

ELS ESPERMATOZOIDES D'INDIVIDUS AMB ALTERACIONS SEMINALS PRESENTEN UN PERFIL D'EXPRESSIÓ DIFERENCIAL DE miRNAs



A.Salas-Huetos^a, J.Blanco^a, F.Vidal^a, A.Godo^a, M.Grossmann^{b,c}, MC.Pons^b, S.F-Fernández^d, N.Garrido^e i E.Anton^{a,*}

a. Genetics of Male Fertility Group, Unitat de Biologia Cel·lular, Facultat de Biociències, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), 08193 Bellaterra; b. Unidad de Reproducción Asistida, Centro Médico Teknon, 08022 Barcelona; c. Afiliació actual: BarcelonaIVF, 08017 Barcelona; d. Institut Marquès, 08034 Barcelona; e. Laboratorio de Andrología y Banco de Semen, Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI), 46015 Valencia.

Introducció

Els microRNAs (miRNAs) són molècules de 22-24nt [1] que poden regular l'expressió de més del 60% dels gens codificants [2]. Els miRNAs estan implicats en la regulació de l'expressió gènica de nombrosos processos biològics, entre els que s'inclouen l'espermatogènesi i l'embriogènesi [3,4].

Objectius

Comparar els perfils d'expressió de miRNAs en espermatozoides d'individus infèrtils que presentaven una única alteració seminal (motilitat reduïda, morfologia anòmala, baix recompte), i individus fèrtils [5].

Material i Mètodes

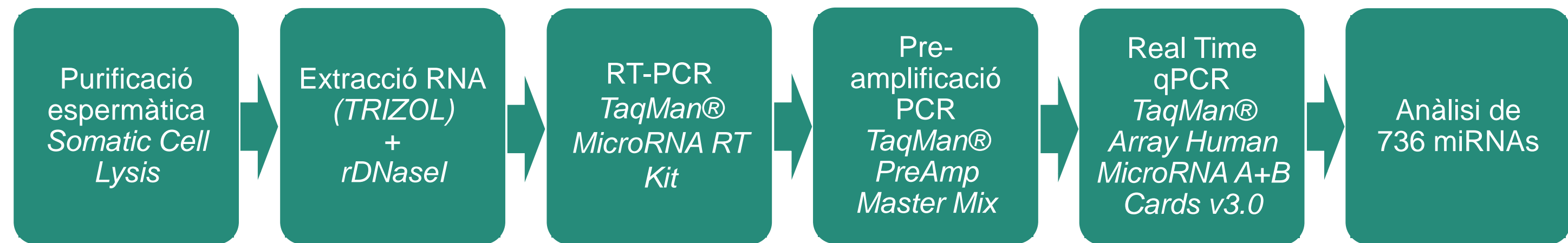
1 Material utilitzat:

Mostres de semen:
Astenozoospermia (A; n=10)
Teratozoospermia (T; n=10)
Oligozoospermia (O; n=10)

vs.

Mostres de semen:
Normozoospermia (N; n=10)
Salas-Huetos *et al.* 2014 [5]

2 Protocol d'anàlisi de miRNAs d'espermatozoides:

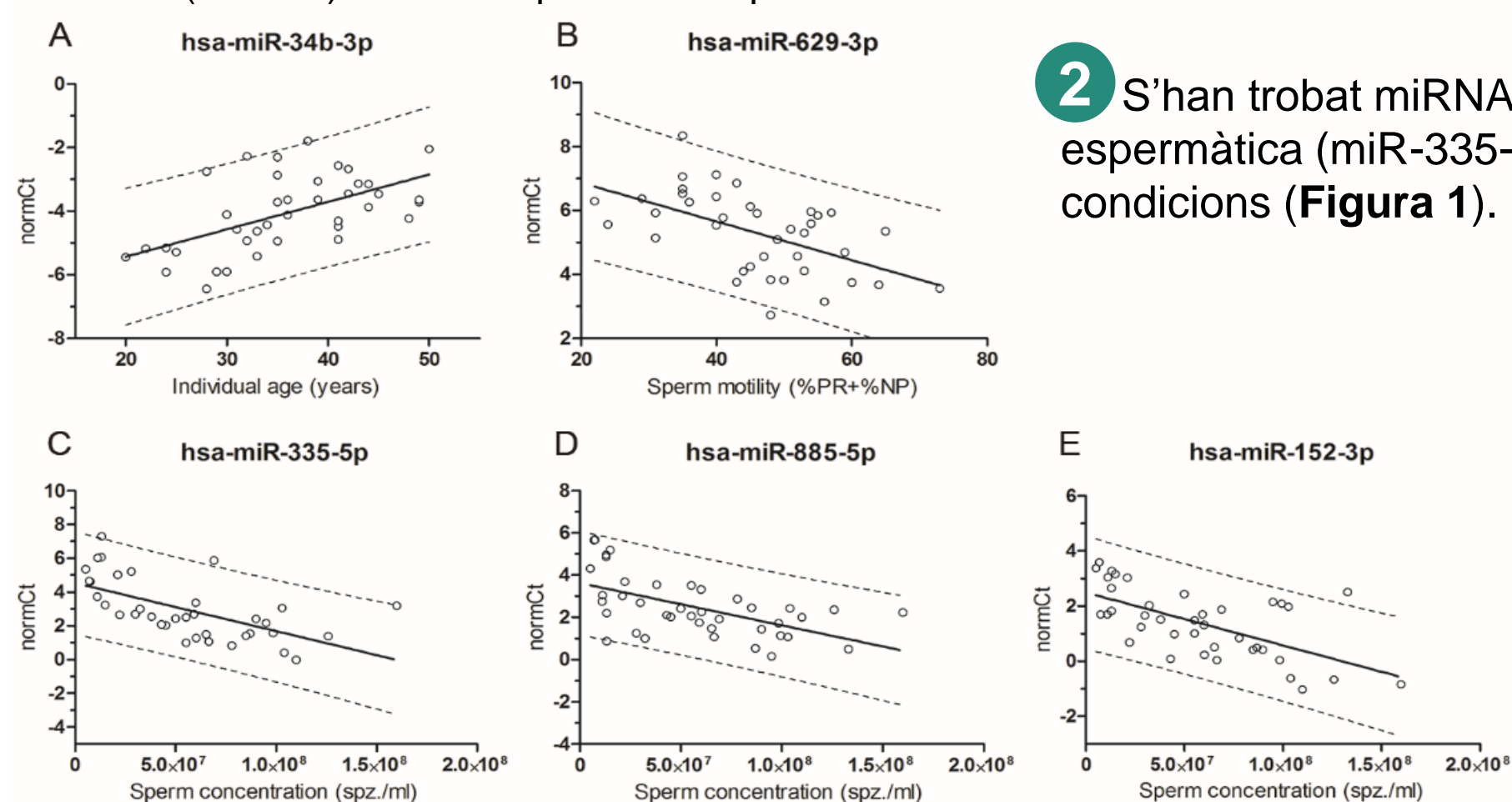


3 Anàlisi dels perfils d'expressió de miRNAs en tres poblacions infèrtils (A, T i O) i comparació amb població fèrtil (N): Anàlisi estadístiques utilitzant el programa R i el paquet HTqPCR. Es van considerar significatiu els p-valor<0.05, després d'aplicar la correcció per Bonferroni. Per determinar l'expressió diferencial del miRNAs (DE-miRNAs) entre poblacions, es van considerar estadísticament significatius els p-valor<0.01 després de corregir per FDR.

Resultats i Discussió

1 Existeixen miRNAs presents, absents i d'expressió variable en totes les poblacions. Molts dels miRNAs constantment expressats també ho són en controls (71%, 65% i 54% en la població A, T i O respectivament) (Taula 1).

Figura 1. Correlacions significatives entre els valors d'expressió normalitzats dels miRNAs (normCt) i diferents paràmetres poblacionals.



2 S'han trobat miRNAs correlacionats amb l'edat (miR-34b-3p), motilitat (miR-629-3p) i concentració espermàtica (miR-335-5p, miR-885-5p i miR-152-3p), que podrien ser considerats biomarcadors d'aquestes condicions (Figura 1).

4 Es van identificar 32 DE-miRNAs en la població amb astenozoospermia, 19 en la població amb teratozoospermia, i 18 en la població amb oligozoospermia.

5 Es va observar un enriquiment de miRNAs sobre-expressats localitzats en regions intròniques, que afecten gens importants per l'espermatogènesi (DALRD3, HOXC4, HOXC5, IFT80, IGF2, LPP, MEST, PTK2, i SMC4).

6 L'anàlisi d'ontologia gènica dels gens diana predits pels DE-miRNAs va revelar un enriquiment de funcions associades a les alteracions seminals presents en cada grup d'individus (Taula 2).

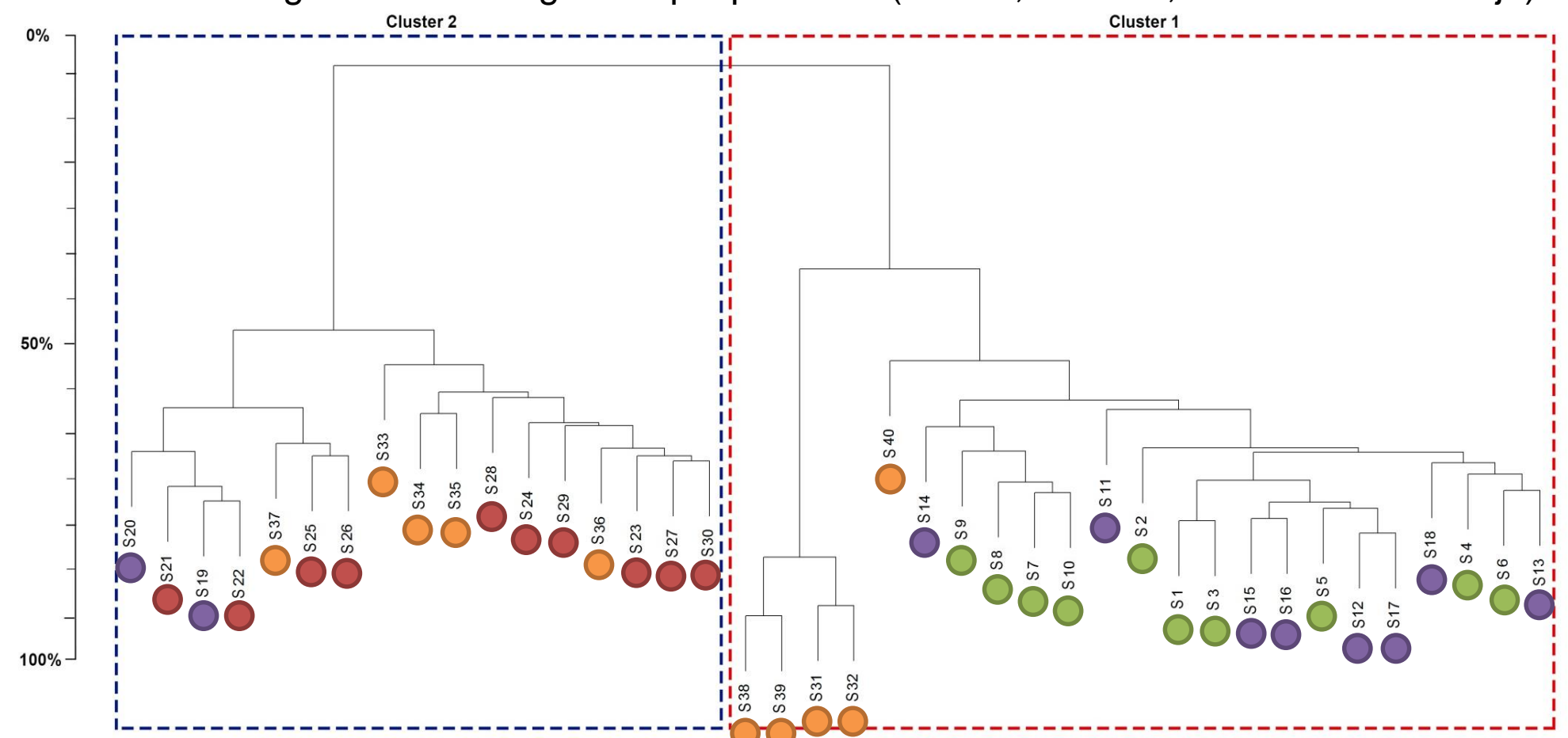
7 Entre els gens diana predits s'han identificat gens relacionats amb els processos d'espermatogènesi i meiosis (74 per A, 75 per T i 26 per O). Entre aquests, 11 (BCL2L2, CCND2, CHEK1, DAZ1, DMWD, ESPL1, FNDC3A, SPAG16, PSME4, RAD51C, i STAG2) estaven associats amb les tres alteracions seminals.

Taula 1. Expressió de miRNAs en cada població.

miRNAs	N	A	T	O
Constantment expressats	221	210 (71%)	179 (65%)	131 (54%)
Expressió variable	452	457	487	524
No expressats	63	69 (51%)	70 (30%)	81 (46%)

3 L'anàlisi de clústers va separar els individus en dos grups en els quals, només el seminograma, va mostrar una distribució diferencial (Figura 2).

Figura 2. Clúster jeràrquic basat en els valors d'expressió normalitzats dels miRNAs (normCt) pels 30 individus infèrtils i els 10 individus fèrtils. Cada individu es marca amb un color segons el seminograma que presenta (N:verd, A:morat, T:vermell i O:taronja).



Taula 2. Nombre de gens diana predits per el conjunt de DE-miRNAs per cada població i processos biològics enriquits relacionats amb les alteracions seminals de cada grup

A: 5,822 gens → Desenvolupament embrionari, modificació cromatina i motilitat cel·lular
T: 5,511 gens → Morfogènesi, diferenciació cel·lular i cicle cel·lular
O: 3,155 gens → Morfogènesi i modificació de la cromatina

Conclusions

Els espermatozoides d'individus amb alteracions seminals presenten un perfil de miRNAs diferencial. L'estudi confirma el paper essencial d'aquestes molècules en l'espermatogènesi i fertilitat humana.

Bibliografia: 1. Ambros (2001) *Cell*, 107(7):823-26; 2. Friedman *et al.* (2009) *Genome Res*, 19(1):92-105; 3. Yadav *et al.* (2013) *Mol Cell Endocrinol*, 382(1):498-508; 4. Schagdarsurengin *et al.* (2012) *Nat Rev Urol*, 9(11):609-19; 5. Salas-Huetos *et al.* (2014) *Fertil Steril*, 102(1):213-22.

Agraïments: Projectes 2011FE16 (Ayudas Merck Serono 2011; Investigación Clínica en Fertilidad, Spain), FIS/PS09-00330 (Ministerio de Ciencia e Innovación, Gobierno de España, Spain) i 2014/SGR00524 (Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca, Generalitat de Catalunya, Spain). A.S-H. és beneficiari d'una beca Personal Investigador en Formació 456-01-1/E2010 (Universitat Autònoma de Barcelona).