

## Evaluación de la expresión de TGF- $\beta$ 1 bajo la influencia de ACTH durante el periodo preovulatorio en bovinos

Peust, C.S.<sup>1</sup>; Barale, J.<sup>1</sup>; Amweg A.N.<sup>1</sup>; Salvetti, N.R.<sup>1,2</sup>; Ortega, H.H.<sup>1,2</sup>; Matiller, V.<sup>1,2</sup>; Hein, G.J.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina. / <sup>2</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias del Litoral, UNL, Esperanza, Santa Fe, Argentina. / <sup>3</sup> Centro Universitario Gálvez, UNL, Gálvez, Santa Fe, Argentina.

e-mail: [cspargentina@gmail.com](mailto:cspargentina@gmail.com)

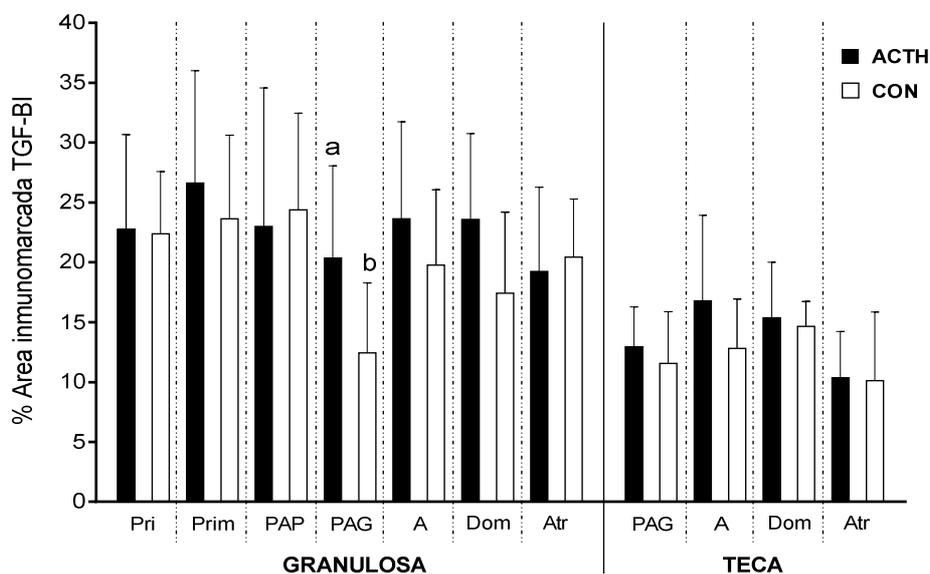
La superfamilia del factor de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) está compuesta por proteínas multifuncionales. Ciertos miembros se expresan en el folículo ovárico, tanto en el ovocito como en las células somáticas que lo acompañan, ejerciendo una acción regulatoria autocrina y paracrina vinculada a la maduración folicular. En estudios previos hemos observado que la expresión de las isoformas TGF- $\beta$ 1, 2 y 3, se encuentra alterada en animales con enfermedad quística ovárica (COD) y puede tener un rol importante en patogénesis de la enfermedad<sup>1</sup>.

Las vacas lecheras de alta producción se encuentran expuestas a períodos de estrés a lo largo de las etapas productivas y reproductivas. Además, la activación del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal puede provocar trastornos a nivel reproductivo a través de las acciones de la ACTH y el cortisol, afectando la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Trabajos previos de nuestro grupo han demostrado que la pared folicular bovina es capaz de responder frente al estímulo de ACTH con cambios en la secreción de esteroides, incluyendo una mayor liberación de cortisol, lo que sugiere que este último posee un rol local en la patogenia de la COD y en la función ovárica en bovinos<sup>2</sup>. Por lo anteriormente expuesto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la expresión proteica del ligando TGF- $\beta$ 1 durante las diferentes etapas del desarrollo folicular en el ovario bovino, luego de la administración de ACTH durante el proestro.

Se utilizaron 12 vacas de la raza Holando Argentino, sobre las que se efectuó el protocolo de presincronización G-6-G para luego realizar la administración de dos dosis separadas (12 h) de PGF2 $\alpha$  a los 7 días de la última administración de GnRH<sup>3</sup>. Al momento de la primera administración de PGF2 $\alpha$  los animales se dividieron en dos grupos: a) ACTH (n=6), tratadas con 100 UI de ACTH cada 12 h<sup>4</sup>, y b) Control (n=6), tratadas con solución fisiológica cada 12 h. Para la obtención de los folículos preovulatorios se realizó la ovariectomía a las 36 h post-administración de PGF2 $\alpha$ . Para la determinación de la expresión de TGF- $\beta$ 1 en las muestras obtenidas, se realizó la técnica de inmunohistoquímica indirecta de acuerdo al protocolo descrito previamente por Matiller y col.<sup>1</sup>. La cuantificación se realizó mediante análisis digital de imágenes (% de área inmunomarcada). En ambos grupos se evaluaron las capas de la granulosa y de la teca interna de los folículos en crecimiento (primordiales, primarios, preantrales pequeños, preantrales grandes, antrales, antrales dominantes, atresicos). Se corroboró la especificidad del anticuerpo por Western blot.

Los datos obtenidos fueron evaluados mediante el programa estadístico SPSS 11.0.1 para Windows. Se realizó un análisis de los datos obtenidos por inmunomarcación de los distintos tipos foliculares aplicando pruebas paramétricas para la comparación de las distintas categorías foliculares mediante la prueba t de Student. Los resultados se expresan como media  $\pm$  desvío estándar ( $X \pm DS$ ).

Los resultados mostraron una expresión citoplasmática de TGF- $\beta$ 1 en todas las categorías foliculares estudiadas, tanto en células de la granulosa como en teca interna. La expresión proteica de TGF- $\beta$ 1 en las células de la granulosa de folículos preantrales grandes de animales tratados fue mayor respecto al de los controles ( $p < 0,05$ ).



**ACTH:** Grupo Tratado, **CON:** Grupo Control, **Pri:** folículos primordiales, **Prim:** folículos primarios, **PAP:** folículos preantral pequeños, **PAG:** folículos preantral grandes, **A:** folículos antrales, **Dom:** folículos dominantes, **Atr:** folículos atrésicos. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los resultados se expresan como  $X \pm DS$ .

Los resultados muestran una expresión constante de este ligando a lo largo de la foliculogénesis para ambos grupos evaluados, indicando la biodisponibilidad para cumplir su rol paracrino y autocrino en la regulación de la foliculogénesis, esteroidogénesis, entre otros. Resta la evaluación de otros ligandos de esta superfamilia y sus receptores los cuales en conjunto podrían cumplir un rol preponderante en la función ovárica normal así como en el desarrollo de distintos trastornos de la fertilidad en animales bajo estrés.

## Bibliografía

- 1- Matiller V, Stangaferro ML, Díaz PU, Ortega HH, Rey F, Huber E & Salvetti NR. 2014. Altered expression of transforming growth factor-beta isoforms in bovine cystic ovarian disease. *Reproduction in Domestic Animals*, 49: 813-823.
- 2- Amweg AN, Rodriguez FM, Huber E, Marelli BE, Gareis NC, Belotti EM, Rey F, Salvetti NR & Ortega HH. 2017. Detection and activity of 11 beta hydroxylase (CYP11B1) in the bovine ovary. *Reproduction*. 153(4):433-441.
- 3- Bello NM, Steibel JP & Pursley JR. 2006. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of ovsynch in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89: 3413-3424.
- 4- Biran D, Braw-Tal R, Gendelman M, Lavon Y & Roth Z. 2015. ACTH administration during formation of preovulatory follicles impairs steroidogenesis and angiogenesis in association with ovulation failure in lactating cows. *Domestic Animal Endocrinology*, 53: 52-9.