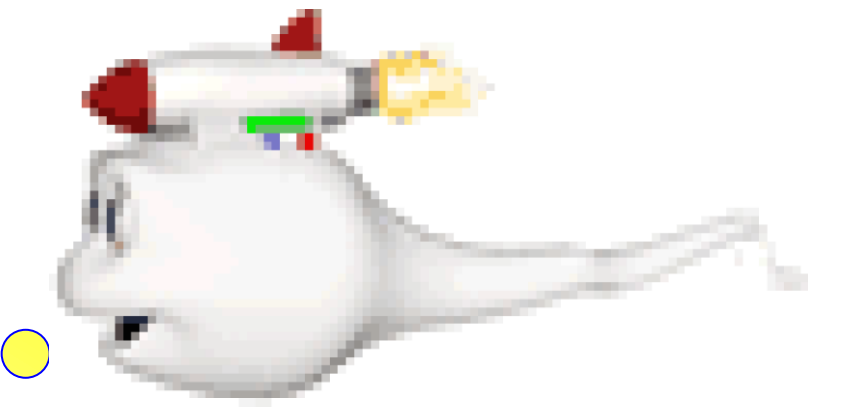




# METABOLISMO ENERGETICO MITOCONDRIALE E INFERTILITA' MASCHILE



**Prof. VINCENZO ZARA**  
**Dott.ssa ALESSANDRA FERRAMOSCA**  
Laboratorio di Biochimica  
Di.S.Te.B.A.  
Università del Salento, Lecce



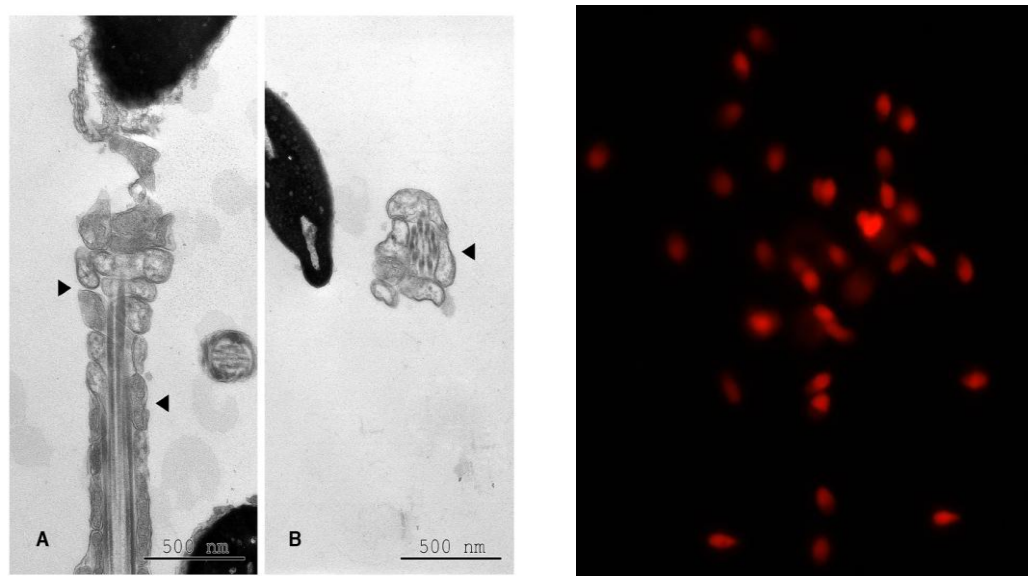
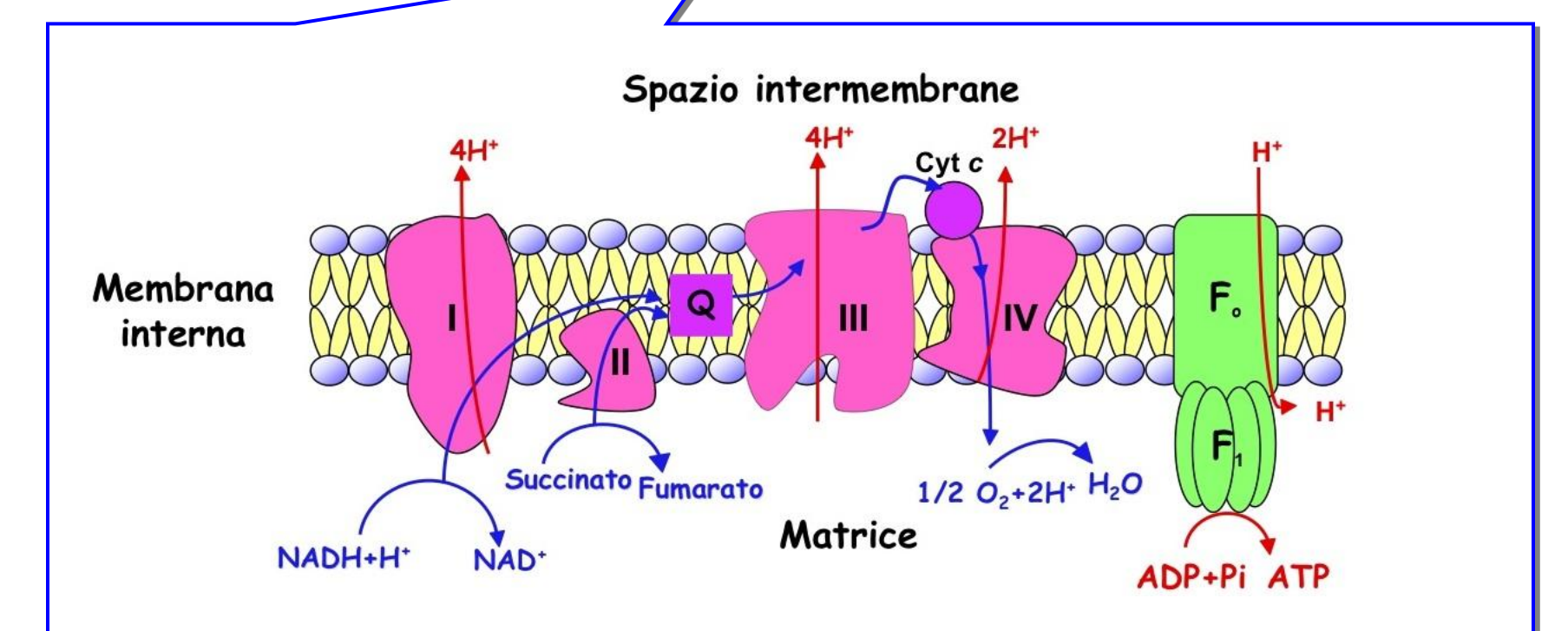
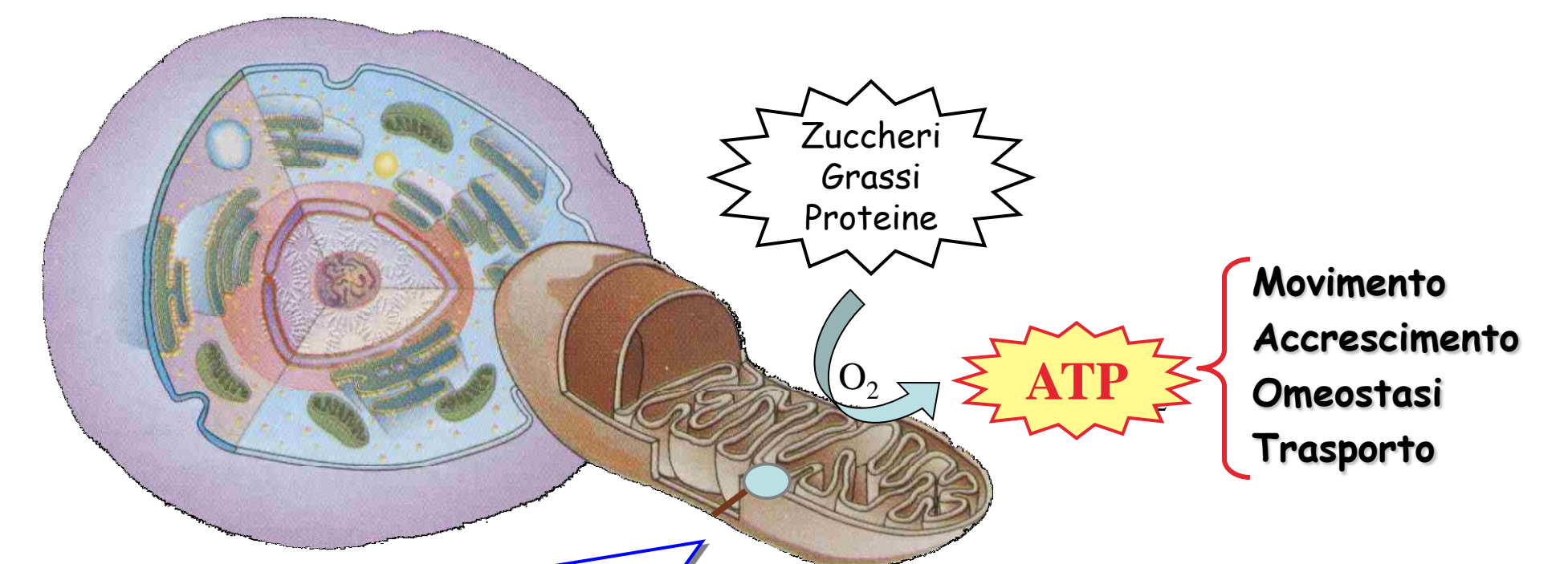
**Prof. LAMBERTO COPPOLA**  
Centro Medico Tecnomed  
Nardò, (LE)

I mitocondri sono organuli citoplasmatici presenti nelle cellule eucariotiche e deputati alla produzione di energia. E' in questi organuli, infatti, che ha luogo il processo della fosforilazione ossidativa, mediante il quale viene sintetizzato ATP in seguito al trasferimento degli elettroni attraverso la catena respiratoria e alla riduzione dell'ossigeno molecolare ad acqua. La misura del consumo di ossigeno nei mitocondri delle cellule eucariotiche è, quindi, un parametro che consente di valutare la funzionalità mitocondriale.

I mitocondri presenti negli spermatozoi sono differenti da quelli presenti nelle cellule somatiche da un punto di vista sia morfologico che biochimico. Pertanto, il ruolo che questi organuli rivestono nel determinare la qualità del liquido seminale e nella funzionalità degli spermatozoi è oggetto di studio da parte di numerosi gruppi di ricerca.

Al fine di ottenere informazioni sulla funzionalità mitocondriale, abbiamo effettuato delle determinazioni del consumo di ossigeno in spermatozoi, utilizzando uno strumento, l'ossigrafo, che consente di misurare, in modo semplice, preciso e riproducibile, rapidi cambiamenti nella velocità della respirazione cellulare.

Gli spermatozoi, sono stati sottoposti a *swelling* ipotonico mediante incubazione in un opportuno tampone e successivi lavaggi con un tampone isototonico.



In queste condizioni, i mitocondri si trovano nelle migliori condizioni per la determinazione della loro funzionalità: il trattamento ipotonico degli spermatozoi, infatti, consente la rottura della membrana plasmatica dei gameti ed i lavaggi sequenziali consentono di allontanare i substrati citoplasmatici endogeni coinvolti nel metabolismo energetico.

Sono state effettuate, quindi, delle determinazioni del consumo di ossigeno in campioni di cellule permeabilizzate in condizioni basali e dopo aggiunta di substrati metabolici, come piruvato e malato. La successiva aggiunta di ADP ha evidenziato un aumento della velocità del consumo di ossigeno.

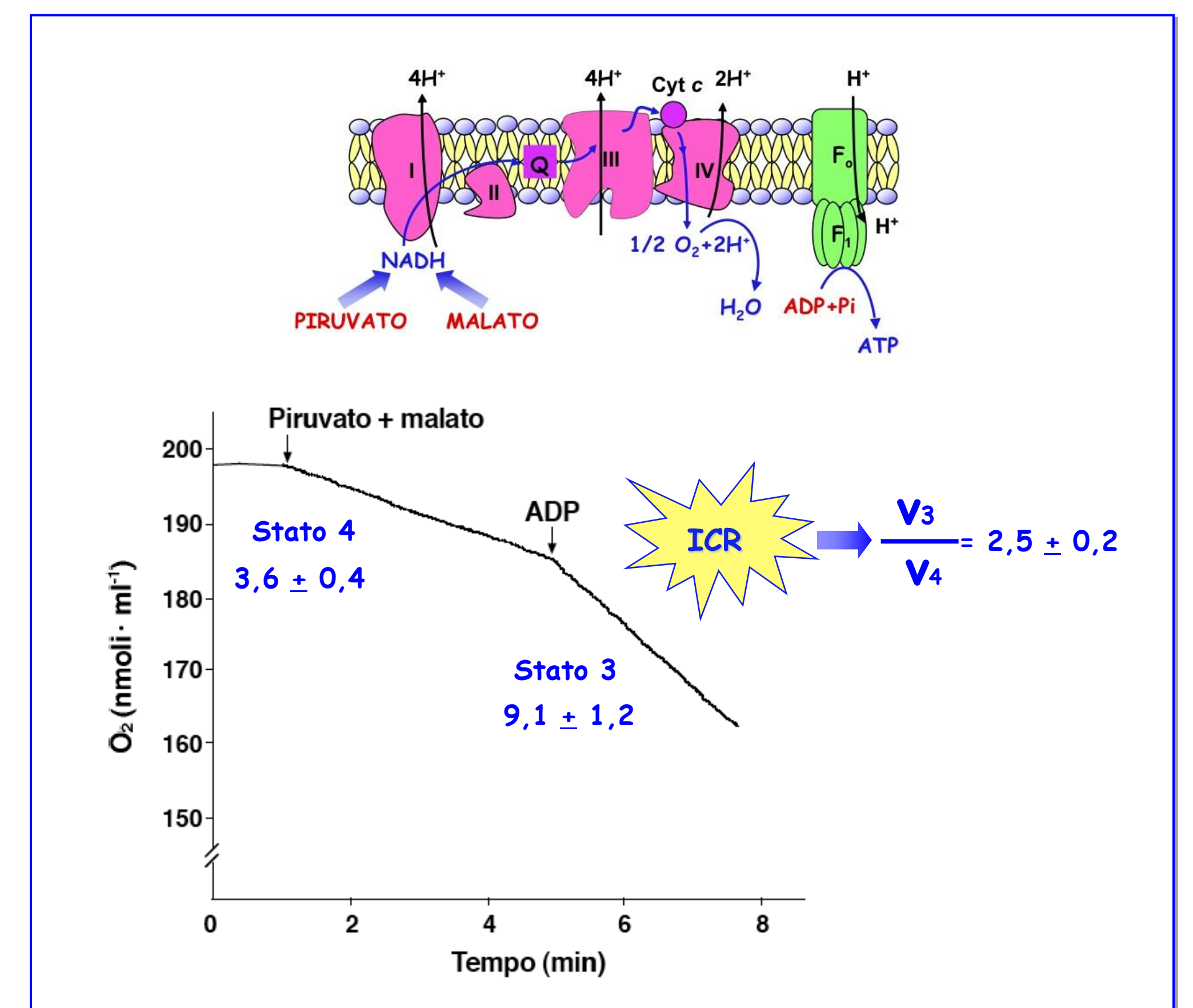
E' stata quindi determinata la funzionalità respiratoria mitocondriale calcolando l'indice di controllo respiratorio (ICR), parametro in grado di dare indicazioni sull'integrità dei mitocondri e sulla loro capacità di sintetizzare ATP. L'ICR è stato calcolato come rapporto tra la velocità del consumo di ossigeno registrata in seguito all'aggiunta di ADP e la velocità del consumo di ossigeno registrata in presenza di malato e piruvato.

A questo punto abbiamo iniziato uno studio in cui abbiamo sottoposto al test diversi campioni di soggetti normozoospermici. Abbiamo effettuato il saggio utilizzando 20 milioni di spermatozoi permeabilizzati ed abbiamo registrato i valori di  $V_3$  (velocità del consumo di ossigeno in presenza di substrati + ADP),  $V_4$  (velocità del consumo di ossigeno in presenza dei soli substrati) e l'ICR, quale indice della funzionalità mitocondriale. In particolare, i valori di ICR ottenuti ( $2,5 \pm 0,2$ ) hanno evidenziato un buon grado di accoppiamento tra respirazione e fosforilazione nei mitocondri degli spermatozoi di soggetti normozoospermici. Abbiamo quindi voluto verificare se effettivamente esisteva una differenza tra i valori di  $V_3$ ,  $V_4$  e ICR riscontrati in campioni di soggetti normozoospermici, e quindi con spermatozoi dotati di buona motilità, e quelli ottenuti in campioni di soggetti astenozoospermici, in cui gli spermatozoi presentavano una ridotta motilità.



|   | Campioni normozoospermici | Campioni astenozoospermici |
|---|---------------------------|----------------------------|
| Motilità (%)                                      | $58,0 \pm 6,1$            | $36,3 \pm 1,7$             |
| $V_3$ (nmoli $O_2 \cdot ml^{-1} \cdot min^{-1}$ ) | $9,1 \pm 1,2$             | $4,0 \pm 0,4$              |
| $V_4$ (nmoli $O_2 \cdot ml^{-1} \cdot min^{-1}$ ) | $3,8 \pm 0,5$             | $3,6 \pm 0,4$              |
| ICR   | $2,5 \pm 0,2$             | $1,1 \pm 0,2$              |

Come è evidente, nei campioni di spermatozoi con ridotta motilità è stata riscontrata una significativa diminuzione della velocità nello stato attivo della respirazione ( $V_3$ ). Poichè i valori di  $V_4$  non hanno mostrato variazioni significative, anche i valori di ICR sono risultati significativamente più bassi.



**Indagine di routine da eseguire nei centri di PMA e nei laboratori di fisiopatologia seminale per valutare la capacità degli spermatozoi a fecondare la cellula uovo**

