

# O ESPERMATOZOIDE CONTÉM OS COMPONENTES DA UPR QUE SÃO ATIVADOS EM CONDIÇÕES DE STRESS OXIDATIVO

Margarida Fardilha<sup>1</sup>, Joana Santiago<sup>1</sup>, Joana Vieira Silva<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Signal Transduction- Institute of Biomedicine – iBiMED, Department of Medical Sciences- University of Aveiro, Aveiro, Portugal; <sup>2</sup> Department of Microscopy- Laboratory of Cell Biology- and Unit for Multidisciplinary Research in Biomedicine UMIB- Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar ICBAS, University of Porto, Porto, Portugal; <sup>3</sup> Reproductive Genetics and Embryo-fetal Development Group- Institute for Innovation and Health Research I3S, University of Porto, Porto, Portugal.

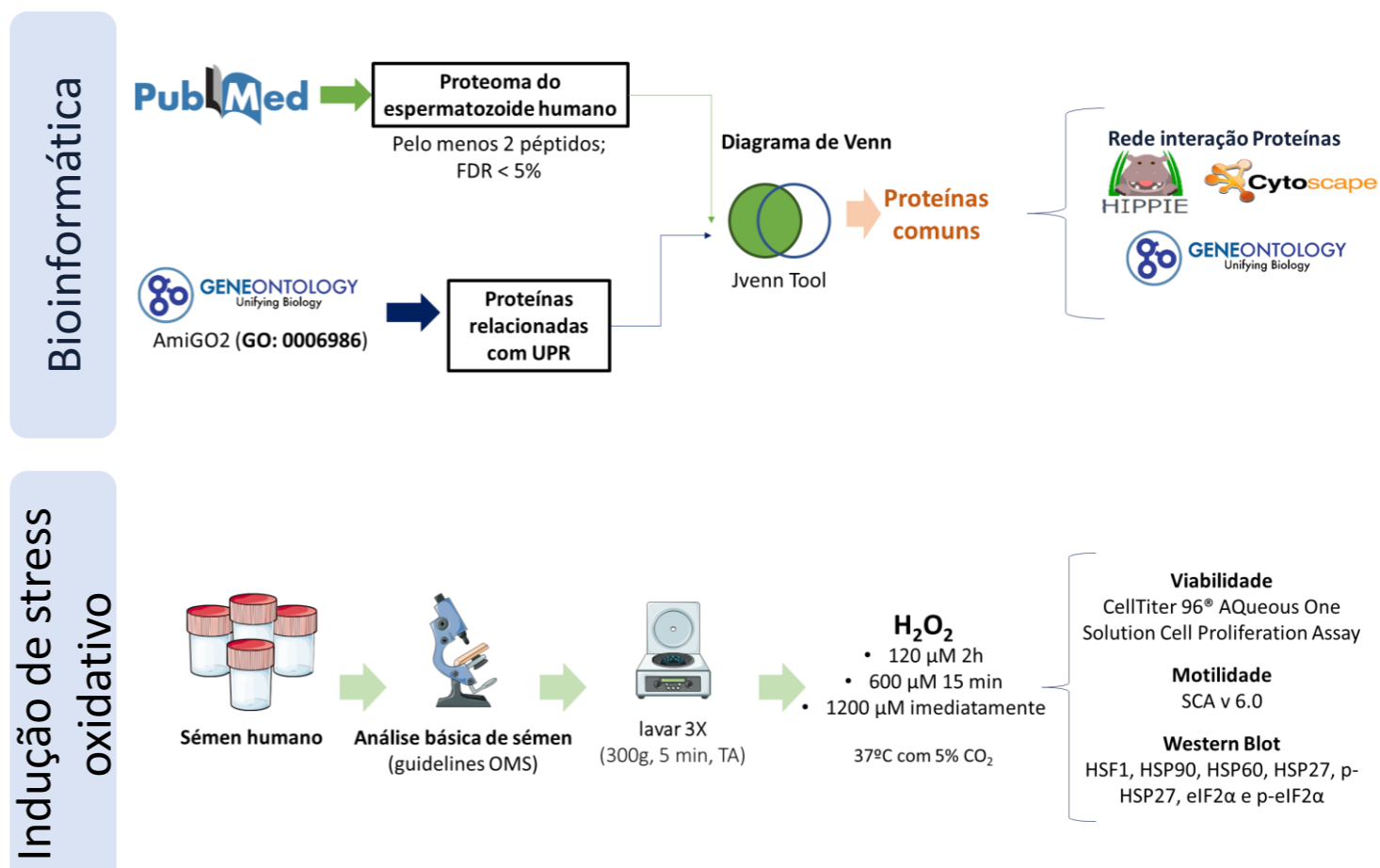
## Introdução

A via de resposta a proteínas unfolded (Unfolded protein response - UPR) é conservada em células somáticas e, essencial no controlo da qualidade do folding de proteínas. A UPR é ativada em resposta a vários stresses como doenças e envelhecimento. Em testículo, onde a taxa de síntese proteica é elevada os mecanismos de UPR estão bem descritos. No entanto, em espermatozoide, que é potencialmente desprovida de expressão génica, a presença da UPR nunca foi descrita.

## O nosso objetivo foi...

...Investigar a presença de proteínas relacionadas com a UPR em espermatozoides humanos e determinar o impacto da exposição a peróxido de hidrogénio na motilidade, viabilidade e ativação da UPR.

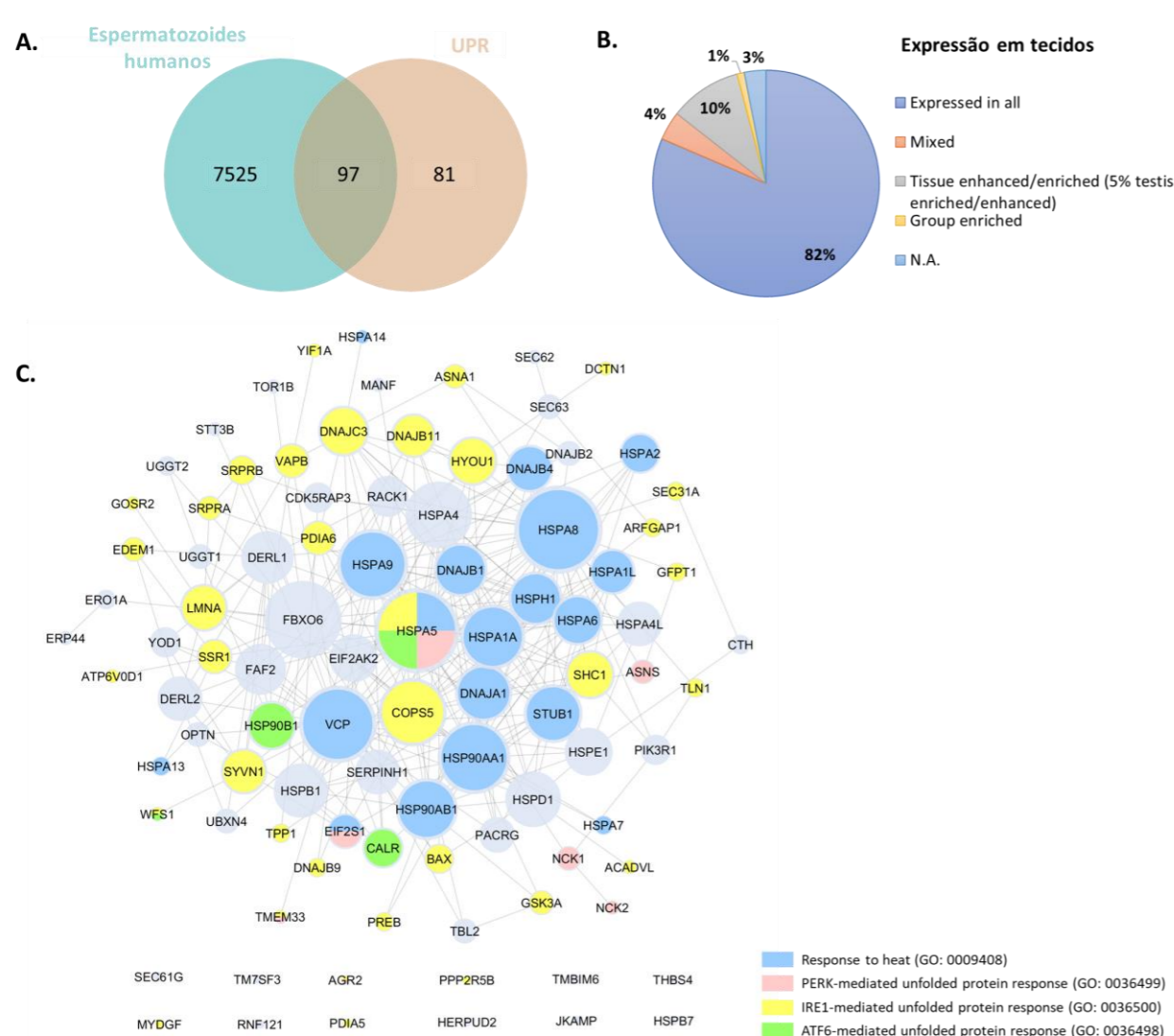
## Métodos



**Figura 1 – Desenho experimental.** A. Abordagem bioinformática usada para identificar proteínas relacionadas com a UPR em espermatozoides humanos. B. Indução de stress oxidativo em espermatozoides humanos para explorar a ativação da UPR.

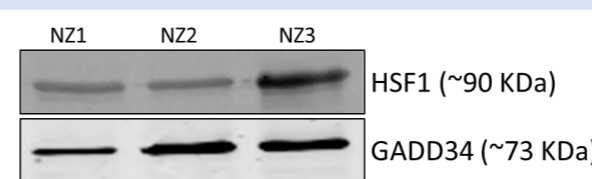
## Resultados

### 97 proteínas relacionadas com a UPR estão presentes em espermatozoides humanos



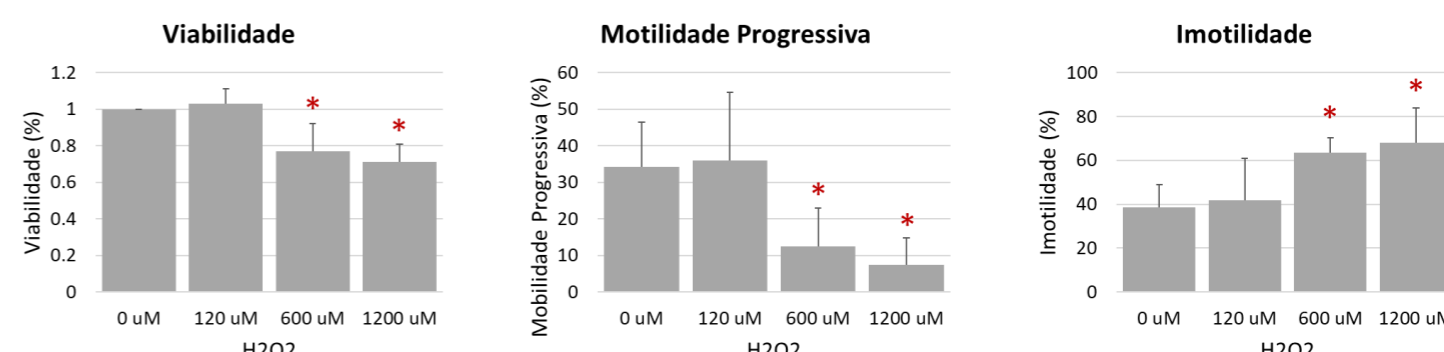
**Figura 2 – A.** A compilação do proteome de espermatozoide humano resultou numa lista de 7622 proteínas. Cruzando este proteoma com a lista de proteínas da UPR (178), 97 são comuns. **B.** As 97 proteínas da UPR presentes em espermatozoide humano foram anotadas no repositório do Human Protein Atlas. **C.** Rede de proteínas relacionadas com a UPR e presentes em espermatozoide humano. As proteínas estão anotadas de acordo com a sua associação a GO terms específicos associados com resposta a unfolded proteins.

### HSF1 e GADD34 estão presentes em espermatozoides humanos



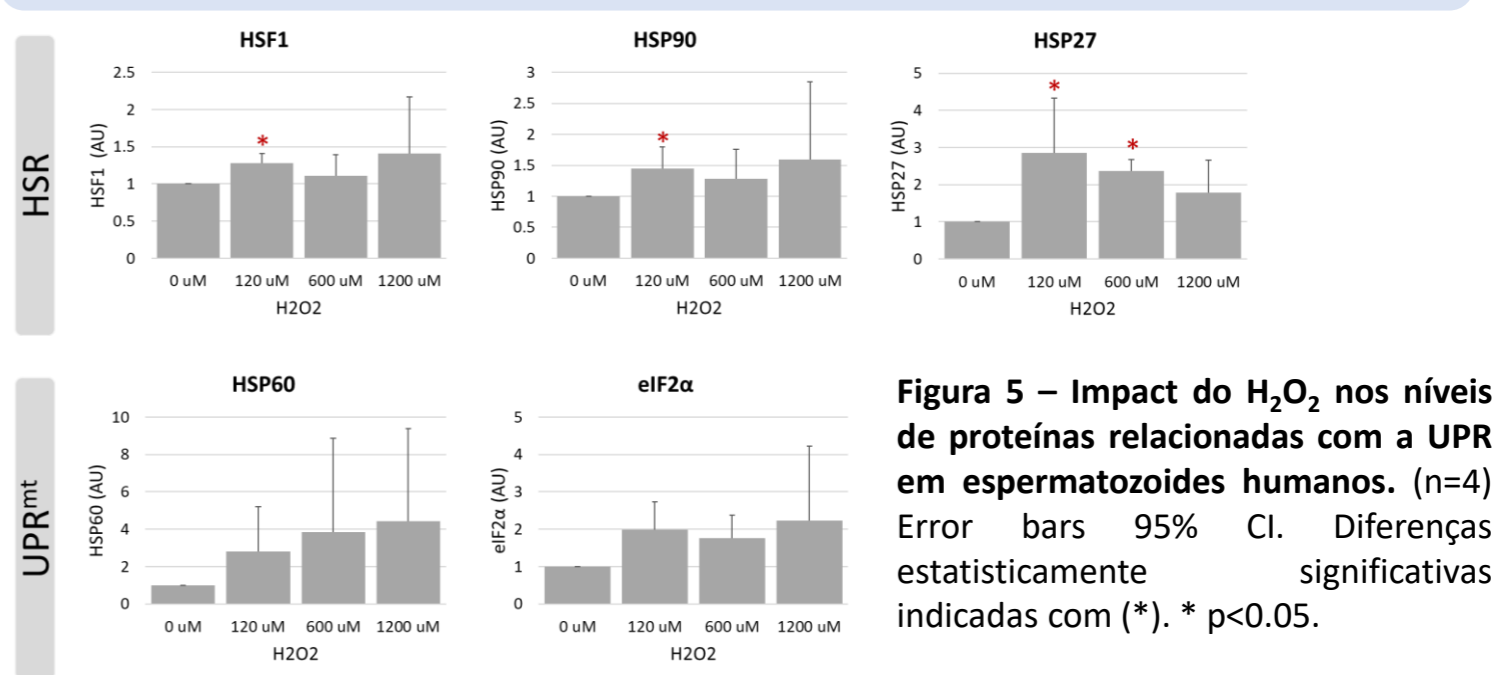
**Figura 3 – Identificação de HSF1 e GADD34 em espermatozoides humanos em 3 amostras normozoospermicas (NZ) pela primeira vez.**

### H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> afeta a viabilidade e motilidade de espermatozoides humanos



**Figura 4 – Impacto do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na viabilidade, motilidade progressiva e imotilidade de espermatozoides humanos.** (n=4) Error bars 95% CI. A viabilidade do control (0 µM) foi considerada 1. Diferenças estatisticamente significativas indicadas com (\*). \* p<0.05.

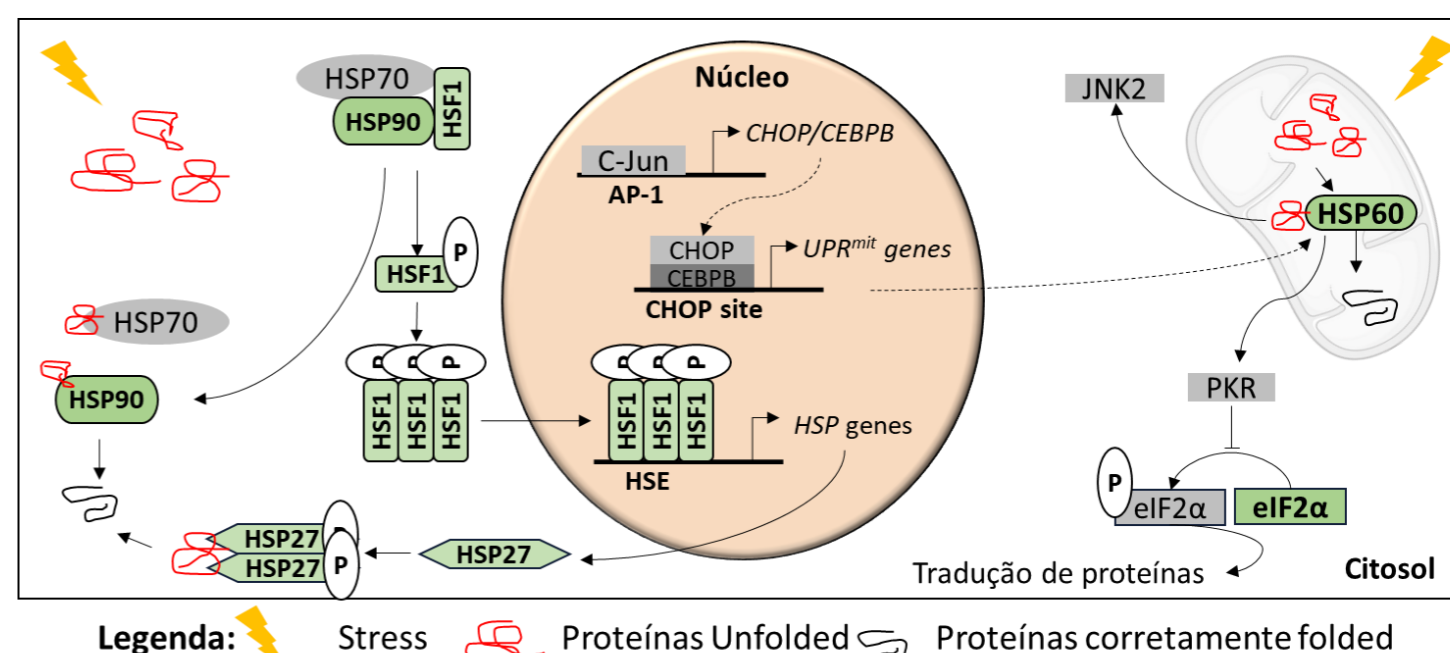
### Os níveis de proteínas relacionadas com a UPR aumentam após exposição a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



**Figura 5 – Impacto do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nos níveis de proteínas relacionadas com a UPR em espermatozoides humanos.** (n=4) Error bars 95% CI. Diferenças estatisticamente significativas indicadas com (\*). \* p<0.05.

## Discussão e conclusão

O mapeamento de proteínas da UPR no espermatozoide humano indicou-nos a presença destes mecanismos no gâmeta masculino. No entanto, a crença de que no espermatozoide a expressão genica está virtualmente ausente aponta para uma necessidade de clarificação se as respostas ao stress se ativam do mesmo modo que nas células somáticas. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> é a espécie reativa de oxigénio que mais danifica o espermatozoide. Os níveis de proteínas relacionadas com a UPR, como a HSF1, proteínas de choque térmico (HSP60, HSP90 and HSP27) e eIF2α, aumentam significativamente após exposição a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sugerindo a ativação da via da UPR em espermatozoides humanos.



**Figura 6 – Principais proteínas envolvidas em HSR (esquerda) e UPRmit (direita) identificadas em espermatozoides humanos.** Proteínas relacionadas com a UPR que se alteram após exposição a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> representadas a verde.