

## EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN NUTRICIONAL SOBRE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR DE LEPTINA EN EL TESTÍCULO DEL CARNERO

Genovese, P<sup>1</sup>; Meikle, A<sup>2</sup>; Viñoles, C<sup>3</sup>; Van Lier, E<sup>4</sup>; Gil, J<sup>5</sup>; Olivera, J<sup>6</sup>; Bielli, A.<sup>1</sup>

Area de Histología y Embriología<sup>1</sup>, Laboratorio de Radioinmunoanálisis<sup>2</sup>, Facultad de Veterinaria, INIA Glencoe<sup>3</sup>,  
Facultad de Agronomía<sup>4</sup>, Área de Ovinos y Lanar (Paysandú)<sup>5</sup>, DILAVE Paysandú<sup>6</sup>.  
patriciagenovese@gmail.com

### Resumen

Para demostrar el efecto de la suplementación sobre la expresión del receptor de leptina en células de Leydig, 16 carneros Merino fueron manejados a campo natural (n=8) o campo natural con suplemento de concentrados (n=8). Los animales fueron castrados en junio, sus testículos muestreados y procesados para histología. Los preparados resultantes fueron tratados con anticuerpo antireceptor de leptina y revelados con diaminobencidina. En nuestro ensayo no encontramos diferencias en la inmunoposibilidad de receptor de leptina en las células de Leydig de carneros mantenidos en distintos manejos nutricionales.

### Introducción

La contribución del carnero a los bajos índices de procreo de la majada es un aspecto considerado con escasa frecuencia, sin embargo es determinante de la fertilidad y prolificidad de las ovejas (Blockey y Wilkins, 1984). La producción espermática es primariamente una función del peso testicular, donde cada gramo de testículo produce 10-20 millones de espermatozoides por día (Cameron y col., 1987, Cameron and Tilbrook, 1990). Los ovinos viven en ambientes que son complejos y están en continuo cambio, por lo que tienen que responder a variaciones de corto y largo plazo en una variedad de factores, uno de los más importantes es la nutrición (Martin y col., 2004). La leptina es una hormona secretada por los adipocitos identificada en plasma en rumiantes por vez primera en el 2000. Tiene importantes funciones en la regulación del apetito, el metabolismo corporal y la actividad reproductiva. Si bien las acciones centrales de la leptina en el eje reproductivo son las más reconocidas, un número creciente de estudios reportan su acción periférica, es decir, directamente sobre gonadas y tracto genital. Recientemente nuestro equipo ha reportado la presencia de receptor de leptina (ROb) en las células intersticiales de Leydig del carnero (Genovese y col., 2007). El objetivo del presente trabajo fue evaluar si existe diferencia en la inmunoposibilidad al ROb en células de Leydig de carneros mantenidos a campo natural con o sin suplementación.

### Materiales y Métodos

El experimento fue realizado a partir de marzo 2005 (INIA Glencoe, ruta 26, Paysandú) con carneros Merino de 17 meses de edad. Fueron manejados a campo natural (Grupo Bajo, n=8, 4 animales/ha) o a campo natural con suplemento (n=8 animales/ha más suplemento de concentrados 0.75% del peso vivo/7día, 70% sorgo y 30% harina de soja, Grupo Alto, n=8).

Tras 14 semanas de tratamiento diferencial, los animales fueron castrados en junio (período de menor desarrollo testicular). Los carneros fueron pesados, luego de la castración sus testículos fueron pesados y muestreados para histología. Las muestras fueron fijadas en solución fijadora de Bouin, deshidratadas en etanol (50°, 70°, 95° y 100°), sumergidas en cloroformo e incluidas en parafina. Las secciones histológicas (5mm) fueron tratadas por inmunohistoquímica para detectar presencia y distribución de ROb. Se utilizó un anticuerpo primario monoclonal de ratón antihumano, antiROb y un kit comercial (Vectastain, Santa Cruz, CA, USA), revelado con diamino benzidina (DAB). El control negativo no evidenció tinción con la DAB. La inmunoposibilidad se evaluó con microscopio óptico (BX50, Olympus, Japón a un aumento final de 2500x). La variable estudiada fue la inmunoposibilidad en el citoplasma de las células de Leydig.

La positividad de la técnica antedicha se evaluó en 10 campos de microscopio a 400x, evaluando la positividad de las células epiteliales por medio de una escala semicuantitativa clásica por intensidad de color (IC): 0 – sin color, 1 – débil, 2 – moderado, 3 – intenso. La positividad fue luego cuantificada calculando el score de positividad:  $1 \times n \text{ (IC1)} + 2 \times n \text{ (IC2)} + 3 \times n \text{ (IC3)}$  donde n = número de células exhibiendo IC = 1, 2 o 3, expresado en % (Boos, 1996). Los resultados fueron expresados como media  $\pm$  s.e.m. Las medias grupales fueron comparadas por prueba de t ( $P < 0.05$ ).

### Resultados

No hubo diferencias (n.s) en el score de positividad de las células intersticiales de Leydig al ROb entre los grupos experimentales: campo natural (Grupo Bajo)  $1,08 \pm 0,10$  vs campo natural con suplemento (Grupo Alto)  $1,04 \pm 0,07$ .

### Discusión y Conclusiones

Hasta donde sabemos este es el primer estudio vinculando la intensidad de la inmunoposibilidad al ROb en células de Leydig con el manejo nutricional en carneros. Sin embargo, su presencia no parece estar afectada por el tratamiento propuesto en nuestro experimento.

Una explicación para esto podría estar en la época en que se tomaron las muestras, teniendo en cuenta que el final del mes de junio cae en el período de menor actividad testicular a lo largo del año. Otro factor que probablemente incida es que el testículo es mucho más sensible a cambios en el plano nutricional que provoquen anabolismo o catabolismo que a diferencias en planos nutricionales que provoquen diferencias en peso vivo estables a lo largo del tiempo.



En conclusión, la suplementación con concentrado no afecta la expresión de receptor a leptina a nivel de las células intersticiales de Leydig en carneros mantenidos a campo natural con o sin suplemento, al menos en las condiciones que hemos estudiado.

---

---

### Summary

---

---

In order to evaluate the effect of concentrate supplement on leptin receptor expression in testicular Leydig cells, 16 Merino rams were run either on native pasture (n=8) or on native pasture + grain concentrate (n=8). Rams were castrated in June and their testes sampled and processed for histology. The slides were treated with antibody anti leptin receptor and developed with diaminobencidine. We did not find differences in leptin receptor immunopositivity in Leydig cells from rams run on either native pasture or native pasture + grain supplement.

---

---

### Bibliografía

---

---

Boos J. A new magnetic resonance imaging analysis method for the measurement of disc height variations. Spine.

1996 1; 21(5): 563-70.

Blockey MA, de B, Wilkins JF, 1984. Field application of the ram serving capacity test. *Reproduction in sheep*. D. R. Lindsay and D. T. Pearce, Australian Academy of Science Australian Wool Corporation: 53-58.

Cameron AWN, Tilbrook AJ, Lindsay DR, Fairnie IJ, Keogh EJ, 1987. The number of spermatozoa required by naturally mated ewes and the ability of rams to meet the requirements. *Animal Reproduction Science* 13: 91-104.

Cameron AWN, Tilbrook AJ, 1990. The rate of production of spermatozoa by rams and its consequences for flock fertility. In: *Reproductive physiology of Merino sheep. Concepts and Consequences*. Eds: Oldham CM, Martin GB, Purvis IW. School of Agriculture, The University of Western Australia, Perth, Australia pag: 131-141.

Martin GB, Rodger J, Blache D, 2004. Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development* 16: 491-501.