

CLÍNICA MÉDICA Y QUIRÚRGICA DE PEQUEÑOS ANIMALES

EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE TESTÍCULOS FELINOS EXPUESTOS A UN PROTOCOLO CONTRACEPTIVO DE RTI 4587-073 (L)

D'FRANCISCO, Florencia^{1,2}; LÓPEZ MERLO, Mariana^{1,2}; VERCELLINI, Rosario^{2,3}; BLANCO, Paula^{2,3}; ARIAS, Daniel³; GOBELLO, Cristina^{1,2}

1-Laboratorio de Fisiología Reproductiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP)

2-CONICET

3-Laboratorio de Diagnóstico por Imágenes, Hospital Escuela FCV-UNLP

florenciadfrancisco@gmail.com

INTRODUCCIÓN:

Los felinos domésticos son sumamente prolíficos y su sobrepoblación constituye un problema sanitario, social y medio ambiental *tanto* a nivel nacional como internacional (Romagnoli 2010). A pesar de que existen numerosos métodos para el control de la reproducción, ninguno ha demostrado ser inocuo, rápido, y efectivo para el macho felino.

Las indenopyridinas, originalmente desarrolladas como antihistamínicos, han mostrado efectos antiespermatogénicos rápidos y potentes en equinos (Pozor *et al.* 2013) y caninos (Chang *et al.*, 2002), sin efectos secundarios (Chang *et al.*). Las indenopyridinas, causan disrupción de la adhesión entre las células de Sertoli con las células germinales, lo que produce una liberación prematura de células germinales inmaduras, sin daño en las espermatogonias (Hild *et al.*, 2001, 2007, Koduri *et al.*, 2008). **El objetivo** de este trabajo fue evaluar los efectos histológicos de la indenopiridina RTI-4587-073 (I) en el testículo felino.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se utilizaron 12 testículos provenientes de gatos machos adultos mestizos de 1,5 a 5 años de edad. Los mismos fueron tratados, al día 0, con una única dosis oral de RTI 4587-073 12,5 mg/kg y hemiorquiectomizados los días -14 (n=2), 1 (n=2), 7(n=2), 14 (n=2) 35 (n=2) ó 42 (n=2).

Las gónadas se midieron (largo y ancho; cm), pesaron (g), se calculó el volumen (cm³; Lin y col., 2009) y el índice gonadosomático (%; Franca y Godinho, 2003). Posteriormente se procesaron mediante técnicas histológicas de rutina y teñidos con hematoxilina y eosina. De cada testículo, se analizó la estructura histológica general y de 20 perfiles tubulares se midió el diámetro tubular (µm), área (µm²) y la altura del epitelio germinal (µm; Image Pro Plus v6.0 (Media Cybernetics, Silver Spring, MA, USA). Todos los parámetros se compararon entre los días -14, 1, 7, 14, 35 y 42 mediante ANOVA de una vía seguido por un test de Tukey. Los resultados se expresaron como la media ± SEM y el nivel de significancia fue fijado en p<0,05.

RESULTADOS:

El estudio macroscópico de los testículos reveló que el peso testicular (2,39±0,131 vs. 1,977±0,032 vs. 1,867±0,177 vs. 1,87±0,201 vs. 2,075±0,347 vs. 2,2795±0,408; p>0,1), el largo (1,918±0,136 vs. 1,866±0,066 vs. 1,95±0,119 vs. 1,733±0,145 vs. 1,9±0,1 vs. 1,85±1,15; p>0,1), ancho (1,568±0,136 vs. 1,391±0,095 vs. 1,325±0,143 vs. 1,133±0,145 vs. 1,45±0,05 vs. 1,5±0,1; p>0,1), el volumen (3,232±0,624 vs. 2,567±0,311 vs. 2,672±0,486 vs. 1,85±0,531 vs. 2,739±0,38 vs. 2,715±0,612; p>0,1) y el índice gonadosomático (0,099±0,002 vs. 0,091±0,003 vs. 0,078±0,006 vs. 0,084±0,011 vs. 0,087±0,013 vs. 0,097±0,023; p>0,1) no difirieron entre los días -14, 1, 7, 14, 35 y 42, respectivamente.

La evaluación microscópica mostró una estructura histológica normal en el grupo -14, mientras que una desorganización de la citoarquitectura del epitelio seminífero se observó principalmente el día 1, con presencia de células germinales inmaduras y detritus celulares en la luz tubular para luego desaparecer hacia el final del estudio.

El diámetro tubular fue menor el día 1 que el día -14 ($168,446 \pm 16,632$ vs. $194,659 \pm 29,805$; $p < 0,01$), como así también menor que al día 7 ($168,446 \pm 16,632$ vs. $196,345 \pm 30,002$; $p < 0,01$) y al día 14 ($168,446 \pm 16,632$ vs. $198,954 \pm 31,065$; $p < 0,01$). El área tubular fue menor al día 1 que al día 7 ($22710,324 \pm 7348,7$ vs. $30642,225 \pm 9437,7$; $p < 0,01$) y al día 14 ($22710,324 \pm 7348,7$ vs. $31346,341 \pm 9288,1$; $p < 0,001$). Por último, la altura del epitelio germinal también mostró diferencias. Así, resultó menor al día 1 respecto al día -14 ($51,88 \pm 19,202$ vs. $66,007 \pm 11,281$; $p > 0,05$) y al día 7 ($51,88 \pm 19,202$ vs. $66,278 \pm 16,285$; $p > 0,05$)

DISCUSIÓN:

A nuestro conocimiento, éste es el primer estudio que describe el efecto de una única dosis oral de un derivado de indenopiridina en machos felinos domésticos con fines contraceptivos. Al igual que lo observado en equinos tratados de igual manera (Pozor et al 2013), no se observaron cambios macroscópicos de las gónadas. Los cambios microscópicos observados son coincidentes con los hallazgos en caninos (Chang et al 2002), en equinos (Pozor et al 2013), ratas y monos (Hild et al 2001, 2007), donde los túbulos seminíferos mostraron una marcada liberación de células germinales inmaduras hacia la luz tubular, permaneciendo en el epitelio las células de Sertoli y espermatogonias.

CONCLUSIONES:

Se concluye que una única dosis del derivado de indenopiridina induce cambios a nivel testicular, compatibles con rápida infertilidad. Queda abierta la posibilidad de nuevos trabajos que permitan el acertado diseño de un protocolo contraceptivo práctico y eficaz para la especie.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chang CL, Fung HP, Lin YF, Kuo CY, Chien CW. 2002 Indenopyridine hydrochloride induced testicular spermatogenesis failure with high seminal alkaline phosphatase levels in male dog. *Biol Pharm Bull.* 25(8):1097-100.
2. Franca LR, Godinho C. 2003. Morphometry, seminiferous epithelium cycle length, and daily sperm production in domestic cats (*Felis catus*). *Biol. Reprod.* 68, 1554-1561.
3. Hild SA, Reel JR, Dykstra MJ, Mann PC, Marshall GR 2007 Acute adverse effects of the indenopyridine CDB-4022 on the ultrastructure of Sertoli cells, spermatocytes, and spermatids in rat testes: comparison to the known Sertoli cell toxicant Di-n-pentylphthalate (DPP). *J Androl* 28:621–629
4. Hild SA, Reel JR, Larner JM, Blye RP 2001 Disruption of Spermatogenesis and Sertoli Cell Structure and Function by the Indenopyridine CDB-4022 in Rats. *Biology of Reproduction* 65(6):1771-1779.
5. Koduri S, Hild SA, Pessaint L, Reel JR, Attardi BJ. 2008 Mechanism of action of I-CDB-4022, a potential nonhormonal male contraceptive, in the seminiferous epithelium of the rat testis. *Endocrinology.* 149(4):1850-60.
6. Lin CC, Huang WJ, Chen KK. 2009 Measurement of testicular volume in smaller testes: how accurate is conventional orchidometer? *Androl* 30:685- 89.
7. Pozor MA, Macpherson ML, McDonnell SM, Nollin M, Roser JF, Love C, Runyon S, Thomas BF, Troedsson MH. 2013 Indenopyridine derivative RTI-4587-073(I): a candidate for male contraception in stallions. *Theriogenology* 80(9):1006-16.