



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ



XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Resposta do sêmen criopreservado de espécies mamíferas domésticas à indução à capacitação in vitro
Autor	LOUISE FONTOURA KOHLER
Orientador	MARCELO BERTOLINI

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL - UFRGS
FACULDADE DE VETERINÁRIA
LABORATÓRIO DE EMBRIOLOGIA E BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO

Bolsista: Louise Fontoura Köhler
Orientador: Prof. Dr. Marcelo Bertolini

Resposta do sêmen criopreservado de espécies mamíferas domésticas à indução à capacitação *in vitro*

A fecundação *in vitro* (FIV) é uma biotécnica reprodutiva que consiste na penetração de um oócito por um espermatozóide, que por via de regra, deve suceder a capacitação espermática e a reação acrossômica. A técnica de FIV, a qual é bem estabelecida em bovinos e humanos, consiste na utilização de agentes capacitantes, os quais visam mimetizar o processo que ocorre *in vivo*. Assim, o agente capacitante mais amplamente utilizado na produção *in vitro* de embriões pela FIV, em especial em bovinos, é a heparina, um glicosaminoglicano (GAG). Sendo assim, a capacitação é um dos processos que determina o sucesso da FIV. Existem ainda algumas espécies, como a ovina e a equina, em que FIV ainda não é uma realidade consolidada devido à baixa eficiência. O objetivo deste trabalho é de compreender o padrão de capacitação espermática de amostras de sêmen criopreservado de espécies mamíferas domésticas, quando submetidos a um meio contendo heparina. No Experimento 1, foram utilizadas amostras de sêmen bovino congelado de três touros (A, B, C), as quais foram descongeladas a 37°C por 30 s, e submetidas à segregação espermática por gradiente de Percoll®. Parte da amostra foi corada com azul de tripano e giemsa, para avaliação da viabilidade celular durante o tempo de incubação. Outra parte da amostra foi corada com clortetraciclina (CTC) para avaliar o padrão de capacitação espermática por epifluorescência, classificando-os como não-capacitados (NC), capacitados (C) e com acrossoma reagido (RA). Após, as amostras foram incubadas em meio contendo 5 UI/mL de heparina. Ambas as colorações foram realizadas no tempo 0 (t0), logo após a adição da amostra ao meio com heparina, e repetidas após 2 h (t2) de incubação. No Experimento 2, foi realizado um ensaio de dose-resposta do sêmen de touros não responsivos à heparina no Experimento I, com a incubação em 5, 10 e 15 UI/mL de heparina. Os dados foram analisados entre touros pelo teste do χ^2 ($p \leq 0,05$). O Experimento I demonstrou haver diferença no comportamento dos touros frente à indução com a 5 UI/mL de heparina. Após o descongelamento, o sêmen dos touros apresentaram taxas semelhantes de espermatozoides criocapacitados, variando de 51% a 63%, o que se manteve após o processo de segregação por gradiente de percoll. Os touros B e C apresentaram taxas de 80% e 60% de células íntegras e sem danos de membrana, respectivamente, enquanto que o touro A apresentou uma menor taxa de células íntegras e viáveis (40%). Após a exposição à heparina, o touro C mostrou-se mais sensível à heparina (C: t0 = 70% e t2 = 77%, NC: t0 = 16% e t2 = 17%, e RA: t0 = 14% e t2 = 6%), enquanto que os touros A (C: t0 = 69% e t2 = 67%, NC: t0 = 22% e t2 = 27%, e RA: t0 = 9% e t2 = 6%) e B (C: t0 = 68% e t2 = 60%, NC: t0 = 26 e t2 = 38%, e RA: t0 = 6% e t2 = 2%) demonstraram não serem sensíveis a 5 UI/mL de heparina. No Experimento 2, os touros A e B passaram a responder à heparina em concentrações mais elevadas (10 e 15 UI/mL), chegando a 80% de capacitação após 2 h de incubação, sob as duas concentrações. Isso demonstra que ajustes na dose de heparina possuem um papel importante na capacitação das células espermáticas, e consequentemente, dos resultados na FIV. A mesma metodologia acima está sendo aplicada comparativamente ao sêmen ovino, caprino, bubalino, equino e canino criopreservado para avaliar a efetividade da heparina na indução da capacitação espermática *in vitro*.