

CARACTERIZAÇÃO DO ESPERMATOZOIDE SUÍNO HIPERATIVADO ATRAVÉS DO SISTEMA COMPUTADORIZADO DE ANÁLISE DE SÊMEN

Ana Paula Pinoti Pavaneli^{*1}; Mariana Andrade Torres^{*}; Gisele Mouro Ravagnani^{*}; Marina Da Silva Passarelli^{*}; Simone Maria Massami Kitamura Martins^{*}; André Furugen Cesar De Andrade^{*}

^{*}Núcleo de Pesquisa em Suínos – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP

¹*anapavaneli@usp.br*

A hiperativação espermática (HE) é um dos importantes eventos prévios a fertilização pelos quais o espermatozoide deve ser submetido. Tal padrão de movimento, altamente vigoroso e assimétrico, tem sido relacionado a importantes funções no sistema reprodutivo feminino, como a liberação dos espermatozoides abrigados no reservatório espermático e sua consequente propulsão por barreiras encontradas ao longo de seu trajeto até a fertilização do gameta feminino (Chang & Suarez, 2010). A análise computadorizada do sêmen (CASA) é capaz de identificar subpopulações espermáticas como a de células hiperativadas (Mortimer et al., 2015), a partir de valores limites pré-definidos que possam caracterizá-las e distingui-las de outras. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar o padrão de movimento apresentado pelo espermatozoide suíno hiperativado a partir de características avaliadas pelo CASA – *SpermClassAnalyser*(SCA[®]) – Microoptics Barcelona, Espanha). Foram obtidos nove ejaculados dos quais apenas a fração rica espermática foi utilizada, sendo esta após coleta, diluída em BTS (Beltisville Thawing Solution, IMV Technologies, L'Aigle, França) e refrigerada (15-17 °C) por 24 horas. Após refrigeração, foram centrifugadas (500 g por 10 minutos) com posterior retirada do sobrenadante e ressuspensão em meio TALP-HEPES sob concentração final de 30×10^6 espermatozoides/mL - diluição utilizada como base para ambos os tratamentos: 1) Indução da HE; 2) Não indução da HE. A técnica adotada para indução da HE compreendeu o uso de 50 $\mu\text{mol/L}$ de CaCl_2 e 5 $\mu\text{mol/L}$ de ionóforo de cálcio A23187 (Schmidt & Kamp, 2004), com posterior incubação em estufa à 38,5 °C e 5% CO_2 por 30 minutos. As amostras não induzidas à HE permaneceram em superfície aquecida sob mesma temperatura e tempo. Ambas foram então analisadas através do *software SpermClassAnalyser*(SCA[®]) quanto as características de motilidade. Com o intuito de caracterizar o padrão cinético de células espermáticas hiperativadas, analisou-se as diferenças entre células induzidas e não induzidas à HE pelo PROC UNIVARIATE, *software SAS* (2010). Dentre as características de motilidade que apresentaram valores significativamente diferentes ($p < 0,01$), foram selecionadas aquelas que apresentaram menor coeficiente de variação (CV): retilinearidade (STR), linearidade (LIN), amplitude do deslocamento lateral da cabeça do espermatozoide (ALH) e índice de oscilação (WOB) - (CV: -17,12; -12,64; 14,36 e -10,35, respectivamente). Para estabelecer os valores limites para cada uma delas utilizou-se estimativas de média ± 3 desvios padrões, as quais resultaram nos seguintes parâmetros: LIN < 41%; STR < 60%; ALH > 3 μm e WOB < 54%, os quais juntos caracterizaram o padrão de movimento da célula espermática suína hiperativada. O uso de avaliações multiparamétricas, como a definida no presente trabalho, pode auxiliar na identificação de espermatozoides sob estado de hiperativação *in vitro*, auxiliando na predição do potencial fertilizante *in vivo* de doses inseminantes. Além disso, outros estudos podem ser conduzidos com base nos resultados obtidos com o presente trabalho.

Palavras chave: CASA, espermatozoide suíno, hiperativação.