

RESUMEN DE TESIS DOCTORAL**Estudio del sistema kisspeptina y su papel en el inicio de la pubertad de la lubina europea (*Dicentrarchus labrax*): efecto de la restricción calórica en machos****Sebastián Escobar Aguirre**Directores:

Dr. Manuel Carrillo Estévez

Dra. Alicia Felip Edo

Defendida el 27 de octubre de 2015 en la Universidad de Barcelona

Realizada en el Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (IATS-CSIC)

Mención *cum laude***Resumen**

La lubina europea (*Dicentrarchus labrax*), un pez marino de interés comercial en España, presenta en las poblaciones bajo condiciones de cautividad una elevada proporción de machos con respecto a la de hembras, un crecimiento dimórfico a favor de las hembras, así como un elevado porcentaje de individuos que acusan una pubertad temprana. Éste es el caso de los machos que, aunque su edad de maduración corresponde al segundo año de vida, durante el primer año de vida entre 20-30% en la población son precoces. Esta situación lleva asociada tasas de crecimiento menores en el caso de los individuos precoces y, en consecuencia, grandes pérdidas económicas para las industrias del sector. Teniendo en cuenta estos antecedentes, y dada la estrecha relación existente entre el sistema reproductivo y el balance energético en los vertebrados, incluyendo los peces, resultó imperativo dilucidar y comprender los mecanismos moleculares y fisiológicos que operan en el control metabólico de la reproducción en la lubina europea. Estudios iniciales en esta especie habían demostrado que la restricción nutricional alteraba de manera significativa ciertos parámetros reproductivos relacionados con la calidad de los gametos y de las puestas.

En este contexto, la propuesta de mi tesis doctoral tuvo dos objetivos específicos. Por un lado, y desde un punto de vista molecular, el primer propósito fue realizar la caracterización neuroanatómica de un nuevo protagonista en el eje reproductivo en vertebrados, el sistema kisspeptina, formado por dos ligandos (los genes *kiss1* y *kiss2*) y dos receptores (los genes *kissr1* y *kissr2*) en el caso de la lubina. Por otro lado, mi segundo objetivo fue dilucidar el papel de las kisspeptinas en el inicio de la pubertad en machos de esta especie tras un tratamiento de restricción nutricional prolongada. Con el primero de los objetivos se consiguió por primera vez conocer la distribución a nivel cerebral del sistema kisspeptina en un teleosteo marino (Escobar y cols., 2013a; 2013b). Los resultados obtenidos demostraron claramente que las neuronas *gnrh* presentes en el área preóptica de la lubina no expresaban los receptores específicos (*kissr*) para las neuronas *kiss*. Una situación distinta a la descrita hasta entonces en mamíferos, y que ponía de manifiesto que, presumiblemente en peces existen otros mecanismos de interacción entre los sistemas kisspeptina y *gnrh* a nivel del eje reproductivo. Por otro lado, el efecto de una restricción calórica durante los estadios juveniles en la lubina nos permitió conocer el impacto que un balance energético no adecuado tiene sobre la reproducción de esta especie. Con este propósito, se abordaron dos estrategias experimentales *in vivo*. La primera de ellas consistió en la estabulación de un lote de animales a una restricción nutricional utilizando dietas restrictivas de 1/4 y 1/8 respecto a la ingesta del grupo control durante 6 meses (julio a diciembre). La segunda en cambio, consistió en la administración prolongada de una restricción energética de mantenimiento (abril año 1 a junio año 2), utilizando un porcentaje de la biomasa (0,35%) del grupo control para determinar la ingesta del grupo experimental. Ambos estudios demostraron que la alteración del balance energético al que estaban sometidos los animales disminuía

ciertos parámetros biométricos como el peso corporal y el factor de condición de los individuos. No obstante, los animales mantenían su capacidad para iniciar la pubertad. De hecho, demostramos que los machos de lubina que estaban sometidos a condiciones de restricción nutricional presentaban una mejor calidad de los parámetros espermáticos (Escobar y cols., 2014). Esta situación sugirió que existía, por parte de los individuos de esta especie, una respuesta compensatoria para llevar a cabo la reproducción a pesar del desbalance energético al que habían sido sometidos. Este fenómeno quedó demostrado tras la administración del protocolo basado en una restricción nutricional prolongada, donde se observó que los animales experimentales eran capaces de sobreexpresar los componentes del sistema kisspeptina (*kiss1*, *kiss2*) en las principales regiones hipofisiotrópicas cerebrales (área preóptica, hipotálamo medio basal e hipófisis) durante todo el periodo reproductor (diciembre a febrero). Por otro lado, la expresión a nivel gonadal de los receptores de gonadotrofinas (*lhry* y *fshr*), el contenido hipofisario de *Gnrh1*, los niveles plasmáticos de esteroides sexuales (testosterona y 11-ketotestosterona) y de las gonadotrofinas (Lh y Fsh) fueron bajos, en general, durante todo el periodo reproductor. Sólo los niveles circulantes de Fsh fueron significativamente superiores en los animales experimentales durante la gametogénesis avanzada, además de los niveles de expresión de *lhry* y *fshr* que fueron significativamente superiores al de los controles durante la gametogénesis temprana (Escobar y cols., 2016). Asimismo, se pudo establecer que la Igf-I ejerce un papel relevante en la proliferación mitótica de las células germinales y por otro lado la leptina podría actuar como una señal de saciedad y adquisición energética en la lubina, puesto que existe una correlación positiva entre los índices plasmáticos de esta hormona con el contenido de grasa mesentérica (Escobar y cols., 2017). El conjunto de estos resultados apoya la idea de que en la lubina existe una estrategia hormonal adaptativa durante una restricción calórica severa y prolongada conducente a preservar la función reproductora en esta especie.

Palabras clave: espermatogénesis, *kiss1/kiss2*, hormonas reproductivas, balance energético, madurez sexual

Publicaciones de la Tesis

Enlace al documento completo: <http://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/68635>

Escobar, S., Felip, A., Guegen, M.M., Zanuy, S., Carrillo, M., Kah, O., Servili, A. (2013a). Expression of kisspeptins in the brain and pituitary of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *The Journal of Comparative Neurology* 521, 933-948.

Escobar, S., Servili, A., Espigares, F., Guegen, M.M., Brocal, I., Felip, A., Gomez, A., Zanuy, S., Kah, O. (2013b). Expression of kisspeptins and kiss receptors suggests a large range of functions for kisspeptin systems in the brain of the European Sea bass. *PlosOne* 8(7), e70177.

Escobar, S., Felip, A., Salah, M., Zanuy, S., Carrillo, M. (2014). Long-term feeding restriction in prepubertal male sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) increases the number of apoptotic cells in the testis and affects the onset of puberty and certain reproductive parameters. *Aquaculture* 433, 504-512.

Escobar, S., Felip, A., Zanuy, S., Carrillo, M. (2016). Is the kisspeptin system involved in responses to food restriction in order to preserve reproduction in pubertal male sea bass (*Dicentrarchus labrax*)? *Comparative Biochemistry and Physiology A* 199, 38-46.