



PIBIC/CNPq

# RESVERATROL E ÁCIDO ASCÓRBICO DIMINUEM O DANO AO DNA INDUZIDO PELA CRIOPRESERVAÇÃO EM SÊMEN HUMANO

<sup>a</sup> Cátia dos Santos Branco; <sup>a</sup> Márcia Garcez; <sup>a</sup> Fábio Pasqualotto; <sup>a</sup> Mirian Salvador.

<sup>a</sup>Instituto de Biotecnologia  
(catiasb2004@yahoo.com.br)

## INTRODUÇÃO

A criopreservação de espermatozoides humanos representa uma valiosa opção terapêutica no tratamento da infertilidade, no entanto, este procedimento pode causar lesões ao DNA. Assim sendo, o objetivo deste estudo foi avaliar o dano ao DNA em espermatozoides de homens férteis e inférteis, antes e após a criopreservação, com e sem a adição de antioxidantes.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O grupo de estudo foi formado por 10 pacientes comprovadamente inférteis e o grupo controle foi constituído por 10 indivíduos com fertilidade comprovada. As amostras de sêmen foram pré tratadas com resveratrol (0,1; 1,0 e 10,0 mM) ou com ácido ascórbico (10 mM) e criopreservadas em nitrogênio líquido a  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após 72 horas, as amostras de sêmen foram removidas do nitrogênio líquido e o dano ao DNA foi avaliado através do Ensaio Cometa (Single Cell Gel Electrophoresis), de acordo com Singh *et al.*, 1989. Foram selecionadas aleatoriamente 100 células por indivíduo. Dois parâmetros foram avaliados: (i) índice de dano (ID), no qual cada célula foi designada para uma das cinco classes (sem dano = 0, até máximo dano = 4) e (ii) frequência de dano (FD), calculada como o percentual de células com dano (Silva *et al.*, 2008; Rombaldi *et al.*, 2009). A análise estatística foi realizada utilizando o software SPSS versão 13.0 for Windows®.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras pré-congelamento de homens férteis e inférteis apresentaram menores índices de genotoxicidade em relação às amostras pós-congelamento. A adição de resveratrol, nas 3 concentrações utilizadas, diminuiu significativamente os danos ao DNA induzidos pela criopreservação, tanto em homens férteis quanto inférteis. Por outro lado, o ácido ascórbico foi capaz de prevenir os danos ao DNA somente em homens inférteis (Tabela 1). Tanto os indivíduos férteis (Figura 2a) como inférteis (Figura 2b) mostraram um aumento significativo de danos ao DNA (principalmente, classes 2 e 3) após a criopreservação sem a adição de antioxidantes.

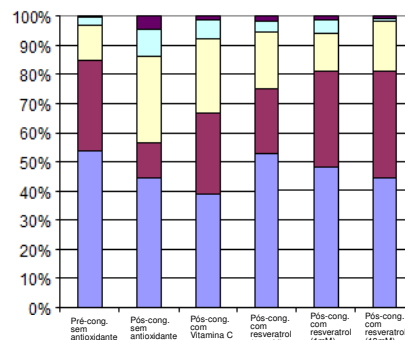
**Tabela 1:** Valores médios do índice de danos em espermatozoides de homens férteis (n=10) e inférteis (n=10) analisados antes e após a criopreservação com e sem a presença de vitamina C ou resveratrol.

Tratamento	Índice de danos	
	Férteis	Inférteis
Pré-congelamento sem antioxidante	64,90 ± 13,67 <sup>a</sup>	115,10 ± 20,50 <sup>a</sup>
Pós-congelamento sem antioxidante	117,10 ± 21,15 <sup>b</sup>	219,40 ± 33,92 <sup>b</sup>
Pós-congelamento com vitamina C (10mM)	103,40 ± 16,07 <sup>b</sup>	170,20 ± 28,05 <sup>a</sup>
Pós-congelamento com resveratrol (0,1 mM)	79,60 ± 12,78 <sup>a</sup>	147,00 ± 23,79 <sup>a</sup>
Pós-congelamento com resveratrol (1,0 mM)	78,20 ± 13,28 <sup>a</sup>	163,70 ± 39,75 <sup>a</sup>
Pós-congelamento com resveratrol (10,0 mM)	77,50 ± 7,76 <sup>a</sup>	121,40 ± 39,05 <sup>a</sup>

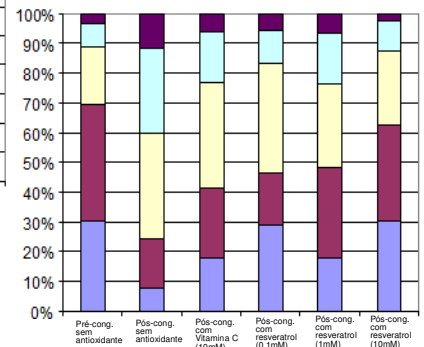
**Legenda:** Valores seguidos por letras diferentes diferem significativamente pelo teste T pareado ( $p \leq 0,01$ ) dentro de cada grupo. Valores seguidos por \* diferem significativamente do grupo fértil pelo teste T para amostras independentes ( $p \leq 0,05$ ).

**Figura 2ab:** Frequência de danos em espermatozoides de homens férteis (n=10) e inférteis (n=10) analisados antes e após a criopreservação com e sem a presença de vitamina C ou resveratrol.

### a) Férteis



### a) Inférteis



### Legenda:

■ Dano 4 ■ Dano 3 ■ Dano 2 ■ Dano 1 ■ Dano 0

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora outros estudos sejam necessários, os resultados encontrados sugerem que a adição de resveratrol, previamente à criopreservação, pode diminuir os danos ao DNA em espermatozoides humanos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Rombaldi, F.; Cassini, C.; Salvador, M.; Saffi, J.; Erdmann, B. (2009). Occupational risk assessment of genotoxicity and oxidative stress in workers handling anti-neoplastic drugs during a working week. *Mutagenesis*, 24(2):143-148.  
Silva, J.; Moraes, C.R.; Heuser, V.D.; Andrade, V.M.; Silva, F.R.; Kvitko, K.; Emmel, V.; Rohr, P.; Bordin, D.L.; Andrezza, A.C.; Salvador, M.; Henriques, J.A.P.; Erdmann, B. (2008). Evaluation of genetic damage in a Brazilian population occupationally exposed to pesticides and its correlation with polymorphisms in metabolizing genes. *Mutagenesis*, 23 (5): 415-422.  
Singh, N.P.; Danner, D.B.; Tice, R.R.; McCoy, M.T.; Collins, G.D.; Schneider, E.L. (1989). Abundant Alkali-Sensitive Sites in DNA of Human and Mouse Sperm. *Experimental Cell Research*, 184: 461-470.

## AGRADECIMENTOS



CAPES

Centro de Ciências Agrárias e Biológicas  
Instituto de Biotecnologia  
Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes