

**Papel do óxido nítrico na qualidade dos espermatozóides  
bovinos *in natura* durante a capacitação *in vitro* induzida pela  
heparina**

LEAL, A. C. M. S. L.

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro  
Professor (a) orientador (a): Maria Clara Soares Caldas Bussiere  
Resumo de tese de mestrado  
Fevereiro de 2008

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do óxido nítrico (NO) na capacitação *in vitro* de espermatozóides bovinos *in natura* induzida pela heparina, por meio da adição de Nw-nitro-L-arginina metil ester (L-NAME, inibidor da síntese de NO) e L-arginina (L-arg, precursor da síntese de NO). No experimento 1 foram adicionadas diferentes concentrações de L-NAME (0,1; 1; 10 mM) e de L-arg (10 mM) ao meio capacitante. A motilidade e o vigor foram avaliados de forma subjetiva com microscopia de luz indireta, a viabilidade pela coloração vital com Tripán Blue 2% e a concentração de nitrato/nitrito ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ) pelo método de Griess ao longo de 5 h de capacitação (0,25; 1; 2; 3; 4 e 5 h). A adição de 10 mM de L-NAME inibiu a síntese de NO, a motilidade progressiva, o vigor e a viabilidade espermática ( $P < 0,05$ ) em relação ao controle. Foi adicionado 0,6 mM de L-arg ao meio capacitante tratado com 10 mM de L-NAME para avaliar se o efeito inibitório era reversível. Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre 10 mM de L-NAME + 0,6 mM de L-arg e o controle em todos os parâmetros avaliados no experimento 1. A adição de 10 mM de L-arg ao meio de capacitação, aumentou a síntese de NO, a motilidade progressiva, o vigor e a viabilidade espermática em relação ao controle ( $P < 0,05$ ). No experimento 2, foram avaliados a atividade mitocondrial pelo teste de MTT (sal brometo de difeniltetrazolium 3 – (4,5 – dimetiltiazol – 2 yl) – 2,5) e a capacitação espermática pelo teste de penetração em oócitos homólogos após a adição da concentração de L-NAME (10 mM) que apresentou efeito inibitório e de L-arg (10 mM) que

apresentou efeito estimulatório no experimento 1. A adição de 10 mM de L-NAME diminuiu a atividade mitocondrial (40%) e a porcentagem de oócitos penetrados (23%) em relação ao controle ( $P < 0.05$ ). Após a adição de 0,6 mM de L-arg + 10 mM de L-NAME não houve reversão total da atividade mitocondrial (apenas de 20%), contudo este fato não alterou os resultados obtidos em relação ao teste de penetração (foi até mesmo 5% maior que o controle). A adição de 10 mM de L-arg aumentou a porcentagem de oócitos penetrados em relação ao controle (21%) e ao tratamento com 10 mM de L-NAME + 0,6 mM de L-arg (16%) ( $P < 0.05$ ). Esses resultados indicam que; 1) o NO está envolvido no controle da motilidade progressiva, do vigor, da viabilidade e atividade mitocondrial espermática ao longo da capacitação de espermatozóides bovinos *in natura* induzida pela heparina via NO/NOS; 2) concentrações adequadas de NO no meio capacitante podem potencializar a ação da heparina ou agir de forma independente aumentando o número ou qualidade dos espermatozóides capacitados; 3) a L-arg/NO modula parcialmente a atividade mitocondrial durante a capacitação. Outros mecanismos de ação do NO/L-arg durante a capacitação espermática devem ser avaliados e se a sua adição no meio de capacitação irá aumentar a produção *in vitro* de embriões.

Palavras chave: óxido nítrico, espermatozóides, bovino, L-NAME, L-arginina

Autor (a): Ana Carolina de Macedo Soares Leal  
E-mail: [analeal@uenf.br](mailto:analeal@uenf.br)