

RESUMO ALARGADO

Influência do estradiol nos transportadores membranares de bicarbonato dependentes de sódio da família SLC4 em células de Sertoli humanas



INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A infertilidade afeta milhões de casais em todo mundo, sendo que um terço desses casos resulta de problemas associados ao sexo masculino (1). Um grande número de casos de infertilidade masculina tem origem idiopática, em que os pacientes apresentam anormalidades inexplicáveis com alteração nos parâmetros reprodutivos. A desregulação dos níveis plasmáticos de estrogénios (E2) tem sido associada a casos de infertilidade masculina. Vários estudos apresentam evidências de que o E2 desempenha um papel essencial ao nível da espermatogénese e da função reprodutiva masculina (2). O E2 está também implicado na regulação da expressão de transportadores iónicos no trato reprodutor masculino (3), em que o controlo adequado do conteúdo iónico no meio luminal desempenha um papel crucial. O bicarbonato (HCO_3^-) é essencial não apenas para a homeostase iónica mas também para manter o pH ao longo do trato reprodutor masculino (4). Tem sido demonstrado a expressão de alguns transportadores de HCO_3^- no trato reprodutor masculino e a sua alteração em casos patológicos (5).

O presente trabalho teve como objetivo identificar três dos mais relevantes transportadores membranares de HCO_3^- dependentes de Na^+ em células de Sertoli humanas (hSCs) e avaliar o efeito do E2 na expressão e funcionalidade desses transportadores.

Raquel Bernardino¹

Ana Martins¹

Ana Costa²

Joaquina Silva³

Alberto Barros³

Rosália Sá¹

Mário Sousa^{1,3}

Marco Alves²

Pedro Oliveira^{1,2•}

¹Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS) e Unidade Multidisciplinar de Investigação Biomédica (UMIB)

²CICS – UBI - Centro de Investigação em Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Portugal

³Centro de Genética da Reprodução Prof. Alberto Barros, Porto

• pfobox@gmail.com



MÉTODOS

Foram usadas biopsias testiculares obtidas a partir de pacientes com espermatogénese conservada, após o seu consentimento informado por escrito. A partir das biopsias testiculares, isolaram-se as hSCs como descrito por Oliveira e colaboradores (2009) (6), que foram incubadas a 33°C numa atmosfera com 6% CO₂: 94% O₂. Após atingirem uma confluência de cerca de 90%-95%, as hSCs foram separadas em grupo controlo e grupo tratado com E2 (100 nM). Estas culturas de hSCs foram usadas para estudar a localização subcelular (lado apical ou basal) dos três transportadores de HCO₃⁻ (NDCBE, NBCe1 e NBCn1) por microscopia confocal. Avaliaram-se os efeitos do E2 na expressão e funcionalidade dos transportadores por imunodeteção, epifluorescência e estudos de voltagem controlada, após a exposição a E2 (100 nM) durante 24 horas. A análise estatística dos resultados foi feita por T-test ou ANOVA.



RESULTADOS

Identificou-se pela primeira vez os três transportadores estudados (NBCn1, NBCe1 e NDCBE) em hSCs. O NBCn1 e o NBCe1 foram localizados na porção basal da membrana destas células, enquanto o NDCBE foi detetado na região apical da membrana das hSC polarizadas.

Observou-se que a exposição a E2 provocou um aumento nos níveis proteicos de NBCn1, NBCe1 e NDCBE, assim como alterações no pH intracelular e no transporte transcelular. O E2 também provocou perturbações na corrente de curto-circuito induzida por ATP e alterações no pH intracelular.



CONCLUSÕES

Em suma, demonstrou-se a relação entre o aumento dos níveis de E2 e da expressão/função do NBCn1, NBCe1 e NDCBE nas hSC, fornecendo novas evidências sobre os mecanismos pelos quais o E2 pode regular a fisiologia destas células e consequentemente a espermatogénese, com influência direta sobre o potencial reprodutivo masculino.



PALAVRAS-CHAVE: células de Sertoli humanas, transportadores de bicarbonato dependentes de Na⁺, estradiol

agradecimentos • Este trabalho foi apoiado pela "Fundação para a Ciência e a Tecnologia" – FCT: RL Bernardino (SFRH/BD/103105/2014); MG Alves (SFRH/BPD/80451/2011); PF Oliveira (Programa Ciência 2008; PTDC/QUI-BIQ/121446/2010); CICS-UBI (Pest-C/SAU/UI0709/2014) e UMIB (Pest-OE/SAU/UI0215/2014).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lutz W (2006). Fertility rates and future population trends: will Europe's birth rate recover or continue to decline? *International Journal of Andrology*, 29: 25-33.
2. Alves MG, Rato L, Carvalho RA, Moreira PI, Socorro S, Oliveira PF (2013). Hormonal control of Sertoli cell metabolism regulates spermatogenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70: 777-793.
3. Zhou Q, Clarke L, Nie R, Carnes K, Lai LW, Lien YHH, Verkman A, Lubahn D, Fisher JS, Katzenellenbogen BS, Hess RA (2001). Estrogen action and male fertility: roles of the sodium/hydrogen exchanger-3 and fluid reabsorption in reproductive tract function. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98(24): 14132-7.
4. Bernardino RL, Jesus TT, Martins AD, Sousa M, Barros A, Cavaco JE, Socorro S, Alves MG, Oliveira PF (2013a). Molecular basis of bicarbonate membrane transport in the male reproductive tract. *Current Medicinal Chemistry*, 20: 4037-4049.
5. Bernardino RL, Martins AD, Socorro S, Alves MG, Oliveira PF (2013b). Effect of Prediabetes on Membrane Bicarbonate Transporters in Testis and Epididymis. *Journal Membrane Biology*, 246: 877-883.
6. Oliveira PF, Sousa M, Barros A, Moura T, da Costa AR (2009). Intracellular pH regulation in human Sertoli cells: role of membrane transporters. *Reproduction*, 137: 353-359.