

Terapia Fotodinâmica com doses superiores a 1 J/cm² altera a cinética dos espermatozoides de galos domésticos

Vitor H. Macedo¹, Gabriel A. Novaes¹, Marcel H. Blank¹, Ricardo J. G. Pereira¹

Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

ricpereira@usp.br

Objetivos

Investigar os efeitos da Terapia Fotodinâmica (PDT) utilizando uma concentração de fotossensibilizador (10µM de azul de metileno; AM) e irradiação ($\lambda = 660$ nm; Luz) fixa sobre a cinética espermática de galos domésticos.

Métodos e Procedimentos

Amostras seminais de 16 galos foram coletadas por massagem manual e, posteriormente, distribuídas em pools (n=8). A amostra diluída em meio Lake (1x10⁹ spz/ml) foi dividida em 4 grupos: Controle (sem AM e sem luz), AM (com AM e sem luz), Luz (sem AM e com luz) e PDT (com AM e com luz). Os grupos Luz e PDT foram irradiados através de um LED box emitindo uma irradiância de 44,3 mw/cm², por 30, 60, 120 e 180 s e, ao término de cada tempo foi retirada 1 alíquota de cada grupo para a análise computadorizada do movimento espermático (CASA). A análise estatística foi realizada através do SAS System for Windows utilizando o PROC MIXED (p<0,05) para verificar a interação entre grupo *versus* tempo e em seguida aplicou-se o teste t (LSD) para a comparação entre as médias dos grupos.

Resultados

Interações entre grupo *versus* tempo não foram observadas em nenhuma variável estudada. Visto isso, optou-se por avaliar o efeito do grupo independente do tempo, como apresentado na figura e tabela 1.

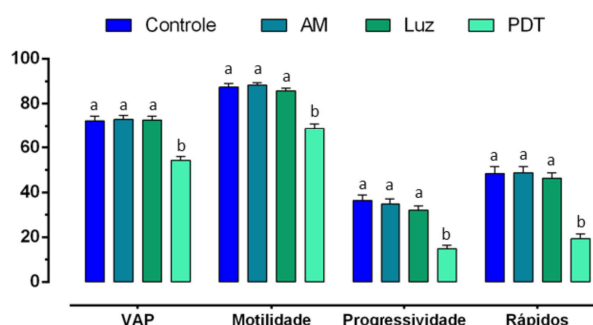


Figura 1: Histograma das médias das principais variáveis de cinética espermática dos grupos. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos (p<0,05).

Variável	Controle	AM	Luz	PDT
VSL	58.7 ± 1.9 ^a	57.84 ± 1.55 ^a	57.4 ± 1.47 ^a	44.1 ± 1.3 ^b
VCL	112.8 ± 2.38 ^a	114.9 ± 1.84 ^a	114.4 ± 2.48 ^a	90.3 ± 2.45 ^b
ALH	4.9 ± 0.06 ^a	4.9 ± 0.06 ^a	4.9 ± 0.07 ^a	4.6 ± 0.09 ^b
BCF	33 ± 0.29 ^a	33 ± 0.34 ^a	33.1 ± 0.32 ^a	31.2 ± 0.43 ^b
STR	80.6 ± 0.84 ^{ab}	78.7 ± 0.88 ^b	78.7 ± 1.28 ^{ab}	81.4 ± 0.89 ^a
LIN	52.1 ± 1.03 ^a	50.4 ± 0.91 ^a	50.6 ± 1.11 ^a	50.2 ± 1.12 ^a
MEDIUM	15.4 ± 0.96 ^{ab}	13.5 ± 0.93 ^b	13.1 ± 1.14 ^b	17.6 ± 0.93 ^a
SLOW	23.7 ± 1.53 ^b	24.3 ± 1.68 ^b	24.8 ± 1.23 ^b	32 ± 1.74 ^a
STATIC	12.6 ± 1.67 ^c	11.7 ± 1.09 ^{bc}	14.3 ± 1.14 ^b	31.1 ± 2.13 ^a

Tabela 1: Médias das demais variáveis de cinética espermática dos grupos. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos (p<0,05).

Conclusões

Nas condições utilizadas, a cinética dos espermatozoides submetidos à PDT foi inferior aos demais grupos, evidenciando a importância de novos estudos empregando irradiâncias e doses mais baixas.

Photodynamic therapy with doses higher to 1J/cm² decrease the rooster sperm kinetics

Vitor H. Macedo¹, Gabriel A. Novaes¹, Marcel H. Blank¹, Ricardo J. G. Pereira¹

¹Department of Animal Reproduction, School of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo

ricpereira@usp.br

Objectives

Investigate the effects of Photodynamic Therapy (PDT) using fixed photosensitizer concentration (10µM methylene blue; AM) and irradiation ($\lambda = 660$ nm; Light) on the sperm kinetics of roosters.

Methods and Procedures

Semen samples from 16 roosters were collected by hand massage and subsequently distributed in pools (n = 8). The sample were diluted in Lake extender (1x10⁹ spz/ ml) and, subsequently divided into 4 groups: Control (without AM and without light), AM (with AM and without light), Light (without AM and with light) and PDT (with AM and with light). The groups Luz and PDT were irradiated by LED box emitting at 44.3 mw/cm² for 30, 60, 120 and 180s and, at the end of each period, an aliquot was taken from each group for Computer-assisted sperm analysis (CASA). Statistical analysis were performed by SAS System for Windows and are presented as mean $\pm$ SEM. The interaction effect were estimated by PROC MIXED (p <0.05) between group *versus* time followed the t test (LSD) for comparisons between groups.

Results

No interaction between group and time was observed in any sperm kinetic variable analyzed. Therefore, we chose to evaluate the effect of the group separately, as shown in figure 1 and table 1.

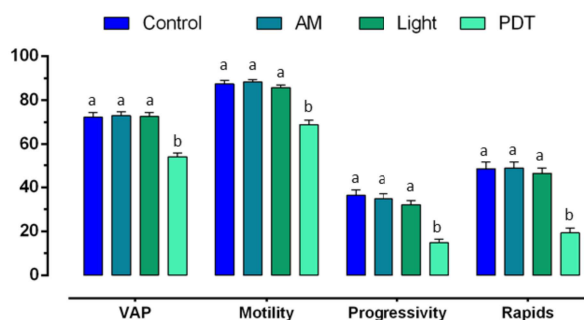


Figure 1: Mean's histogram of the main sperm kinetic variables of the groups. Different letters indicate statistical difference between the groups (p <0.05).

Variable	Control	AM	Light	PDT
VSL	58.7 $\pm$ 1.9 ^a	57.84 $\pm$ 1.55 ^a	57.4 $\pm$ 1.47 ^a	44.1 $\pm$ 1.3 ^b
VCL	112.8 $\pm$ 2.38 ^a	114.9 $\pm$ 1.84 ^a	114.4 $\pm$ 2.48 ^a	90.3 $\pm$ 2.45 ^b
ALH	4.9 $\pm$ 0.06 ^a	4.9 $\pm$ 0.06 ^a	4.9 $\pm$ 0.07 ^a	4.6 $\pm$ 0.09 ^b
BCF	33 $\pm$ 0.29 ^a	33 $\pm$ 0.34 ^a	33.1 $\pm$ 0.32 ^a	31.2 $\pm$ 0.43 ^b
STR	80.6 $\pm$ 0.84 ^{ab}	78.7 $\pm$ 0.88 ^b	78.7 $\pm$ 1.28 ^{ab}	81.4 $\pm$ 0.89 ^a
LIN	52.1 $\pm$ 1.03 ^a	50.4 $\pm$ 0.91 ^a	50.6 $\pm$ 1.11 ^a	50.2 $\pm$ 1.12 ^a
MEDIUM	15.4 $\pm$ 0.96 ^{ab}	13.5 $\pm$ 0.93 ^b	13.1 $\pm$ 1.14 ^b	17.6 $\pm$ 0.93 ^a
SLOW	23.7 $\pm$ 1.53 ^b	24.3 $\pm$ 1.68 ^b	24.8 $\pm$ 1.23 ^b	32 $\pm$ 1.74 ^a
STATIC	12.6 $\pm$ 1.67 ^c	11.7 $\pm$ 1.09 ^{bc}	14.3 $\pm$ 1.14 ^b	31.1 $\pm$ 2.13 ^a

Table 1: Means of the other sperm Kinect variables. Different letters indicate statistical difference between the groups (p <0.05).

Conclusions

Under the conditions used, the kinetics of sperm submitted to PDT decreases compared to the other groups, highlighting the importance of further studies employing irradiance and lower doses.