

## **CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO**

Helena Camargo Porto

Rafael Iglesias Seccacci

Vinicius Genuino dos Santos

Rafaela Doretto do Valle Freitas

Renato Borges Tesser

Rodrigo Alessandro Riemma Vela

### **OS PRINCIPAIS MICRO-RNAS POSTULADOS NA AZOOSPERMIA NÃO OBSTRUTIVA**

AUTORES: Porto, H.C.<sup>1, 2</sup>; Seccacci, R.I. <sup>2</sup>; Santos, V.G. <sup>2</sup>; Freitas, R.D.V.<sup>2</sup>; Tesser, R.B. <sup>3</sup>; Vela, R.A.R.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> E-mail de contato: helenaporto@terra.com.br;

<sup>2</sup> Alunos do Centro Universitário São Camilo e ligantes da Liga Acadêmica de Reprodução Humana e Genética do Centro Universitário São Camilo;

<sup>3</sup> Docente do Centro Universitário São Camilo;

**São Paulo**

**2020**

# **OS PRINCIPAIS MICRO-RNAS POSTULADOS NA AZOOSPERMIA NÃO OBSTRUTIVA**

**DESCRITORES:** Infertilidade, MicroRNA, Azoospermia não obstrutiva, Azoospermia.

**São Paulo**

**2020**

## **RESUMO**

A azoospermia é responsável por, aproximadamente, 15% da infertilidade masculina e pode, ser classificada em azoospermia obstrutiva e não obstrutiva (ANO). No caso da ANO, a produção de espermatozoides é falha ou ausente, sem que exista um bloqueio no sistema condutor. Em estudos recentes, constatou-se que a ANO pode estar relacionada à regulação da espermatogênese por microRNAs (miRNAs) envolvidos nesse processo. Os miRNAs são pequenas moléculas de RNA reguladoras não-codificantes que contém cerca de 20 nucleotídeos e podem atuar como reguladores da expressão gênica podendo a sua desregulação estar relacionado com a ANO. Este trabalho de revisão da literatura contou com um levantamento retrospectivo de dados utilizando diversas bases de dados para buscas de artigos com as palavras-chaves: “Non obstructive azoospermia”, “Infertility” e “MicroRNA”. Através dessa pesquisa foram selecionados 7 artigos após a aplicação de diversos filtros. O objetivo deste estudo é realizar uma revisão da literatura acerca dos miRNAs mais relevantes ligados a azoospermia não obstrutiva. Após a análise destes artigos, concluiu-se que o miRNA mais descrito nos artigos relacionado a ANO é o miRNA-34, e em seguida o miRNA-122, e ambos estão subexpressos tanto em tecido testicular quanto no plasma seminal. Sendo assim, é necessário que mais estudos investigando estes miRNAs sejam realizados, visando usá-los como marcadores para ANO e até mesmo para compreendermos os mecanismos da fisiopatologia pelo qual estão envolvidos nesta doença.

**DESCRITORES:** Infertilidade, MicroRNA, Azoospermia não obstrutiva, Azoospermia

## **ABSTRACT**

Azoospermia is responsible for approximately 15% of male infertility and can be sorted in obstructive and non-obstructive azoospermia (ANO). In the case of ANO, sperm production is flawed or absent, without a blockage in the conducting system. In recent studies, it was found that an ANO may be related to the regulation of spermatogenesis by microRNAs (miRNAs) responsible for this process. MiRNAs are small non-coding regulatory RNA molecules that contain about 20 nucleotides and can act as regulators of gene expression, and their down regulation may be related to a ANO. This literature review used several databases to search for articles with the keywords: “Non-obstructive azoospermia”, “Infertility” and “MicroRNA”. Through this research, 7 articles were selected after the application of several filters. The aim of the study is to conduct a literature review about the most relevant miRNAs related to non-obstructive azoospermia. After analyzing these articles, it was concluded that the most described miRNA in the articles related to ANO is miRNA-34, followed by the miRNA-122, and both are down regulated in testicular tissue and in seminal plasma. Therefore, it is necessary that further investigations of these miRNAs be carried out, aiming to use them as markers for ANO and even to understand the mechanisms of pathophysiology involved in this disease.

**KEY-WORD:** Infertility, MicroRNA, Non obstructive azoospermia, Azoospermia.

## 1. Introdução

A infertilidade acomete cerca de 10 a 15% dos casais pelo mundo, sendo metade atribuída ao homem (1). Desses casos, a azoospermia é responsável por 15%, aproximadamente, da infertilidade masculina e pode ser definida como a ausência de espermatozoide no sêmen. Segundo a Organização Mundial da Saúde, em seu Manual do Laboratório da OMS para o exame e processamento de sêmen humano, o diagnóstico desta doença deve ser confirmado após a centrifugação da amostra de sêmen por 15 minutos em temperatura ambiente com exame microscópico de alta potência do pellet, e pelo menos duas amostras de sêmen devem ser analisadas com intervalos de duas semanas para o diagnóstico completo (2). Esta patologia pode ser classificada como obstrutiva (AO) e não obstrutiva (ANO).

A AO ocorre quando existe uma obstrução de alguma região dos sistemas de ductos que levam o espermatozoide dos túbulos seminíferos, onde é produzido, ao meio externo, sendo assim, pacientes com AO geralmente não apresentam falha na espermatogênese. Segundo os dados epidemiológicos, a AO representa cerca de 40% dos casos de pacientes azoospermicos. Já a ANO, que é alvo de estudo desta revisão, é decorrente de alguma anormalidade no processo de espermatogênese ou do próprio mecanismo que a regula, e representa 60% dos casos de pacientes com azoospermia (3-5).

As causas de ANO podem ser divididas em falha testicular primária, onde se tem elevação dos hormônios LH e FSH; falha testicular secundária, que é caracterizada por hipogonadismo hipogonodotrófico congênitos, tendo assim, baixos níveis de LH e FSH; ou ainda pode ser classificada em insuficiência testicular ambígua, onde a origem é idiopática, na qual se tem os níveis hormonais dentro do padrão e sem nenhuma alteração anatômica dos testículos (3).

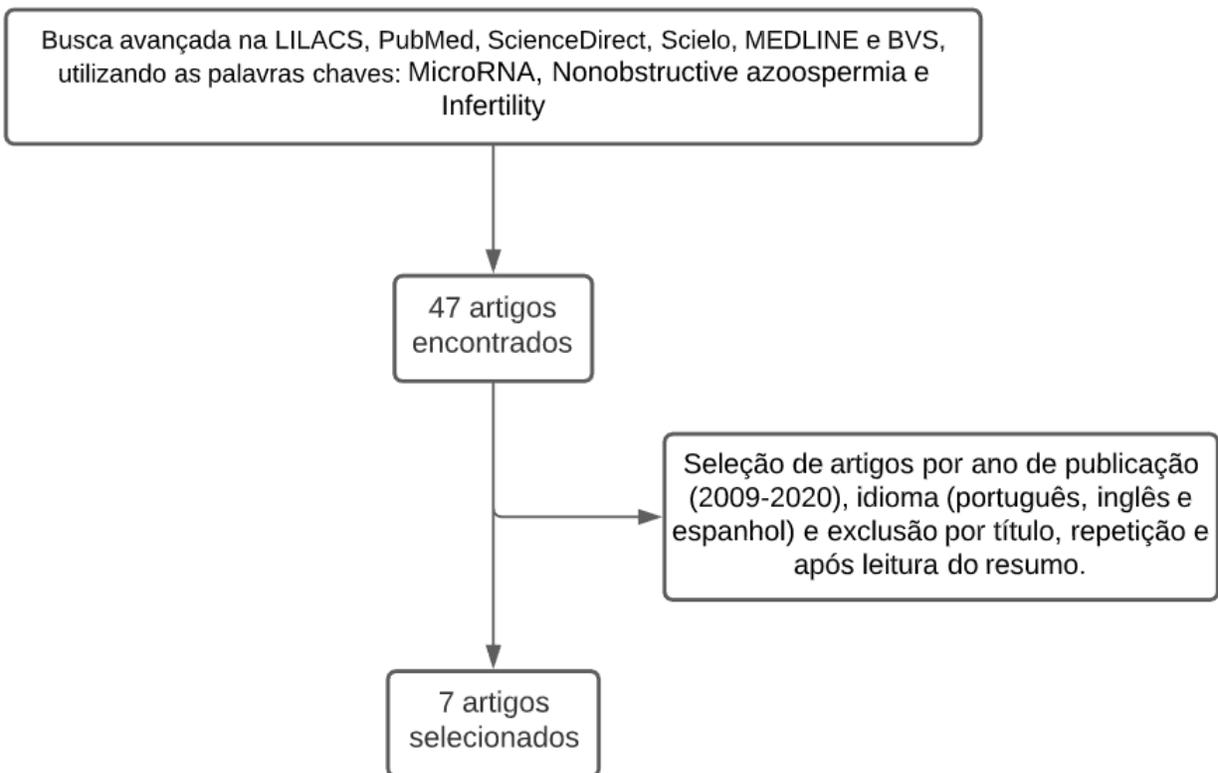
Já é conhecido que a regulação desequilibrada de microRNAs (miRNAs) pode interferir em processos biológicos, levando a um estado patológico (8). Os miRNAs são moléculas de RNA reguladoras não-codificantes que contém cerca de 20 nucleotídeos e atuam como reguladores da expressão gênica, a qual pode se suceder de duas maneiras: a primeira delas se dá através da ligação à região 3' não codificante do RNA mensageiro (RNAm), impedindo a tradução deste; a segunda, por sua vez, ocorre pela degradação do RNAm (6, 7).

Apesar de grandes estudos envolvendo a ANO, sua etiologia ainda permanece muito obscura, e, em pesquisas recentes, que serviram de base para a escrita dessa revisão, constatou-se que a ANO pode estar relacionada à regulação da espermatogênese por miRNAs envolvidos nesse processo. Esta relação entre os miRNAs e a ANO ainda é pouco conhecida, e, portanto, há necessidade de mais estudos relacionando o desenvolvimento dessa doença com os seus

mecanismos moleculares. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão da literatura acerca dos principais miRNAs envolvidos com a ANO.

## 2. Metodologia

Este trabalho contou com um levantamento retrospectivo de dados utilizando as bases de dados: LILACS, PubMed, ScienceDirect, Scielo, MEDLINE e BVS para buscas de artigos com as palavras-chaves “Nonobstructive azoospermia”, “Infertility” e “MicroRNA” e o conectivo “AND” entre elas. Através dessa pesquisa foram encontrados 47 artigos, dos quais, após diversos filtros como idioma (português, inglês e espanhol), data de publicação (2009 a 2020) e análise dos resumos, 7 foram selecionados.



### 3. Resultados

O ensaio clínico realizado por ZHANG *et. al* (1), chegou à conclusão que, ao avaliar a biopsia testicular de um grupo de paciente saudáveis com um grupo de pacientes com ANO, há uma alteração de expressão em 129 miRNAs, sendo que os principais superexpressos na ANO são os 370, 10, 539 e 22, enquanto os subexpressos são os 31, 34, 516 e 122. O estudo de GUNES *et. al* (9) analisou um estudo que examinava biopsia testicular e concluiu que em pacientes com ANO os valores dos miRNAs 449, 34, 517 e 129 estão em menor concentração, enquanto os miRNAs 141, 429 e 7 estão altos, quando comparado com um grupo saudável. Já o estudo de SONG *et. al* (4), investigou tecido testicular e mostrou que pacientes com ANO possuem uma subexpressão do miRNA 188.

A pesquisa de FINOCCHI *et. al* (10), analisou plasma seminal concluiu que houve redução significativa dos miRNAs 509, 122 e 34 em pacientes com ANO em contraste com o grupo de controle composto por pacientes saudáveis. Este último artigo revelou que não houve superexpressão relevante de microRNAs em pacientes com ANO. O artigo de LIAN *et. al* (11), verificou tecido testicular e revelou que pacientes com ANO tem uma super expressão dos microRNAs 302 e 491 e uma sub expressão dos microRNAs 520 e 383.

De acordo com o estudo feito por WU *et. al* (12), a o comparar plasma seminal de um grupo de pacientes com ANO com um grupo fértil, foi possível identificar superexpressão dos microRNAs 19 e 7. Por fim, o estudo de JI *et. al* (13) concluiu que os microRNAs 506 e 507 estão superexpressos em pacientes com ANO e o microRNA 510 está subexpresso.

#### 4. Discussão

De acordo com os resultados foi possível observar que existem diversos microRNAs envolvidos com ANO, e que, cada paciente possui uma expressão diferente destes. Entretanto, podemos destacar a superexpressão dos miRNAs 34 e 122. Segundo a literatura, esses miRNAs estão amplamente envolvidos em processos biológicos, como apoptose, ciclo celular e diferenciação de células. O trabalho de ZHANG *et al.* (1) e o trabalho de FINOCCHI *et al.* (10) demonstraram que o miRNA 34 está envolvido com o processo final de meiose na espermatogênese, principalmente na transição de espermátide redonda para alongada, além disso o nível do miRNA 34 em espermatozoides está relacionada com a qualidade embrionária no dia 3 de desenvolvimento (14). Este miRNA também tem efeito na carcinogênese, reprimindo o ciclo celular das células cancerígenas através do estímulo da apoptose mediada pelo gene p53 (9).

O miRNA 122 está envolvido com a regulação da expressão de genes de protaminas e proteínas nucleares de transcrição, moléculas que estão envolvidas com a condensação do DNA em células espermáticas, assim alterando o desenvolvimento e apoptose destas (9).

## **5. Conclusão**

Conclui-se que o microRNA mais descrito nos artigos relacionado à ANO é o 34, e em seguida o 122. Assim, estes microRNAs são possíveis candidatos responsáveis pela ANO porém ainda existem diversas incógnitas sobre como que essas interações ocorrem. Sendo assim, é necessário que mais estudos investigando estes microRNAs sejam realizados, visando usá-los como marcadores para ANO e até mesmo para compreendermos os mecanismos de fisiopatologia pelo qual estão envolvidos nesta doença. A partir disso, também pode ser possível o estudo de potenciais tratamentos para ANO utilizando estes mesmos miRNAs citados.

## 6. Referências

1. Zhang HT, Zhang Z, Hong K, Tang WH, Liu DF, Mao JM, et al. Altered microRNA profiles of testicular biopsies from patients with nonobstructive azoospermia. *Asian J Androl*. 2020;22(1):100-5.
2. World Health Organization DoRHaR. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 2010. p. 287.
3. Wosnitzer M, Goldstein M, Hardy MP. Review of Azoospermia. *Spermatogenesis*. 2014;4:e28218.
4. Song WY, Meng H, Wang XG, Jin HX, Yao GD, Shi SL, et al. Reduced microRNA-188-3p expression contributes to apoptosis of spermatogenic cells in patients with azoospermia. *Cell Prolif*. 2017;50(1).
5. Cocuzza M, Alvarenga C, Pagani R. The epidemiology and etiology of azoospermia. *Clinics (Sao Paulo)*. 2013;68 Suppl 1:15-26.
6. Cai Y, Yu X, Hu S, Yu J. A brief review on the mechanisms of miRNA regulation. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2009;7(4):147-54.
7. Zaha A, Ferreira HB, Passaglia LMP. *Biologia Molecular Básica*. 5° ed. ed. Porto Alegre - Brasil: Artmed Editora; 2014. 403p. p.
8. Mishra PK, Tyagi N, Kumar M, Tyagi SC. MicroRNAs as a therapeutic target for cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med*. 2009;13(4):778-89.
9. Gunes S, Arslan MA, Hekim GNT, Asci R. The role of epigenetics in idiopathic male infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(5):553-69.
10. Finocchi F, Pelloni M, Balercia G, Pallotti F, Radicioni AF, Lenzi A, et al. Seminal plasma miRNAs in Klinefelter syndrome and in obstructive and non-obstructive azoospermia. *Mol Biol Rep*. 2020;47(6):4373-82.
11. Lian J, Zhang X, Tian H, Liang N, Wang Y, Liang C, et al. Altered microRNA expression in patients with non-obstructive azoospermia. *Reprod Biol Endocrinol*. 2009;7:13.
12. Wu W, Hu Z, Qin Y, Dong J, Dai J, Lu C, et al. Seminal plasma microRNAs: potential biomarkers for spermatogenesis status. *Molecular Human Reproduction* October 2012. p. 489–97.
13. Ji J, Qin Y, Zhou R, Zang R, Huang Z, Zhang Y, et al. X chromosome-wide identification of SNVs in microRNA genes and non-obstructive azoospermia risk in Han Chinese population. *Oncotarget*. 2016;7(31):49122-9.
14. Cui L, Fang L, Shi B, Qiu S, Ye Y. Spermatozoa micro ribonucleic acid-34c level is correlated with intracytoplasmic sperm injection outcomes. *Fertil Steril*. 2015;104(2):312-7.e1.