

DEGENERAÇÃO DE TÚBULOS SEMINÍFEROS DE CAMUNDONGOS MEDIADA POR ANTICORPOS ANTI-GnRH

PEREIRA, Juliano Lacava¹; JÚNIOR, Alceu Gonçalves dos Santos¹; KLAFKE, Gabriel Baracy¹; PINTO, Luciano da Silva¹; HARAYASHIKI, Cyntia Ayumi Yokota²; LEITE, Fábio Pereira Leivas³

¹Universidade Federal de Pelotas – julianolacava@gmail.com

²Fundação Universidade Federal do Rio Grande

³Universidade Federal de Pelotas – Fabio@leivasleite.com.br

1. INTRODUÇÃO

A pressão da sociedade para buscar alternativas mais humanas para a castração cirúrgica vem crescendo. Desta forma, é improvável sustentar a castração cirúrgica no futuro (TUYYTENS et al., 2011). Tendo em vista o bem estar animal, uma técnica alternativa à cirurgia é a imun contracepção utilizando vacinas contra o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) (PURSWANI & TALWAR, 2011). O GnRH é um decapeptídeo responsável pela estimulação da biossíntese e secreção do LH (Hormônio Luteinizante) e do FSH (Hormônio Folículo Estimulante) pela hipófise anterior, os quais são fundamentais no processo reprodutivo (Cheng & Leung, 2005).

Vacinas imun contraceptivas estão sendo desenvolvidas para animais domésticos, selvagens e humanos (KIRKPATRICK et al., 2009; TALWAR et al., 2009). Em humanos, vacinas anti-GnRH podem ser utilizadas na terapia do câncer de próstata, uma vez que são capazes de reduzir os níveis de testosterona (PARKINSON et al., 2004).

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos imun contraceptivos nos túbulos seminíferos de camundongos imunizados com uma vacina contendo como antígeno a proteína recombinante LTB/GnRH.

2. MATERIAL E MÉTODOS

No Núcleo de Biotecnologia do Centro de Desenvolvimento Tecnológico da Universidade Federal de Pelotas, foi obtida a quimera recombinante LTB/GnRH descrita por PEREIRA (2011). O experimento foi realizado com camundongos BALB/c machos, de 21 dias e com peso de ~16g, . Os animais foram divididos em dois grupos como descrito abaixo:

- Grupo vacinado com a proteína LTB/GnRH (GnRH): 08 camundongos vacinados por via subcutânea com 100µg de LTB/GnRH expressa em *Pichia pastoris* e adsorvidos em 10% de Al(OH)₃;

- Grupo controle: 08 camundongos machos vacinados por via subcutânea com 100µg de LTB expressa em *Escherichia coli* e adsorvidos em 10% de Al(OH)₃. Os camundongos receberam duas doses iguais da vacina, a primeira no dia zero e a revacinação 15 dias após.

Para a remoção dos testículos dos camundongos, após 28 dias da primeira dose da vacina, os animais foram anestesiados com pentobarbital (60mg/kg), aplicado intraperitoneal e após foram eutanasiados com CO₂, de acordo com *Report of the American Veterinary Medical Association*, nº 5, de 01 de março de 2001.

Nos testículos, foram realizadas as análises histopatológicas dos túbulos seminíferos, no Laboratório de Histologia do Instituto de Ciências Biológicas da Fundação Universidade Federal do Rio Grande. Os testículos foram fixados em Bouim, desidratados em soluções alcoólicas crescentes, diafanizados em xilol, impregnados e incluídos em Paraplast Xtra® (Sigma, P-3808) (CARSON & HLADIK, 2009). As lâminas foram montadas a partir dos blocos microtomizados (Microtomo motorizado Leica – RM2255) com 5µm de espessura, sendo coradas com hematoxilina de Mayer e eosina e fotografadas em microscópio (Olympus – BX51) com câmera digital de alta resolução (Olympus – DP72).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A vacinação dos camundongos causou efeito nos túbulos seminíferos dos animais. Os efeitos observados sugerem que os mesmos são capazes de tornar o macho infértil. A formação de anticorpos anti-GnRH induzida pela resposta vacinal, sugerem ser os responsáveis pelas lesões observadas no tecido dos animais imunizados.

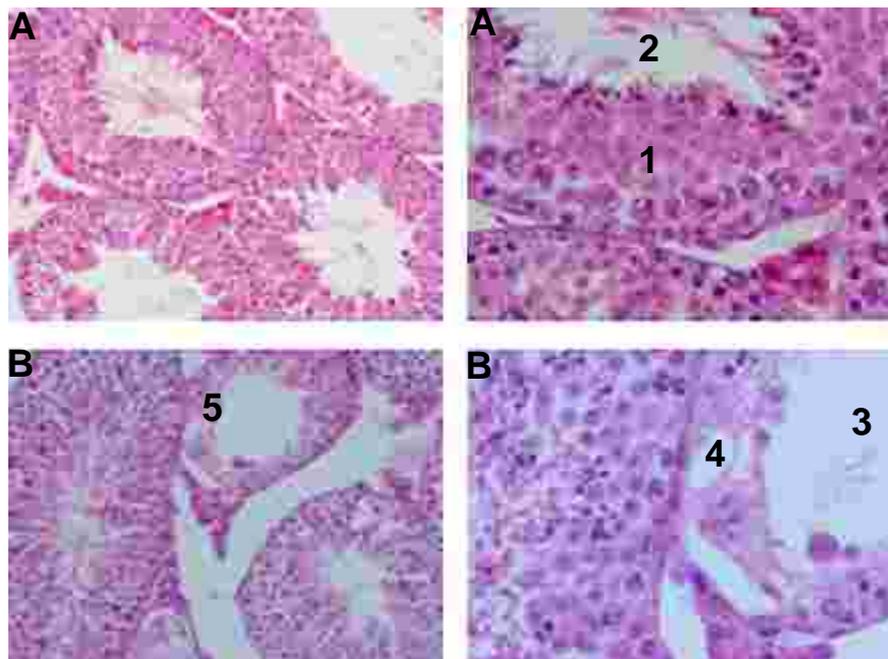


Figura 01. Avaliação histopatológica dos testículos dos camundongos. As imagens representadas pelas letras A e B, referem-se respectivamente ao grupo controle e ao grupo GnRH. Aumento de 400 e 1000 vezes, respectivamente.

Na figura 01, foi observada a presença de túbulos seminíferos normais (1) e alta concentração de espermatozoides (2) no grupo controle. No grupo GnRH, observou-se a presença de espermatócitos primários e secundários na luz tubular, presença de grânulos citoplasmáticos na superfície apical do epitélio seminífero, diminuição do número de espermatozoides (3) e vacuolização nos túbulos seminíferos (4). Pode-se também observar algumas áreas inflamatórias, com extensa infiltração leucocitária, demonstrada por alta concentração de plasmócitos, túbulos seminíferos em degeneração (5) com a presença desorganizada de espermatogônias e espermatócitos primários, apresentando espermatócitos secundários livres na luz tubular e diminuição do número de espermatozoides e espermátides. Já no interior dos túbulos seminíferos, pode-se observar espermatogônias, espermatócitos e espermátides com granulações

citoplasmáticas e vacuolizações no citoplasma, elevado número de células com núcleo picnótico, e reduzido número de células germinativas, principalmente espermatozoides, espermátides e espermátócitos secundários.

4. CONCLUSÕES

A proteína LTB/GnRH recombinante foi capaz de estimular a produção de anticorpos neutralizantes contra o GnRH, causando degeneração dos túbulos seminíferos de camundongos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARSON, F. L.; HLADIK, C.. Histotechnology. A self-introductional text. **ASCP American Society for Clinical Pathology Press**. 3ª edição, 2009. 400 p.

CHENG, C. K.; LEUNG, P. C. K.. Molecular Biology of Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH)-I, GnRH-II, and Their Receptors in Humans. **Endocrine Reviews**, v. 26, p. 283-306, 2005.

KIRKPATRICK, J. F.; ROWAN, A.; LAMBERSKI, N.; WALLACE, R.; FRANK, K.; LYDA, R.. The practical side of immunocontraception: zona proteins and wildlife. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 83, p. 151-157, 2009.

PARKINSON, R. J.; SIMMS, M. S.; BROOME, P.; HUMPHREYS, J. E.; BISHOP, M. C. A vaccination strategy for the long-term suppression of androgens in advanced prostate cancer. **European Urology**, v. 45, p. 171-174, 2004.

PEREIRA, J. L. **Expressão heteróloga da quimera LTB/GnRH sintética em *Pichia pastoris* e seu efeito na resposta imunológica e no epitélio seminífero de camundongos** / Juliano Lacava Pereira; orientador Fábio Pereira Leivas Leite. – Pelotas, 2011. – 64f. : il. color – Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Centro de Desenvolvimento Tecnológico. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

PURSWANI, S.; TALWAR, G. P. Development of a highly immunogenic recombinant candidate vaccine against human chorionic gonadotropin. **Vaccine**, v. 29, p. 2341–2348, 2011.

Report of the American Veterinary Medical Association. **Panel on euthanasia**. v. 218, nº 5, 2001. p. 696.

TALWAR, G. P., VYAS, H. K., PURSWANI, S.; GUPTA, J. C. Gonadotropin-releasing hormone/human chorionic gonadotropin beta based recombinant antibodies and vaccines. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 83, p.158-63, 2009.

TUYTTENS, F. A. M.; VANHONACKER, F.; LANGENDRIES, K.; ALUWÉ, M.; MILLET, S.; BEKAERT, K.; VERBEKE, W. Effect of information provisioning on attitude toward surgical castration of male piglets and alternative strategies for avoiding boar taint. **Research in Veterinary Science**. doi:10.1016/j.rvsc.2011.01.005, 2011.

