

Avaliação dos efeitos do sulfato de dehidroepiandrosterona (SDHEA) em células do *cumulus oophorus* em estágio antral inicial

Betina Iser¹, Helena von Eye Corleta²

¹ Laboratório de Biologia Molecular Endócrina e Tumoral, Departamento de Fisiologia – UFRGS

² Serviço de Ginecologia e Obstetrícia, HCPA

Introdução

A infertilidade afeta cerca de 15% dos casais e, apesar da evolução das técnicas de reprodução assistida (TRAs), alguns casais não obtêm sucesso no tratamento da infertilidade. Atualmente o desejo de postergar a maternidade aumenta as taxas de infertilidade, quando a mulher que apresenta reserva ovariana diminuída (ROD) o prognóstico é pior. A suplementação oral de dehidroepiandrosterona (DHEA) em pacientes com ROD demonstrou aumento do número de oócitos recrutados, aumentando o número de embriões a ser transferidos. A DHEA tem sido utilizada clinicamente, mesmo que seu mecanismo de ação seja desconhecido. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da exposição do SDHEA em células do *cumulus* em estágio do desenvolvimento folicular semelhante ao antral inicial, baseado no protocolo de desluteinização proposto por Ophir et al, 2014.

Materiais e Métodos

As CCs foram obtidas através de punção ovariana, provenientes de 10 pacientes. As CCs foram isoladas após o desnudamento do oócito. Posteriormente as CCs foram cultivadas conforme demonstrado na figura 1. Os dados de dosagem hormonal foram avaliados pelo teste de equações de estimação generalizada (GEE) e os de expressão gênica pelo teste de Wilcoxon, sendo os resultados considerados significativos quando $p \leq 0,05$.

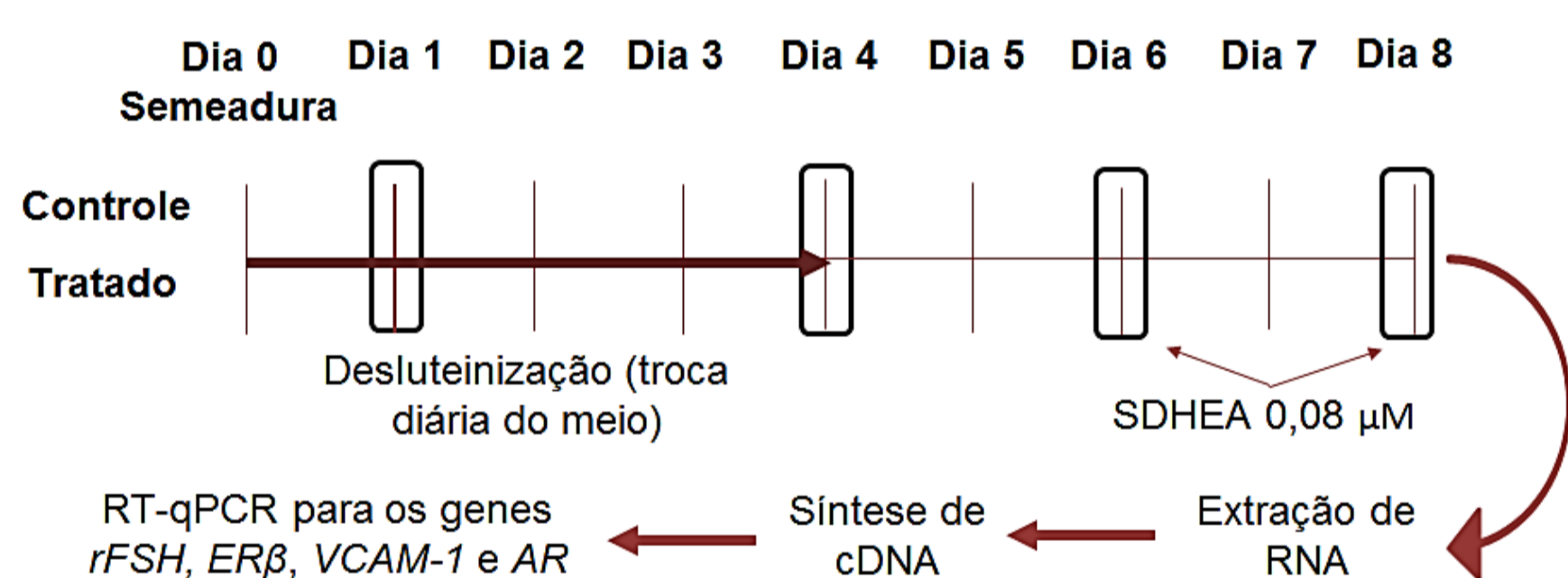


Figura 1: Representação do cultivo celular para o estágio antral inicial, para os grupos controle e tratado (exposto a 0,08 µM de SDHEA nos dias 6 e 8). Para ambos os grupos os 4 primeiros dias de cultivo foram destinados à desluteinização (troca diária do meio de cultivo). Nos dias 1, 4, 6 e 8 o sobrenadante do cultivo celular foi coletado e os hormônios estradiol (E₂) e progesterona (P) foram dosados por eletroquimioluminescência (ECL) e ECL competitiva, respectivamente. Ao término do cultivo o RNA com o kit RNAqueous foi extraído e o cDNA sintetizado a partir do RNAm, quantificando-se o RNA através de RT-qPCR (reação em cadeia da polimerase em tempo real a partir de transcrição reversa) com sondas TaqMan para os genes receptor de FSH, receptor β de estrogênio (*ERβ*), molécula de adesão celular vascular 1 (*VCAM-1*) e receptor de androgênio (*AR*). Os resultados foram analisados por $\Delta\Delta C_T$, tendo como controle endógeno o gene *HPRT1* (hipoxantina fosforibosil-transferase 1).

Resultados

O SDHEA promoveu aumento dos níveis de E₂ (pg/mL), nos dias 6 e 8 no grupo tratado (dia 6: 473,76 ± 76,43; dia 8: 655,42 ± 85,37) em comparação ao controle (dia 6: 71,38 ± 7,89; dia 8: 141,67 ± 32,48) (Figura 2). O nível de P (ng/mL) não se alterou com a suplementação de SDHEA (grupo controle: dia 6 - 671,45 ± 149,04 e dia 8 - 991,35 ± 226,92; grupo tratado: dia 6 - 594,05 ± 113,70 e dia 8: 920,3 ± 212,70) (Figura 3). A expressão dos genes *rFSH* (Figura 4), *ERβ* (Figura 5) e *AR* (Figura 7) não se alterou com a exposição ao SDHEA; porém, a expressão de *VCAM-1* (Figura 6) se mostrou menor no grupo tratado em comparação ao controle.

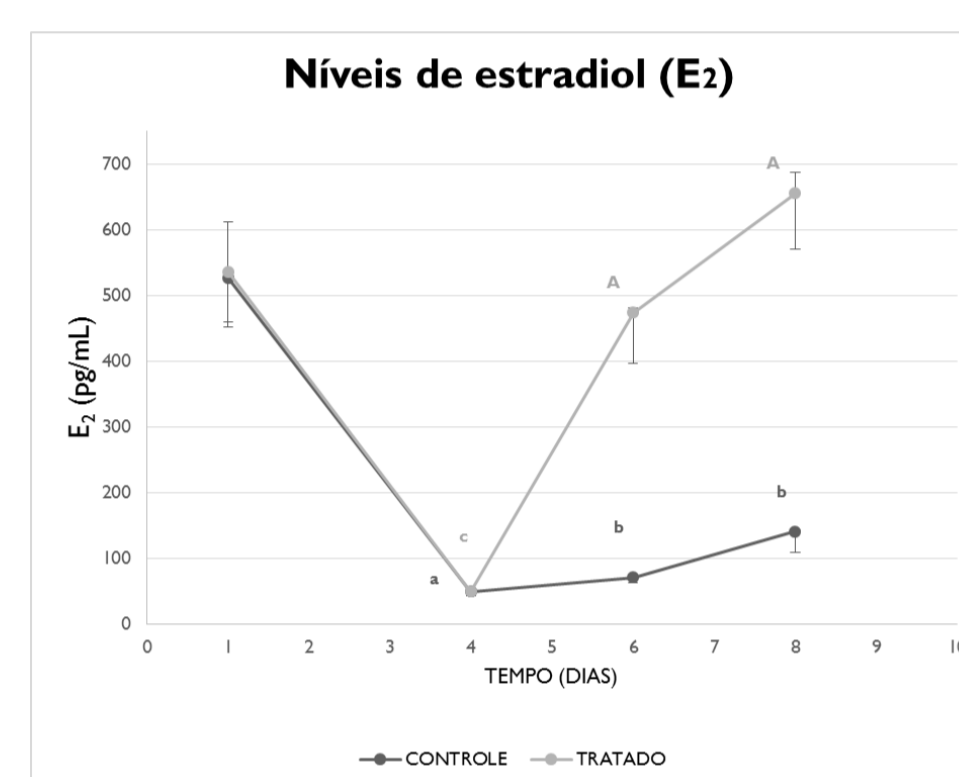


Figura 2: Níveis de estradiol (E₂), em pg/mL, do sobrenadante do cultivo das CCs em estágio antral inicial nos grupos controle e tratado. Dados expressos em média ± erro padrão. A: diferença significativa entre os grupos controle e tratado ($p \leq 0,05$). a: diferença significativa entre os dias 4 e 6 do grupo controle ($p \leq 0,05$). b: diferença significativa dos dias 6 e 8 em relação ao dia 4 ($p \leq 0,05$). c: diferença significativa do dia 4 para os dias 1, 6 e 8 ($p \leq 0,05$).

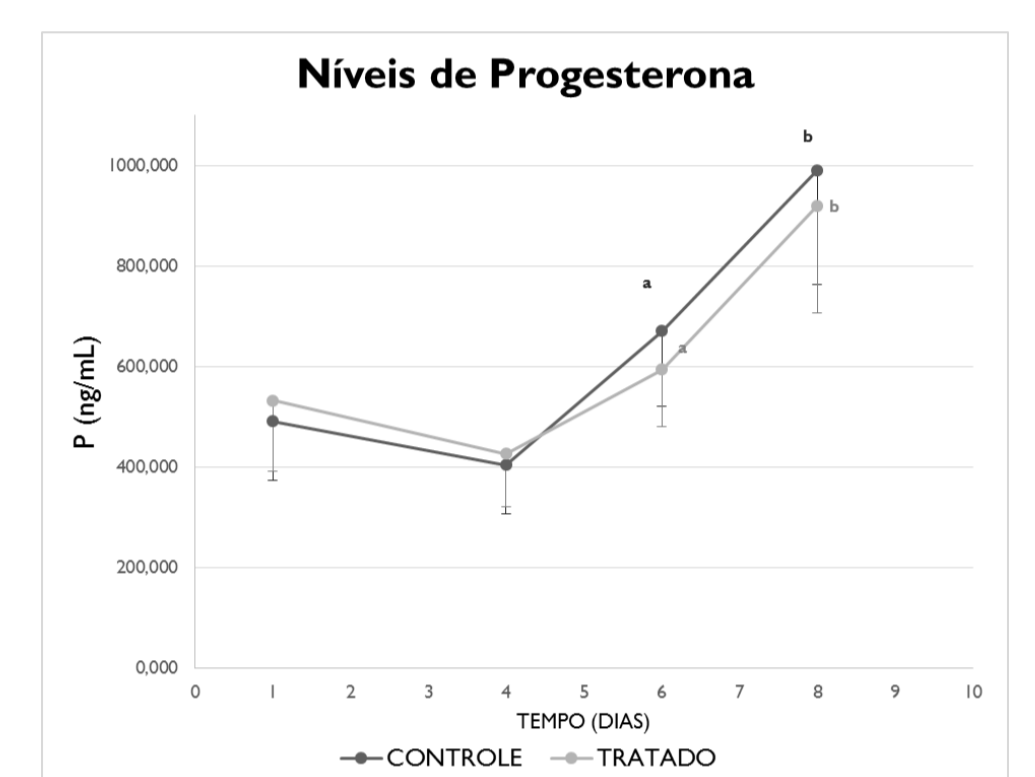


Figura 3: Níveis de progesterona, em ng/mL, do cultivo das CCs em estágio antral inicial nos grupos controle e tratado. Dados expressos em média ± erro padrão. a: diferença significativa entre os dias 4 e 6 ($p \leq 0,05$). b: diferença significativa do dia 8 em relação aos dias 1 e 4 ($p \leq 0,05$).

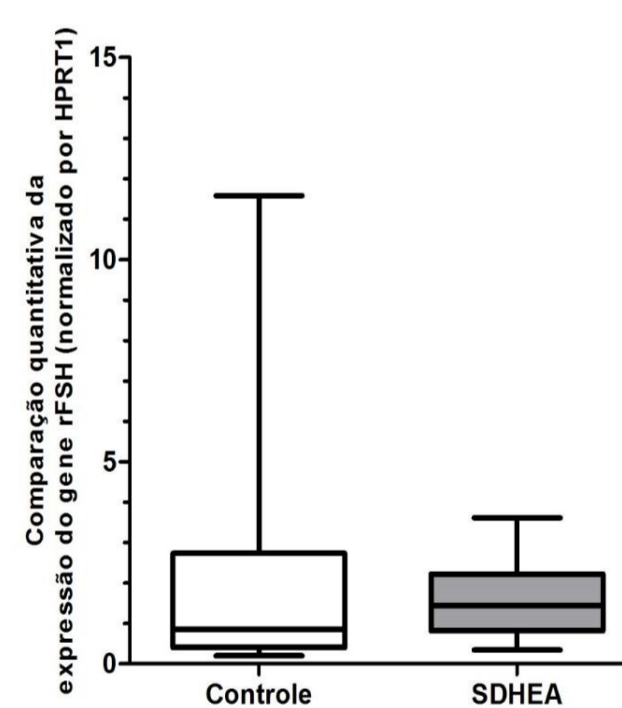


Figura 4: Valores de *fold change* do gene *rFSH* para os grupos controle e tratado. Dados expressos em mediana e intervalo interquartil (25-75%).

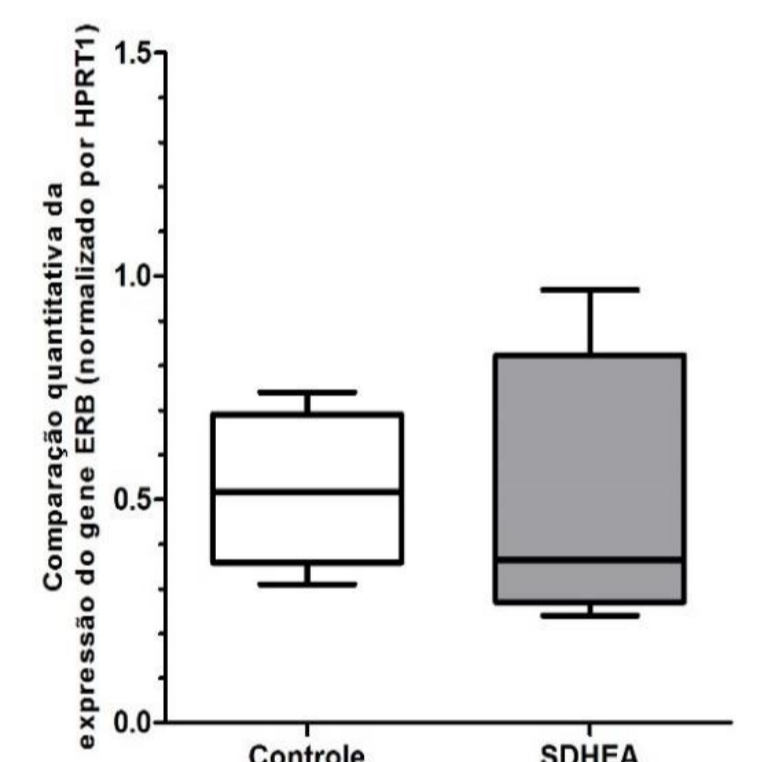


Figura 5: Valores de *fold change* do gene *Erβ* para os grupos controle e tratado. Dados expressos em mediana e intervalo interquartil (25-75%).

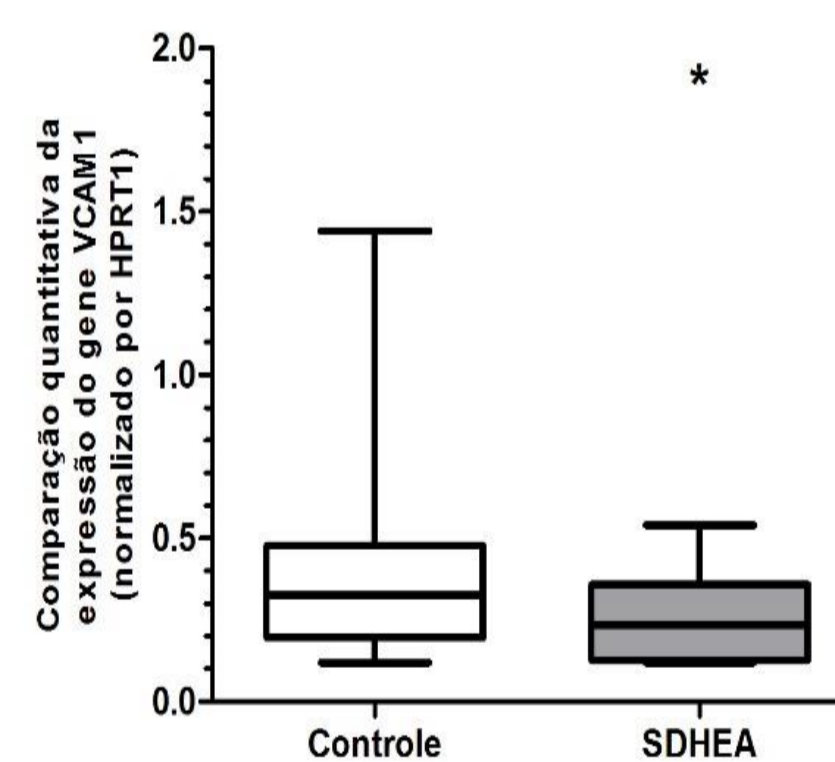


Figura 6: Valores de *fold change* do gene *VCAM1* para os grupos controle e tratado. Dados expressos em mediana e intervalo interquartil (25-75%). * significância estatística entre os grupos controle e tratado, $p \leq 0,05$.

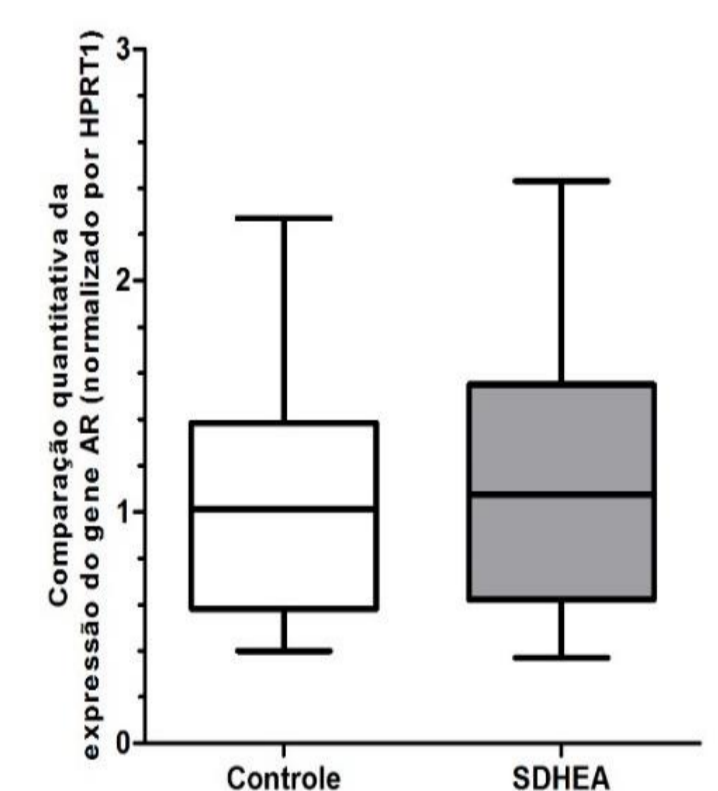


Figura 7: Valores de *fold change* do gene *AR* para os grupos controle e tratado. Dados expressos em mediana e intervalo interquartil (25-75%).

Conclusão

O tratamento com SDHEA em células do *cumulus* em estágio antral inicial aumentou os níveis de estradiol, não tendo ação nos demais parâmetros avaliados. Este pode ser um mecanismo pelo qual o SDHEA possa tornar o folículo mais estrogênico, melhorando a qualidade do ovócito e, podendo ter papel no recrutamento folicular. No entanto, o papel da DHEA no recrutamento folicular permanece desconhecido.