

IMUNOSSUPRESSÃO EM TRANSPLANTE DE CÉLULAS GERMINATIVAS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (*Salmo salar*) EM TRUTA ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*)

Jacqueline Megumi Nakirimoto

MSc. Túlio Teruo Yoshinaga

Prof. Dr. José Roberto Kfoury Jr.

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / USP

jacqueline.nakirimoto@usp.br

Objetivos

Verificar a utilização e os efeitos imunossupressivos do tacrolimus em transplantes de células germinativas de salmão do Atlântico em truta arco-íris.

Métodos e Procedimentos

Testículos de truta arco-íris (*O. mykiss*) foram cultivados *ex vivo* e tratados com tacrolimus para verificar a interferência sobre as células do testículo, com os seguintes grupos: Controle, FK10 (10ng/ml), FK 100 (100ng/ml) e FK1000 (1000ng/ml). Testículos foram cultivados por 7 dias em estufa a 20°C e posteriormente coletados para análises histológicas. As células germinativas de salmão do Atlântico (*S. salar*) foram micro injetadas em truta arco-íris estéreis e tratados com tacrolimus. Três grupos de concentrações, 0,5, 1,5 e 4,5 mg/kg foram administradas por via oral e um não recebeu tratamento algum. Amostras foram colhidas para análises histológicas e de expressão gênica. Após a maturação sexual, sêmen dos animais transplantados foram coletados para análises de PCR com marcador específico do gene do hormônio anti-Mülleriano (*amh*) para salmão do Atlântico.

Resultados

As análises histológicas não revelaram nenhuma alteração patológica sobre as células germinativas do testículo.

Após a maturação sexual dos animais transplantados, dois animais um do grupo tratado com 0,5 mg/kg e 1,5 mg/kg de tacrolimus apresentaram a presença do marcador de salmão do Atlântico, que não foi observado no grupo controle e no grupo tratado com 4,5 mg/kg de tacrolimus.

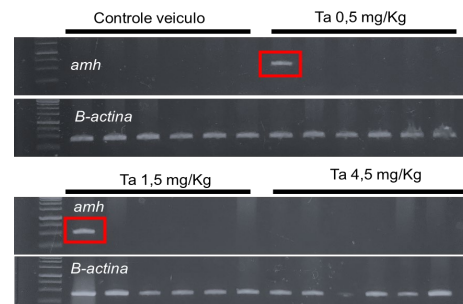


Figura 1. Screening da amplificação do *amh* em amostras de sêmen coletada de animais transplantados. O gene B-actina foi usado como controle endógeno

Conclusões

O tacrolimus aparentemente não causou alterações patológicas sobre as células germinativas em modelo *ex vivo* e pode ser administrado oralmente para alevinos por meio da ração. Em relação ao efeito do tacrolimus em transplantes de células germinativas, existe uma aparente diferença entre os indivíduos tratados.

Referências Bibliográficas

YOSHIZAKI, G.; YAZAWA, R. Application of surrogate broodstock technology in aquaculture. **Fisheries Science**, v. 85, n. 3, p. 429–437, 2019.

IMMUNOSUPPRESSION IN TRANSPLANTATION OF ATLANTIC SALMON GERMINATIVE CELLS (*Salmo salar*) IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*)

Jacqueline Megumi Nakirimoto

MSc. Túlio Teruo Yoshinaga

Prof. Dr. José Roberto Kfoury Jr.

School of Veterinary Medicine and Animal Science / USP

jacqueline.nakirimoto@usp.br

Objectives

Verify the viability and immunosuppressive effects of tacrolimus in transplants of Atlantic salmon germ cells in rainbow trout. Check the production of donor-derived gametes from transplanted cells.

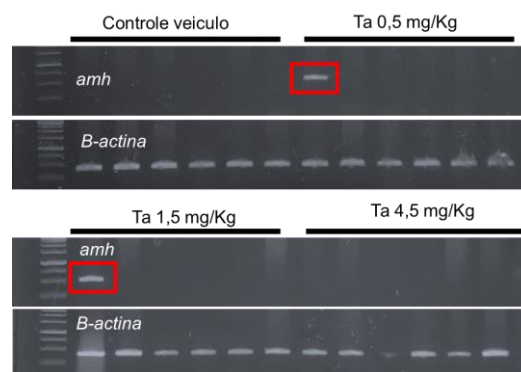
Materials and Methods

Testis from rainbow trout (*O. mykiss*) and Atlantic salmon (*S. salar*) were cultured *ex vivo* and treated with tacrolimus with the following groups: Control, FK10 (10ng/ml), FK 100 (100ng/ml) and FK1000 (1000ng/ml). Testis explants were cultured for 7 days at 20°C and later collected for histological analysis. Then, Atlantic salmon germ cells were micro injected into newly hatched sterile rainbow trout and treated with tacrolimus. Three groups were treated orally with tacrolimus at 0.5, 1.5 and 4.5 mg/kg, respectively and one remained without any treatment. Samples were collected for histological analysis and gene expression. After sexual maturation, sperm from the transplanted animals were collected for PCR analysis with specific markers for the presence of the *amh* gene of Atlantic salmon.

Results

Histological analyzes did not reveal any pathological changes on the cells from the testis fragments. After sexual maturation of the transplanted animals, some animals produced semen, that was collected for PCR analysis to check for the presence of gametes derived from Atlantic salmon cells. Two animals, one from the group treated with 0.5 mg / kg and 1.5 mg / kg of tacrolimus, showed the presence of the

Atlantic salmon marker, that was not observed in the control group and in the group treated with 4.5 mg / kg of tacrolimus. Regarding the transplanted rainbow trout females, none of them has produced gametes to date.



Caption 01 - Screening of *amh* amplification in semen samples collected from transplanted animals. The B-actin gene was used as an endogenous control

Conclusions

Tacrolimus apparently did not cause pathological changes on germ cells in *ex vivo* model and can be administered orally to fingerlings through feed. Regarding its immunosuppressive effect in germ cell transplantation, there is an apparently difference between the treated individuals.

References

YOSHIZAKI, G.; YAZAWA, R. Application of surrogate broodstock technology in aquaculture. Fisheries Science, Vol. 85, n. 3, p. 429–437, 2019.