

Mudanças no padrão de movimento espermático após a capacitação em bovinos por dois sistemas computadorizados de análises espermáticas (CASA)

Fernanda Baatsch Nascimento¹, Alexandre da Rocha Bozzi¹, Rubens Paes de Arruda², Laura Nataly Garcia-Oliveros¹, Thais de Oliveira Cardoso Silva¹, Thainara Rodrigues de Oliveira¹, Eneiva Carla Carvalho Celeghini^{1*}

¹Laboratório de Ensino e Pesquisa em Patologia da Reprodução, Centro de Biotecnologia da Reprodução Animal, Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), Pirassununga, SP, Brasil

²Laboratório de Biotecnologia do Sêmen e Andrologia, Centro de Biotecnologia da Reprodução Animal, Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), Pirassununga, SP, Brasil

*Correspondência: celeghin@usp.br

Há no mercado diferentes equipamentos que permitem a análise espermática computadorizada (CASA - Computer-Assisted Sperm Analysis), sendo possível avaliar detalhes do movimento da célula espermática, o que pode ser promissor na avaliação das mudanças no padrão de motilidade de espermatozoides capacitados. No entanto, os equipamentos possuem algumas diferenças na forma de detectar o espermatozoide e no ajuste do setup. Neste sentido, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de comparar dois equipamentos, o da Hamilton Thorne, modelo IVOS II (acoplado a um microcomputador), e o iSperm (portátil, acoplado a um tablet), para detectar diferenças na motilidade espermática pós-capacitação em bovinos. Neste estudo foram colhidos três ejaculados de 12 touros (n=36) da raça Nelore. Todos os ejaculados foram analisados logo após a colheita (controle, CO), sendo então submetidos a um protocolo de capacitação espermática *in vitro* e, a seguir, reavaliados (CAP). As amostras foram analisadas nos dois equipamentos, Hamilton Thorne (HT) e iSperm (iS), quanto as seguintes características: motilidade total (MT, %), motilidade progressiva (MP, %), velocidade progressiva (VSL, $\mu\text{m/s}$), velocidade curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$), velocidade de trajeto (VAP, $\mu\text{m/s}$), amplitude lateral da cabeça (ALH, μm), frequência de batimento (BCF, Hz), linearidade (LIN, %) e retilinearidade (STR, %). O estudo foi delineado em arranjo fatorial 2x2, sendo considerados duas condições espermáticas: CO e CAP x dois equipamentos: HT e iS, totalizando quatro grupos experimentais: COHT (controle por Hamilton Thorne), COiS (controle por iSperm), CAPHT (capacitado por Hamilton Thorne) e CApiS (capacitado por iSperm). Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey, sendo considerada diferença estatística quando $P \leq 0,05$. A MT detectada pelo HT reduziu após a capacitação (COHT= $91.9 \pm 3.459\%$ ^a x CAPHT= $71.43 \pm 18.81\%$ ^b) e não diferiu pela avaliação realizada pelo iS (COiS= $78.114 \pm 10.91\%$ ^b x CApiS= $72.5 \pm 12.8\%$ ^b). A MP reduziu após a capacitação tanto pelo HT (COHT= $84 \pm 4.26\%$ ^a x CAPHT= $66.03 \pm 18.17\%$ ^b) quanto pelo iS (COiS= $61.057 \pm 9.792\%$ ^b x CApiS= $54 \pm 13.8\%$ ^c). Foi detectada redução da VCL após a capacitação quando avaliada pelo HT (COHT= $179 \pm 37.63 \mu\text{m/s}$ ^a x CAPHT= $146 \pm 33.03 \mu\text{m/s}$ ^b), mas esta redução não foi detectada pelo iS (COiS= $152.83 \pm 22.27 \mu\text{m/s}$ ^b x CApiS= $159 \pm 26.4 \mu\text{m/s}$ ^b). Em relação à VSL não foi observada diferença pelo HT antes e após a capacitação espermática (COHT= $118 \pm 20.79 \mu\text{m/s}$ ^a x CAPHT= $104.7 \pm 20.38 \mu\text{m/s}$ ^a), no entanto, o iS detectou redução nesta variável após a capacitação espermática (COiS= $90.771 \pm 16.99\%$ ^b x CApiS= $89.5 \pm 19.4\%$ ^c). A VAP foi menor pelo HT após a capacitação (COHT= $132 \pm 24.32 \mu\text{m/s}$ ^a x CAPHT= $113.6 \pm 22.38 \mu\text{m/s}$ ^b), mas nenhum efeito foi notado pelo iS (COiS= $97.686 \pm 18.12 \mu\text{m/s}$ ^b x CApiS= $98.2 \pm 20.7\%$ ^b). A capacitação reduziu ALH pela análise do HT (COHT= $5.45 \pm 1.001 \mu\text{m}$ ^c x CAPHT= $4.591 \pm 1.069 \mu\text{m}$ ^d), mas aumentou pela análise do iS (COiS= $7.9486 \pm 0.963 \mu\text{m}$ ^b x CApiS= $8.54 \pm 1.02 \mu\text{m}$ ^a). BCF foi menor após a capacitação para HT (COHT= $40.1 \pm 3.929 \text{ Hz}$ ^a x CAPHT= $37.7 \pm 5.051 \text{ Hz}$ ^b), mas não diferiu para iS (COiS= $33.557 \pm 3.498 \text{ Hz}$ ^c x CApiS= $32 \pm 2.9 \text{ Hz}$ ^c). A LIN foi menor após a capacitação espermática pela avaliação pelo HT (COHT= $68.8 \pm 6.474\%$ ^b x CAPHT= $74.06 \pm 6.928\%$ ^a), mas não pelo iS (COiS= $57.086 \pm 4.889\%$ ^c x CApiS= $54.5 \pm 5.99\%$ ^c). A STR não diferiu pelo HT após a capacitação (COHT= $88.7 \pm 2.92\%$ ^{ab} x CAPHT= $91.76 \pm 3.134\%$ ^a), mas foi menor após a capacitação pelo iS (COiS= $90.314 \pm 2.311\%$ ^b x CApiS= $87.7 \pm 3.63\%$ ^c). Com base nos resultados, parece haver diferenças na interpretação da cinética espermática entre os dois equipamentos de análise. Embora ambos foram capazes de detectar diferenças entre os espermatozoides capacitados. Essas diferenças podem ser atribuídas às variações nos métodos de medição e análise de parâmetros como motilidade, velocidade e linearidade dos espermatozoides. Portanto, é importante considerar essas discrepâncias ao interpretar os resultados e ao selecionar o equipamento mais adequado para avaliar a qualidade do sêmen. Mais estudos comparativos entre os dois equipamentos são necessários para uma compreensão mais completa de suas diferenças e semelhanças.

Palavras chave: hiperativação da motilidade; sêmen; cinética espermática; touros.

Agradecimentos: FAPESP (processos nº 2023/01059-0) e CNPq (processo 312510/2021-7).

Changes in sperm movement pattern after capacitation in cattle by two computerized sperm analysis systems (CASA)

Fernanda Baatsch Nascimento¹, Alexandre da Rocha Bozzi¹, Rubens Paes de Arruda², Laura Nataly Garcia-Oliveros¹, Thais de Oliveira Cardoso Silva¹, Thainara Rodrigues de Oliveira¹, Eneiva Carla Carvalho Celeghini^{1*}

¹Laboratory of Teaching and Research in Reproductive Pathology, Center for Animal Reproduction Biotechnology, Department of Animal Reproduction, School of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo (FMVZ-USP), Pirassununga, SP, Brazil

²Semen Biotechnology and Andrology Laboratory, Center for Animal Reproduction Biotechnology, Department of Animal Reproduction, School of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo (FMVZ-USP), Pirassununga, SP, Brazil

*Corresponding author: celeghin@usp.br

Currently, there are different commercial devices for Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA), enabling the detailed analysis of sperm movement, which could be promising in evaluating changes in the motility pattern of capacitated spermatozoa. However, these devices vary in their methods of sperm detection and setup adjustments. Therefore, this study aimed to compare two equipment, the Hamilton Thorne IVOS II (connected to a microcomputer) and the iSperm (portable, connected to a tablet), to detect differences in post-capacitation sperm motility in cattle. In this study, three ejaculates were collected from 12 Nelore bulls (n=36). All ejaculates were analyzed immediately after collection (control, CO), then subjected to an *in vitro* sperm capacitation protocol, and then re-evaluated (CAP). The samples were analyzed using both the Hamilton Thorne (HT) and iSperm (iS) equipment for the following characteristics: total motility (TM, %), progressive motility (PM, %), progressive velocity (VSL, $\mu\text{m/s}$), curvilinear velocity (VCL, $\mu\text{m/s}$), average path velocity (VAP, $\mu\text{m/s}$), lateral head displacement (ALH, μm), beat cross frequency (BCF, Hz), linearity (LIN, %), and straightness (STR, %). The study was designed in a 2x2 factorial arrangement, considering two sperm conditions: CO and CAP x two equipment: HT and iS, totaling four experimental groups: COHT (control by Hamilton Thorne), COiS (control by iSperm), CAPHT (capacitated by Hamilton Thorne), and CApiS (capacitated by iSperm). Data were subjected to ANOVA, and means were compared using Tukey's test, with statistical difference considered when $P \leq 0.05$. TM detected by HT decreased after capacitation (COHT= $91.9 \pm 3.459\%$ ^a vs CAPHT= $71.43 \pm 18.81\%$ ^b) and did not differ according to iS evaluation (COiS= $78.114 \pm 10.91\%$ ^b vs. CApiS= $72.5 \pm 12.8\%$ ^b). PM decreased after capacitation for both HT (COHT= $84 \pm 4.26\%$ ^a vs. CAPHT= $66.03 \pm 18.17\%$ ^b) and iS (COiS= $61.057 \pm 9.792\%$ ^b vs. CApiS= $54 \pm 13.8\%$ ^c). VCL decreased after capacitation when evaluated by HT (COHT= $179 \pm 37.63 \mu\text{m/s}$ ^a vs CAPHT= $146 \pm 33.03 \mu\text{m/s}$ ^b), but this reduction was not detected by iS (COiS= $152.83 \pm 22.27 \mu\text{m/s}$ ^b vs. CApiS= $159 \pm 26.4 \mu\text{m/s}$ ^b). Regarding VSL, no difference was observed by HT before and after sperm capacitation (COHT= $118 \pm 20.79 \mu\text{m/s}$ ^a vs. CAPHT= $104.7 \pm 20.38 \mu\text{m/s}$ ^a), however, iS detected a reduction in this variable (COiS= $90.771 \pm 16.99\%$ ^b vs. CApiS= $89.5 \pm 19.4\%$ ^c). VAP was lower by HT after capacitation (COHT= $132 \pm 24.32 \mu\text{m/s}$ ^a vs. CAPHT= $113.6 \pm 22.38 \mu\text{m/s}$ ^b), but no effect was noted by iS (COiS= $97.686 \pm 18.12 \mu\text{m/s}$ ^b vs. CApiS= $98.2 \pm 20.7\%$ ^b). ALH was reduced by HT analysis after capacitation (COHT= $5.45 \pm 1.001 \mu\text{m}$ ^c vs. CAPHT= $4.591 \pm 1.069 \mu\text{m}$ ^d) but increased by iS analysis (COiS= $7.9486 \pm 0.963 \mu\text{m}$ ^b vs. CApiS= $8.54 \pm 1.02 \mu\text{m}$ ^a). BCF was lower after capacitation for HT (COHT= $40.1 \pm 3.929 \text{ Hz}$ ^a vs. CAPHT= $37.7 \pm 5.051 \text{ Hz}$ ^b) but did not differ for iS (COiS= $33.557 \pm 3.498 \text{ Hz}$ ^c vs. CApiS= $32 \pm 2.9 \text{ Hz}$ ^c). LIN was lower after sperm capacitation by HT evaluation (COHT= $68.8 \pm 6.474\%$ ^b vs. CAPHT= $74.06 \pm 6.928\%$ ^a) but not by iS (COiS= $57.086 \pm 4.889\%$ ^c vs. CApiS= $54.5 \pm 5.99\%$ ^c). STR did not differ by HT after capacitation (COHT= $88.7 \pm 2.92\%$ ^{ab} vs. CAPHT= $91.76 \pm 3.134\%$ ^a) but was lower after capacitation by iS (COiS= $90.314 \pm 2.311\%$ ^b vs. CApiS= $87.7 \pm 3.63\%$ ^c). Based on the results, there appear to be differences in sperm kinetic interpretation between the two-analysis equipment. Although both were able to detect differences between the capacitated sperm. These differences may be attributed to variations in measurement methods and analysis of parameters such as motility, velocity, and linearity of spermatozoa. Therefore, it is essential to consider these discrepancies when interpreting the results and selecting the most appropriate equipment to assess semen quality. Further comparative studies between the two equipment are necessary for a more comprehensive understanding of their differences and similarities.

Keywords: hyperactivity motility; semen; sperm kinetics; bulls.

Acknowledgment: FAPESP (process n° 2023/01059-0) and CNPq (process n° 312510/2021-7).