

Redução do cálcio intracelular na capacitação do sêmen ovino

Aline de Oliveira Felix, Aline Matos Arrais, Carla Sobrinho Paes de Carvalho, Uiliam Machado de Souza, Angelo José Burla Dias

A criopreservação de sêmen é uma técnica de grande potencial para o melhoramento genético animal de diferentes espécies, assim como para a formação de bancos de germoplasma. No entanto, em ovinos, a criopreservação do sêmen causa uma redução da longevidade e a indução prematura da capacitação espermática. A capacitação espermática envolve uma série de eventos bioquímicos que ocorrem fisiologicamente nos espermatozoides de mamíferos durante seu trajeto pelo sistema reprodutor feminino, que leva à reação acrossômica, num evento induzido pela elevação das concentrações intracelulares de cálcio. Nesse processo o fosfatidilinositolbifosfato (PIP₂) atua na formação do inositoltrifosfato (PI3), que mobiliza cálcio dos estoques intracelulares. Previamente demonstramos que a inibição da formação do PI3, reduziu o percentual de espermatozoides de ovinos criopreservados com acrossoma reagido. Diante do exposto o presente trabalho terá como objetivos avaliar a viabilidade de espermatozoides ovinos submetidos ao congelamento e determinar a reversibilidade da ação do inibidor da formação do PI3, sobre a capacitação espermática. Serão utilizados para coleta de sêmen, quatro carneiros da raça Santa Inês, mantidos na Unidade de Apoio à Pesquisa Animal da UENF. A concentração espermática será calculada e o sêmen será acrescido do inibidor, congelado e posteriormente descongelado em banho-maria a 37°C. Em seguida será realizada a avaliação da motilidade espermática, motilidade total, motilidade progressiva e de espermatozoides com movimentos rápidos, médios, lentos e estáticos. Ainda após o descongelamento e lavagem, os espermatozoides serão incubados em solução de heparina em incubadora de CO₂ para indução de capacitação espermática. A integridade das membranas plasmática e acrossomal serão analisadas por meio das sondas fluorescentes PI e PSA-FITC. A determinação da atividade mitocondrial será realizada por meio do uso de Iodeto de 5,5',6,6'-tetracloro-1,1,3,3'-tetraetilbenzimidazolilcarbocianina (JC-1). Posteriormente será realizada a avaliação da capacitação espermática em solução de clotetraciclina (CTC). Será feita a análise de variância para verificar o efeito do tratamento e teste de médias. Espera-se que o tratamento controle a indução prematura da capacitação espermática, o que poderá impactar positivamente as taxas de prenhez de ovelhas inseminadas com sêmen congelado.

Palavras-chave: IP3, Capacitação espermática, Criopreservação.

Instituição de fomento: CNPq, FAPERJ, UENF,