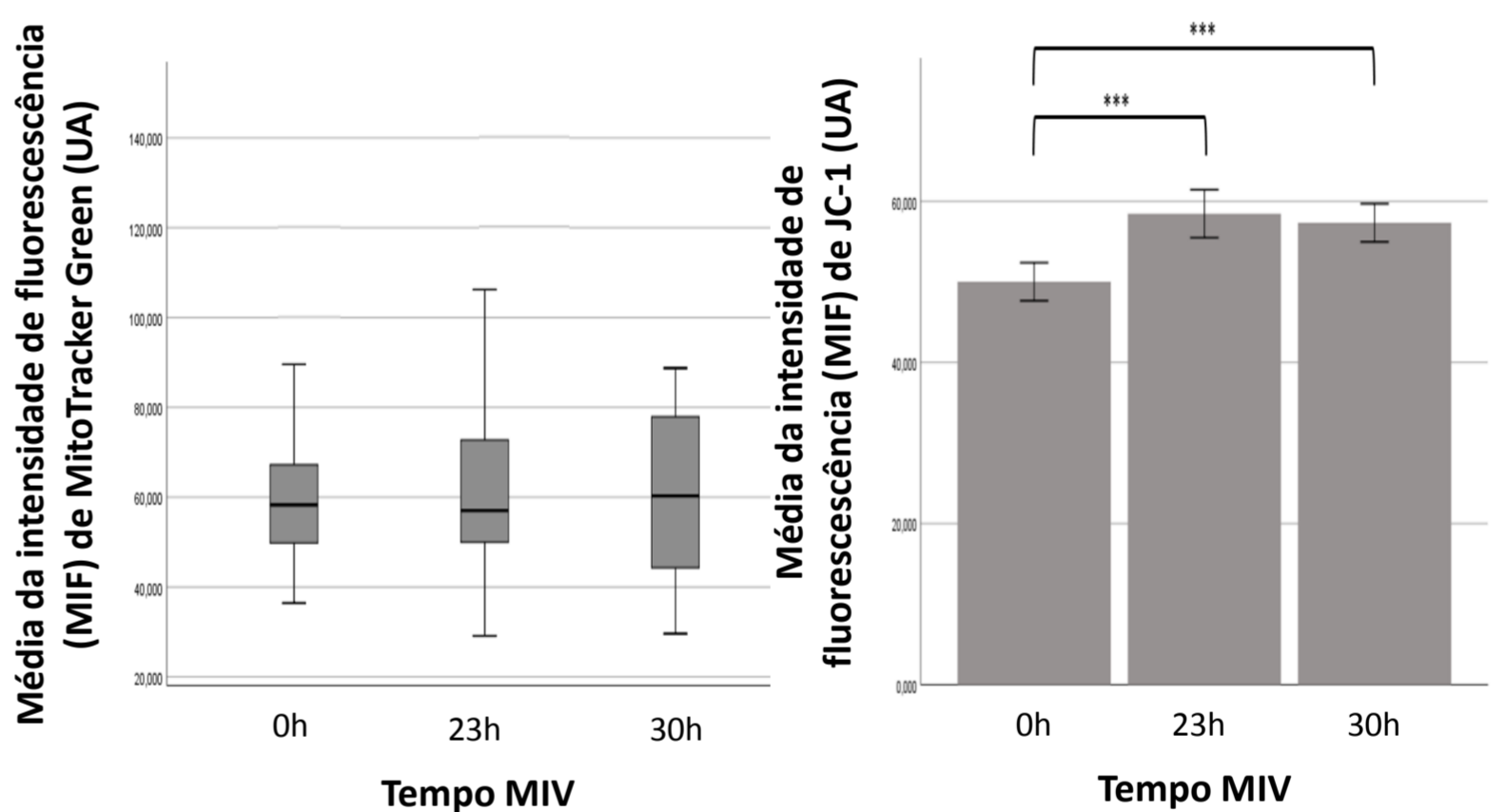
Utilizando-se ovários de bovinos, obtiveram-se complexos *cumulus*-ovócito, que foram cultivados *in vitro* durante 23h (ovócitos jovens) e 30h (ovócitos envelhecidos). Calculou-se o volume ooplásmico usando a expressão $\pi d^2 D / 6$ (d - eixo menor e D - eixo maior). Avaliou-se a massa, a distribuição e a agregação mitocondrial (*MitoTracker Green*); a atividade mitocondrial (*JC-1*) e os níveis mitocondriais de peróxido de hidrogénio (H_2O_2 ; *MitoPY1*).

Resultados

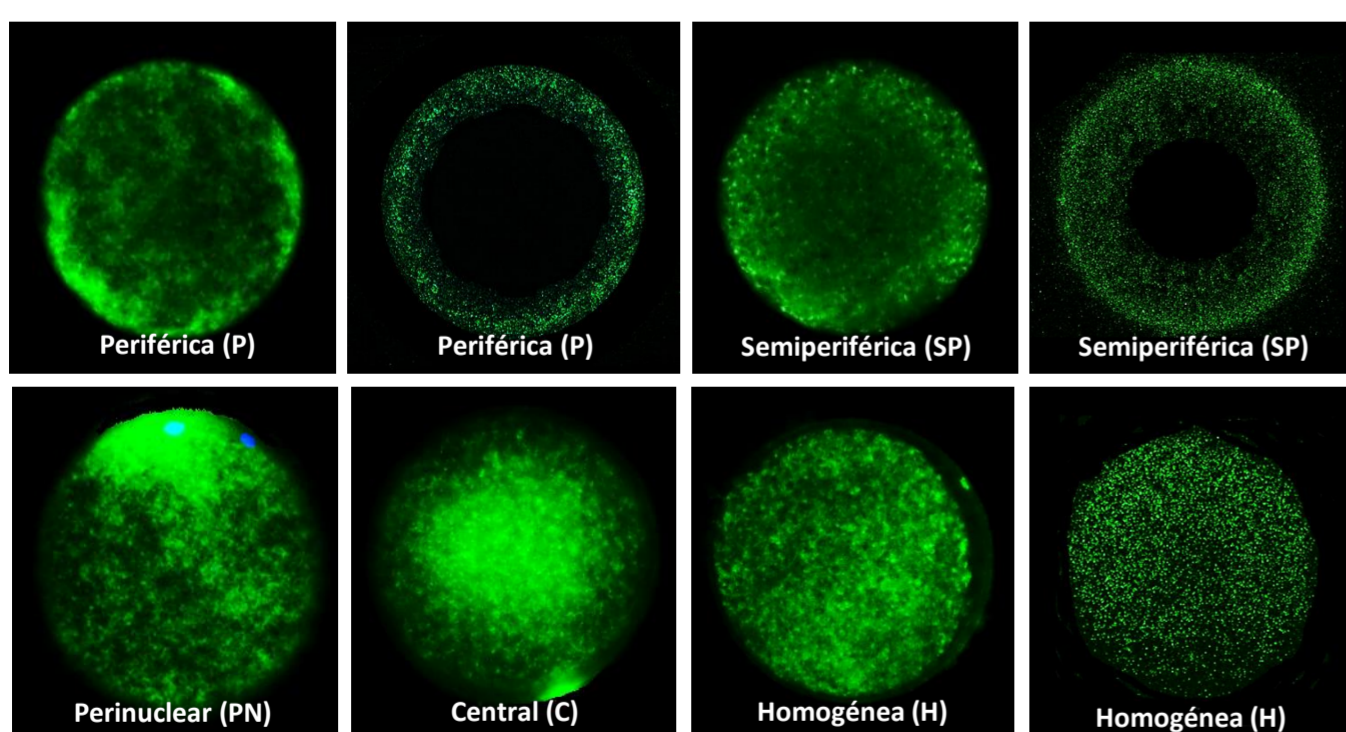
Verificou-se que o volume é significativamente menor nos ovócitos envelhecidos, em comparação com os jovens.



Quanto à massa e à atividade mitocondrial, não se verificaram diferenças significativas entre ovócitos jovens e envelhecidos.



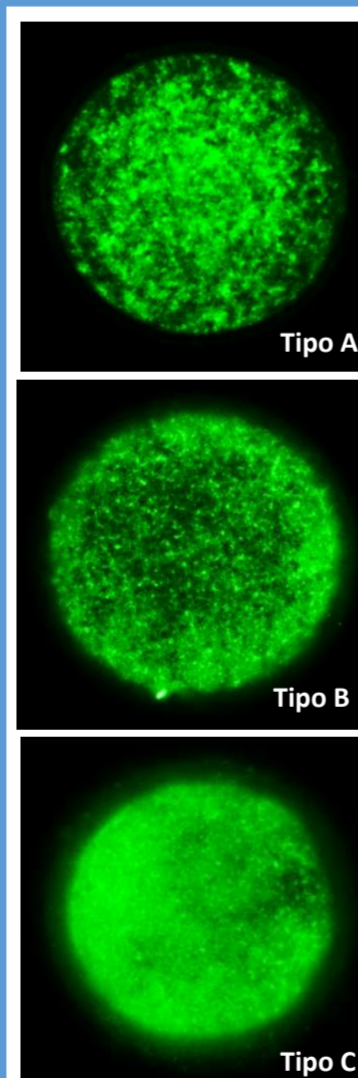
A distribuição mitocondrial foi classificada em 6 categorias distintas: distribuição periférica (P), semiperiférica (SP), perinuclear (PN), central (C) e homogénea (H).



Não se verificaram diferenças na distribuição mitocondrial entre ovócitos jovens e envelhecidos.

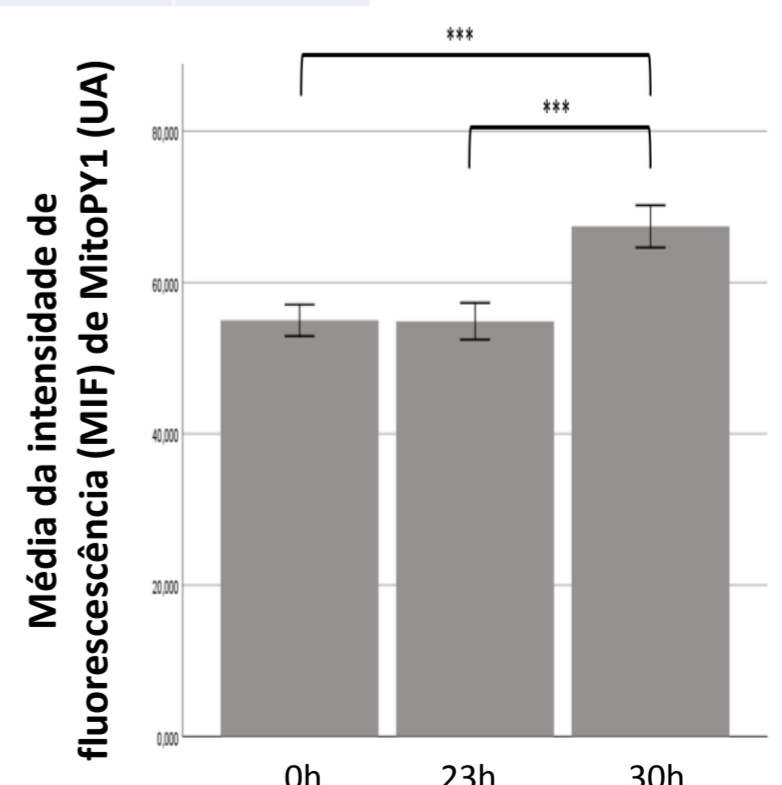
Tempo de MIV	Distribuição mitocondrial				
	P	SP	PN	C	H
0h	28,9% (11)	52,6% (20)	7,9% (3)	0% (0)	10,5% (4)
23h	0% (0)	12,8% (6)	8,5% (4)	23,4% (11)	55,3% (26)
30h	2,3% (1)	31,8% (14)	11,4% (5)	6,8% (3)	47,7% (21)

A agregação mitocondrial foi classificada em 3 categorias: **A**, as mitocôndrias organizam-se em agregados de maiores dimensões; **B**, as mitocôndrias organizam-se em agregados de menores dimensões; **C**, as mitocôndrias não se organizam em agregados, originando uma marcação de aspeto liso e regular. Observou-se que os ovócitos jovens possuem mitocôndrias que se organizam em agregados, organizando-se de forma mais difusa nos ovócitos envelhecidos.



Tempo de MIV	Agregação mitocondrial (MTG)		
	A	B	C
0h	68,4% (26)	18,4% (7)	13,2% (5)
23h	17% (8)	44,7% (21)	38,3% (18)
30h	0% (0)	27,3% (12)	72,7% (32)

Verificou-se ainda que os ovócitos envelhecidos apresentam níveis mitocondriais de H_2O_2 significativamente mais elevados.



Conclusão Conclui-se que o envelhecimento leva a alterações no volume ooplásmico, no padrão de agregação mitocondrial e nos níveis mitocondriais de H_2O_2 nos ovócitos.