

Influência do estilo de vida e da idade na qualidade espermática: DNA, mitocôndrias e parâmetros espermáticos.



Arantes-Rodrigues, R.^{1,2}, Pinho, P.^{1,3}, Gomes, Z.⁴, Brito, M.⁴, Moutinho, O.⁴, Gaivão, I.⁵, Colaço, B.², Pinto Leite, R.¹

utad

¹Laboratório de Genética/Andrologia do Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal
²Centro de Investigação e de Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal
³Departamento de Genética e Biotecnologia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal
⁴Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro (CHTMAD), Departamento de Obstetria e Ginecologia, Vila Real, Portugal
⁵Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal



Financiamento

1. O que se sabe?

Cerca de 20 a 30% dos casos de infertilidade devem-se exclusivamente a fatores masculinos e pensa-se que o estilo de vida pode influenciar a fertilidade [1-2]. A obesidade já é considerada uma epidemia, sendo que Portugal não é exceção, com quase metade da população acima do peso [3]. Associando a

obesidade com o avançar da idade de procriação [4], e estilos de vida com vários fatores de risco, são importantes estudos que avaliem em que medida estes fatores, cada vez mais prevalentes na população, prejudicam a qualidade espermática.

2. Objetivo

Avaliar a influência do estilo de vida (hábitos tabágicos, alcoólicos e exposição ocupacional de risco), do índice de massa corporal (IMC) e da idade dos indivíduos nos parâmetros espermáticos, no DNA espermático e na percentagem de espermatozoides (SPZ) com mitocôndrias ativas.

3. Materiais e Métodos

Consulta de Infertilidade CHTMAD



149 amostras (indivíduos de 22-52 anos)

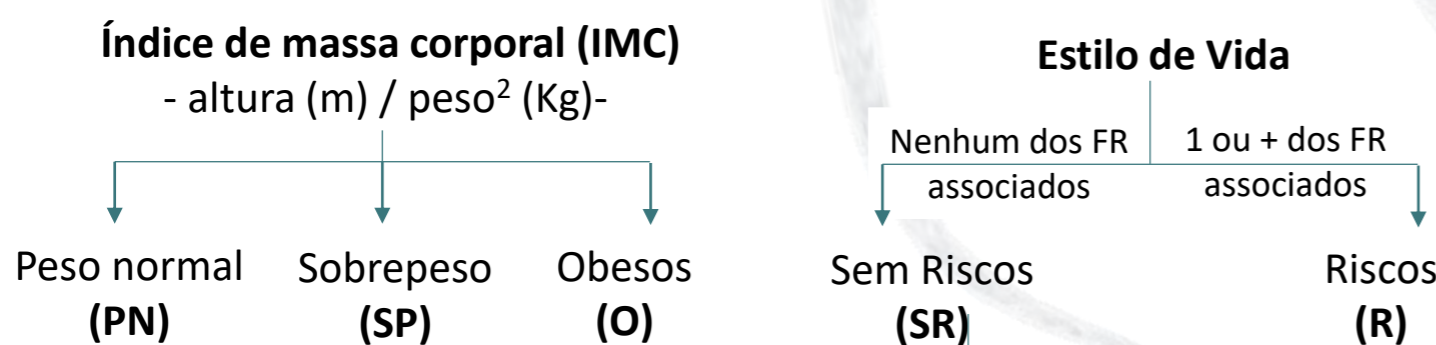
- Espermograma (WHO, 2010) [5]
- Inquérito – Fatores de risco (FR) associados ao estilo de vida: hábitos tabágicos, hábitos alcoólicos e exposição ocupacional de risco.

Em 26 amostras analisou-se também:

- Integridade do DNA espermático
 - Dano no DNA (UA): Ensaio do Cometa Alcalino [6]
 - Espermatozoides com DNA fragmentado (%): TUNEL [7]
- SPZ com mitocôndrias ativas (%) [8-9]



Caraterização dos indivíduos:



I - Avaliação do impacto do estilo de vida (SR vs R) nos:

- Parâmetros espermáticos;
- Integridade do DNA;
- Percentagem de SPZ com mitocôndrias ativas.

II - Avaliação do impacto do IMC (PN vs SP vs O) e do IMC associado ao estilo de vida SR nos:

- Parâmetros espermáticos.

III - Correlação entre o IMC e os estilos de vida (SR e R):

- Na integridade do DNA;
- Na percentagem de SPZ com mitocôndrias ativas.

IV - Correlação entre a idade e:

- Parâmetros espermáticos;
- Integridade do DNA;
- Percentagem de SPZ com mitocôndrias ativas.



Análise Estatística
IBM SPSS Statistics 25 software

5. Conclusões

No geral, a qualidade espermática é afetada negativamente pelo aumento do IMC e da idade dos indivíduos, bem como pelo estilo de vida, sendo os parâmetros espermáticos e os danos no DNA os mais afetados, o que vai ao encontro do descrito na bibliografia [10-12].

6. Referências

- [1] Kopeika, J., Thornhill, A. & Khalaf, Y. (2015). Review. The effect of cryopreservation on the genome of gametes and embryos: principles of cryobiology and critical appraisal of the evidence. *Hum Reprod Update*. 21:209-27; [2] Sharma, R., Biedenharn, K., Fedor, J. & Agarwal, A. (2013). Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. *Reprod Biol Endocrinol*. 11:66; [3] Fundação Portuguesa de Cardiologia. *Obesidade*. Disponível em: <http://www.fpccardiolgia.pt/saude-do-coracao/fatores-de-risco/obesidade/>; [4] Hsieh, T.T., Liou, J.D., Hsu, J.J., Lo, L.M., Chen, S.F. & Hung, T.H. (2010). Advanced maternal age and adverse perinatal outcomes in an Asian population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 48:21-6; [5] WHO (2010). *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*. 5ª Edição. Geneva: World Health Organization; [6] Sipilinen, V., Laubenthal, J., Baumgartner, A., Cemelli, E., Linschooten, J.O., Godschalk, R.W. Van Schooten, F.J., Anderson, D. & Brunborg, G. (2010). In vitro evaluation of baseline and induced DNA damage in human sperm exposed to benzo[a]pyrene or its metabolite benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide, using the comet assay. *Mutagenesis*. 25:417-425; [7] Muratori, M., Piomboni, P., Baldi, E., Filimberti, E., Pecchioli, P., Moretti, E., Gambera, L., Baccetti, B., Biagiotti, R., Forti, G. & Maggi, M. (2000). Functional and ultrastructural features of DNA-fragmented human sperm. *Journal of andrology*. 21: 903-912; [8] ThermoFisher Scientific. (2008) *MitoTracker and MitoFluor Mitochondrion-Selective Probes. Manuals & protocols*. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/M22425> Acedido em: 5 de Outubro de 2017; [9] Amaral, A. & Ramalho-Santos, J. (2010). Assessment of mitochondrial potential: implications for the correct monitoring of human sperm function. *International Journal of Andrology*. 33; [10] Li, Y., Lin, H., Li, Y., & Cao, J. (2011). Association between socio-psycho-behavioral factors and male semen quality: systematic review and meta-analyses. *Fertility and sterility*. 95:116-123; [11] Belloc, S., Cohen-Bacrie, M., Amar, E., Izard, V., Benkhalifa, M., Dalléac, A. & de Mouzon, J. (2014). High body mass index has a deleterious effect on semen parameters except morphology: results from a large cohort study. *Fertility and Sterility*. 102:1268-1273; [12] Carlini, T., Paoli, D., Pelloni, M., Faja, F., Dal Lago, A., Lombardo, F., Lenzi, A. & Gandini, L. (2017). Sperm DNA fragmentation in Italian couples with recurrent pregnancy loss. *Reproductive biomedicine online*. 34: 58-65.

4. Resultados e Discussão

I - Avaliação do impacto do estilo de vida

▪ Nos parâmetros espermáticos

Os indivíduos SR tendem a apresentar os melhores parâmetros espermáticos (Fig. 1).

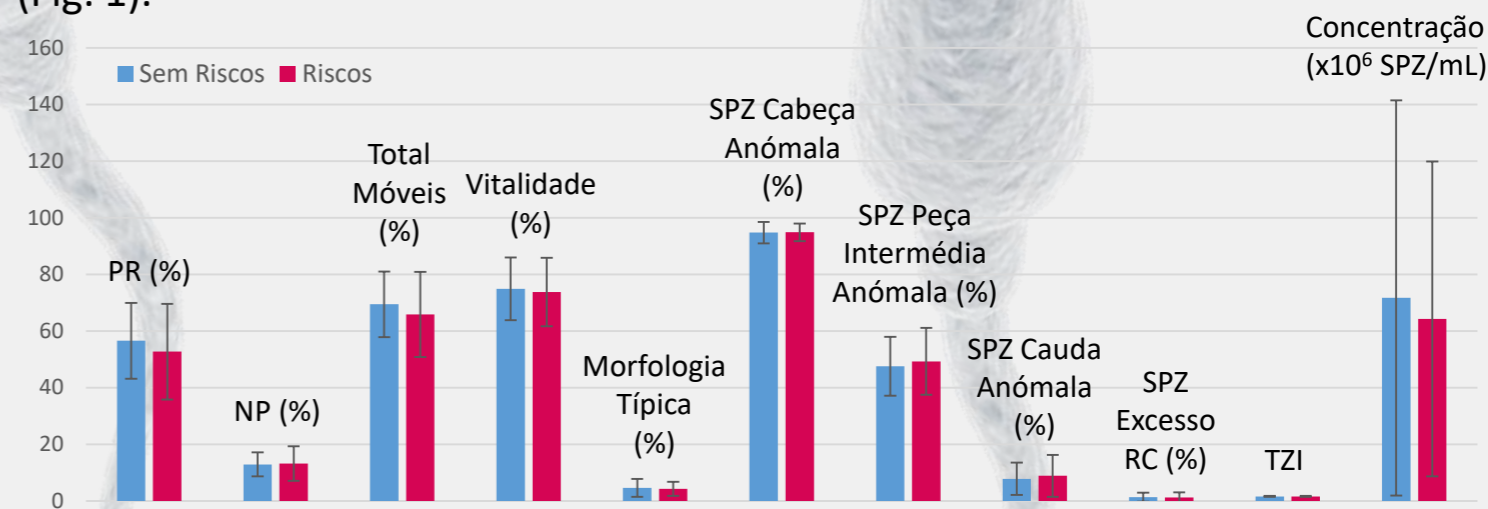


Figura 1. Parâmetros espermáticos de indivíduos sem hábitos tabágicos, alcoólicos e exposição ocupacional de risco (SR) e de indivíduos que apresentam um ou mais dos fatores de risco mencionados (R) - Média ± Desvio Padrão. PR- Motilidade progressiva; NP- Motilidade não-progressiva; TZI- Índice Teratozoospermico. p -value>0,05.

▪ Na integridade do DNA espermático

Os indivíduos SR tendem a apresentar amostras com:

- < dano no DNA (70 ± 31 UA vs 73 ± 51 UA, $p > 0,05$), e
- < percentagem de SPZ com fragmentação no DNA ($4,6 \pm 3,7\%$ vs $5,3 \pm 4,1\%$, $p > 0,05$)

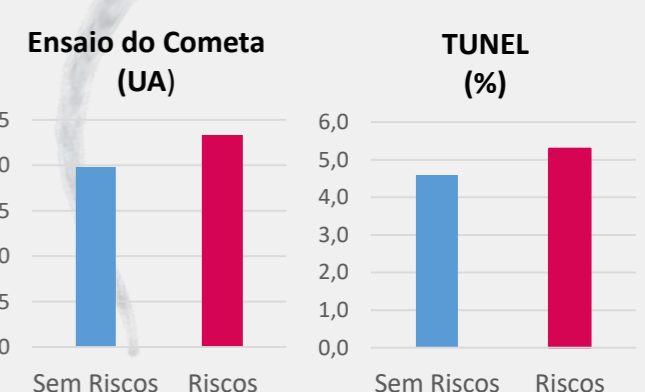


Figura 2. Danos no DNA de indivíduos sem riscos (SR) e com riscos (R) associados ao estilo de vida, por Ensaio do Cometa e TUNEL. p -value>0,05.

▪ Nas mitocôndrias ativas

Os indivíduos SR tendem a apresentar:

- > percentagem de SPZ com mitocôndrias ativas ($70,3 \pm 11,1\%$ vs $66,5 \pm 13,0\%$, $p > 0,05$)

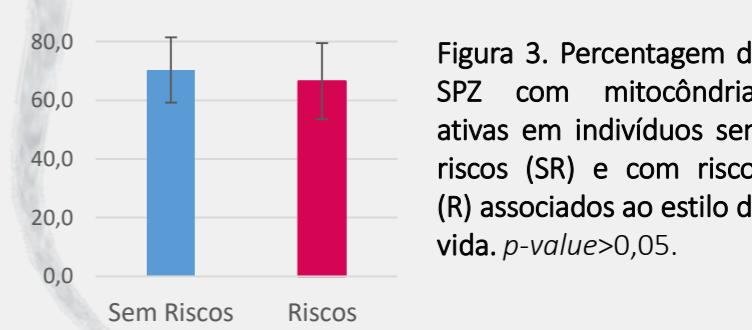


Figura 3. Percentagem de SPZ com mitocôndrias ativas em indivíduos sem riscos (SR) e com riscos (R) associados ao estilo de vida. p -value>0,05.

II - Avaliação do impacto do IMC

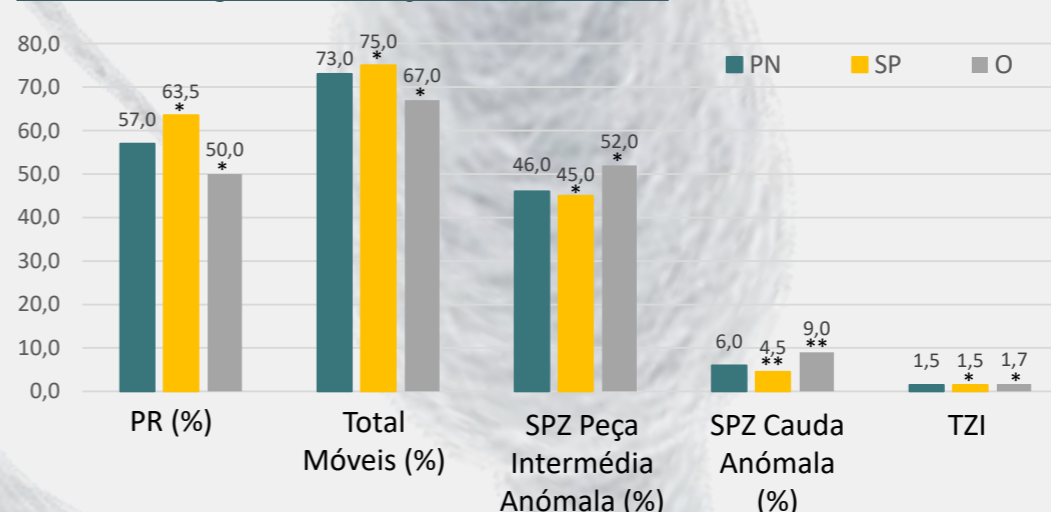


Figura 4. Parâmetros espermáticos de indivíduos sem hábitos tabágicos, alcoólicos e exposição ocupacional de risco (SR) com peso normal (PN), sobrepeso (SP) e obesidade (O). PR- Motilidade progressiva; TZI- Índice Teratozoospermico. Diferença estatisticamente significativa, * p -value<0,05 e ** p -value<0,01.

- Os indivíduos obesos (O) apresentaram os piores parâmetros espermáticos;
- No grupo SR (Fig. 4), os O apresentaram:
 - < motilidade progressiva e total
 - > percentagens de SPZ com anomalias na peça intermédia ou cauda, e
 - > índice teratozoospermico (TZI)

III - Correlação entre o IMC e os estilos de vida

▪ Na integridade do DNA espermático

- Quanto maior o IMC, maior o dano no DNA, quer no grupo SR ($r=0,661$, $p=0,053$), quer no grupo R ($r=0,717$, $p=0,030$);
- O IMC não se correlacionou com a fragmentação no DNA (TUNEL), quer no grupo SR ($r=0,373$, $p > 0,05$), quer no grupo R ($r= -0,333$, $p > 0,05$).

▪ Nas mitocôndrias ativas

- O IMC não se correlacionou com a percentagem de SPZ com mitocôndrias ativas, quer no grupo SR ($r=-0,102$, $p > 0,05$), quer no grupo R ($r=-0,059$, $p > 0,05$).

IV - Avaliação do impacto da idade

▪ Nos parâmetros espermáticos

- A idade dos indivíduos não se correlacionou com os parâmetros espermáticos ($p > 0,05$).

▪ Na integridade do DNA espermático

- Quanto maior a idade dos indivíduos, maior o dano no DNA das amostras (Ensaio do Cometa) ($r=0,523$, $p < 0,01$);
- A idade não se correlacionou com a fragmentação no DNA associada a processos apoptóticos (TUNEL) ($r=0,071$, $p > 0,05$).

▪ Nas mitocôndrias ativas

- A idade dos indivíduos não se correlacionou com a percentagem de SPZ com mitocôndrias ativas ($r=-0,033$, $p > 0,05$).