

Núcleo de Avaliação: Núcleo I

Área temática: Ciências da Saúde

Área do Conhecimento: Análise toxicológica

Padronização de uma técnica alternativa para análise de toxicidade no sistema reprodutor em ratos *Wistar*: comparação com acasalamento natural.

Layza Mariana Santos Jorge, Caio Cesar Araujo Dos Santos, Aline Gabrielle Gomes Da Silva, Maria Joana Nogueira De Moura e Cibele Dos Santos Borges.

Roedores, especialmente ratos, são amplamente utilizados como modelos experimentais devido à sua similaridade fisiológica e homologia genética com humanos. A inseminação artificial *in utero* (IAIU) é considerada o método padrão-ouro para avaliar a qualidade espermática em testes de toxicidade reprodutiva para ratos, mesmo sendo uma técnica invasiva e dolorosa. Por outro lado, a inseminação artificial intravaginal, embora amplamente conhecida e realizada para diversas espécies, não alcança mesmo êxito em ensaios com ratos. Assim, a padronização de novas técnicas poderiam reduzir a necessidade de processos tão invasivos, eliminando a dor, sofrimento e complicações cirúrgicas, reduzindo indicadores de estresse bem como o tempo do procedimento. O presente estudo teve como objetivo comparar índices reprodutivos através de padronização de técnicas alternativas de inseminação artificial intravaginal em ratos, podendo ser utilizadas para testes de toxicidade reprodutiva. O experimento foi aprovado pelo CEUA, sob parecer 11/2023. Cinco ratos machos *Wistar* adultos foram utilizados para a realização das 4 técnicas propostas, para evitar fatores específicos relacionados ao macho. Os machos foram utilizados primeiramente para realização do acasalamento natural (comprovar sua fertilidade), e após 15 dias de descanso para recuperação das reservas espermáticas foram eutanasiados e os espermatozoides foram coletados da cauda epididimária e diluídos em solução PBS (avaliados quanto a motilidade espermática para obter a viabilidade da obtenção das amostras) e aliqüotados em 3 amostras contendo 10 milhões de espermatozoides em cada, que foram utilizadas em todas as 3 técnicas subsequentes. Para a realização das técnicas, Ratos *Wistar* fêmeas adultas (70 dias), foram divididas em quatro grupos experimentais

(n=5/grupo): grupo controle (CTRL), que realizou acasalamento natural seguindo protocolo padrão; grupo de inseminação artificial *in utero* (IAIU) que realizou a técnica padrão de inseminação intrauterina; grupo Inseminação alternativa sem plasma de vesícula seminal (IA) que realizou a ejeção da amostra espermática intravaginal utilizando especulo adaptado e grupo Inseminação alternativa com plasma de vesícula seminal (IAV) que realizou a ejeção da amostra espermática intravaginal com especulo e posterior adição de tampão com conteúdo da vesícula seminal. Ao final do procedimento, foi realizada novamente a análise da motilidade espermática da amostra restante no meio. Análise estatística: teste de kruskal Wallis seguido de Dunns (considerando $p < 0,05$). Os resultados não demonstraram a eficiência desejada das técnicas alternativas propostas (IA e IAV), assim como da própria IAIU, com índice de prenhez de 0%, em comparação ao grupo controle que obteve êxito de 80% de taxa de prenhez. Importante frisar que as análises de motilidade espermática antes e posterior as inseminações tiveram uma redução de aproximadamente 40% de espermatozoides móveis, e uma vez que a própria técnica padrão IAIU, não obteve êxito, como visto também pelo potencial fértil dos três grupos IAIU (0%), IA (0%) e IAV (0%), pode-se concluir que uma possível causa desta falha está relacionada à escolha do meio de diluição espermática, uma vez que a solução PBS enriquecida com soro fetal bovino, embora viável em estudos anteriores, mostrou-se inadequada para o procedimento de inseminação artificial, comprometendo a qualidade espermática a longo prazo e a execução das técnicas.

Palavras-chave: Inseminação alternativa, padronização, testes de toxicidade.

Agência financiadora: PIBIC/CNPq.

Campus: Mossoró.
