

SITUAZIONE ORMONALE NEL CONIGLIO IN FASE PRE E POST-PUBERALE

Chiericato G.M., Marcomini F., Gomiero W., Ferrarin S., Velicogna L.

Istituto di Zootecnica - Università di Padova - Via Gradenigo 6 -
35100 PADOVA

Istituto di Semeiotica Medica - Università di Padova - Via Ospedale
Civile 105 - 35100 PADOVA

INTRODUZIONE

Le ricerche sugli ormoni androgeni nel coniglio hanno raggiunto, in particolare negli ultimi anni, uno sviluppo non trascurabile. Limitando l'esame ad alcune delle esperienze più significative si può ricordare come si siano studiate le variazioni giornaliere e stagionali (5,11), quelle indotte dall'accoppiamento (9) e quelle provocate dal condizionamento sperimentale (15). Altri contributi hanno considerato le modificazioni indotte in funzione dell'età (2,3).

La presenza di proteine vettrici, di cui è ben nota l'importanza nel controllare il livello periferico di androgeni biologicamente attivi, è stata oggetto, nella specie cunicola, di qualche contributo inteso a verificarne l'origine (7) e le caratteristiche chimiche e fisiche (8, 10).

Per quanto attiene i livelli plasmatici di ormoni estrogeni è da rilevare che, mentre non mancano informazioni relative alle femmine (4,6), per il maschio le indicazioni non risultano sufficientemente documentate.

Poichè la maggior parte delle acquisizioni in precedenza richiamate è riferita ad animali adulti, è parso interessante considerare nel presente lavoro, le variazioni nelle concentrazioni sieriche di testosterone e diidrotosterone, proteina vettrice ed estrogeni in epoca pre e postpuberale nel coniglio maschio.

MATERIALI E METODI

Nella ricerca si sono impiegati complessivamente 30 conigli maschi ottenuti da linee selezionate delle razze Nuova Zelanda e California. I soggetti

appartenevano a tre gruppi, di età pari a 50, 90 e 160 giorni. La prova si è svolta nei mesi invernali; i conigli erano allevati in gabbia singola senza impedire la ciecotrofia ed in ambiente caratterizzato da illuminazione naturale (9 ore di luce per giorno) e da 10-15°C di temperatura. Gli animali ricevevano mangime composto integrato in "pellets".

Il concentrato impiegato è stato sottoposto ad analisi chimiche tipo ed alla determinazione del calcio e del fosforo secondo metodi ufficiali (1). Il contenuto in proteina digeribile ed in energia lorda, digeribile e metabolizzabile del mangime è stato ottenuto sulla base dei dati di analisi e di equazioni di stima (13). Il prelievo di sangue è stato realizzato fra le ore 8 e 10 della mattina e per due giorni consecutivi, i dati riportati rappresentano quindi la media di due determinazioni. Il sangue ottenuto veniva lasciato sierare per 4 ore: il siero, separato per centrifugazione, era conservato a -20°C fino al momento dell'analisi. Il testosterone (T) è stato dosato con metodo radioimmunologico previa estrazione con etere dietilico usando testosterone marcato con tritio e separando la parte libera da quella legata con carbone-destrano. L'anticorpo cross-reagiva con il diidrotestosterone (DHT). L'estrone è stato determinato in modo analogo, estraendo con etere, impiegando estrone tritiato e separando la parte libera da quella legata con PEG 20%. La proteina vettrice è stata valutata indirettamente come dosaggio dei siti leganti il diidrotestosterone presenti nel siero. È stato usato diidrotestosterone marcato con tritio e le proteine sono state separate con solfato d'ammonio.

I dati ricavati dall'esperienza sono stati sottoposti ad analisi statistica (16).

RISULTATI E DISCUSSIONE

In tabella 1 vengono riportate le caratteristiche chimiche e nutritive del mangime. Le relative percentuali appaiono del tutto idonee a garantire ottimali condizioni di crescita per i soggetti dell'età e del peso considerati nel presente lavoro (12).

Dalla tabella 2 emerge che i conigli di 50-90 giorni di età ricevevano apporti giornalieri commisurati al peso metabolico e del tutto simili fra di loro. Le relative ingestioni appaiono in grado di assicurare buone pre-

stazioni di allevamento per contenuto di energia metabolizzabile ($662 \text{ kJ/P}^{0,75}$), proteina digeribile ($7,19 \text{ g/P}^{0,75}$), calcio ($0,92 \text{ g/P}^{0,75}$) e fosforo ($0,41 \text{ g/P}^{0,75}$). I soggetti del gruppo 160, in attività riproduttiva, erano sottoposti, come viene di regola attuato nella pratica di allevamento, ad un razionamento più spinto e assumevano quindi quantità di energia ($575 \text{ kJ/P}^{0,75}$), proteina ($6,24 \text{ g/P}^{0,75}$), calcio ($0,80 \text{ g/P}^{0,75}$) e fosforo ($0,36 \text{ g/P}^{0,75}$) minore, ma del tutto adeguate ad assicurare buone condizioni di funzionalità riproduttiva. In tutti i conigli in esperimento erano largamente soddisfatti i fabbisogni nutrizionali raccomandati dall'N.R.C. (12).

Per quanto concerne i pesi vivi i valori riportati risultano non molto elevati, soprattutto per i soggetti di 50 giorni. Al riguardo va rilevato che i coniglietti appartenenti a questo gruppo avevano subito un certo "stress" da svezzamento, evidenziato da una temporanea riduzione dei consumi, e quindi della crescita, verificatasi a trenta giorni di vita al momento del loro allontanamento dalla fattrice.

Nella tabella 3 vengono riportati i livelli sierici di T + DHT rilevati sugli animali in esperimento: i valori risultano significativamente ($P < 0,01$) diversi fra 50 e 90 giorni ($6,5$ vs $279,1 \text{ ng/100 ml}$) con modeste variazioni, rispetto all'età intermedia, dei soggetti del gruppo 160 ($239,9 \text{ ng/100 ml}$).

La concentrazione di T + DHT evidenziata a 50 giorni di età appare sensibilmente inferiore a quella riportata da altri AA. (2, 3). Questa discordanza può essere messa in relazione con la riduzione della sintesi di testosterone evidenziata in particolare nei mesi di gennaio-febbraio (11). E' inoltre da richiamare il già citato disagio, peraltro non infrequente a livello operativo, indotto nei coniglietti dal brusco svezzamento praticato che, come si è ricordato in precedenza ha determinato un episodico rallentamento sia della crescita che dei consumi alimentari degli animali. E' infatti sperimentalmente accertato l'effetto negativo che lo "stress" può esplicare a livello di sintesi ormonali (14).

Per quanto riguarda gli ormoni estrogeni, ed in particolare l'estrone si può notare come quest'ultimo non abbia fatto riscontrare differenze signifi

cative risultando in media pari a 93,6 pg/ml. Ciò lascia supporre che l'estrone nel coniglio non derivi direttamente od indirettamente dalle gonadi ma possa essere prodotto a livello surrenale.

Circa la proteina vettrice i valori riportati in tabella 3 mettono in luce una tendenza decrescente con concentrazioni che passano da 2,7 a 1,9 ed a 1,2 per gli animali di 50-90 e 160 giorni ($P < 0,01$). Le variazioni della capacità legante del siero rendono più complessa la valutazione del tasso di T + DHT in quanto è verosimile ritenere che a tale variazione corrisponda una parallela modificazione nel tenore di T + DHT liberi.

In merito al legame proteico con il testosterone va rilevato che nel coniglio è stata recentemente evidenziata la presenza di due protidi in grado di legare gli androgeni, uno sintetizzato nel testicolo ed un'altro di cui non è nota la sede di produzione (8).

CONCLUSIONI

I valori rilevati per gli androgeni hanno nell'insieme confermato i risultati ottenuti da altri AA. in conigli della stessa età e tipo genetico di quelli oggetto della presente esperienza.

Le concentrazioni sieriche di proteina vettrice hanno palesato un andamento analogo a quello degli androgeni, evidenziando una progressiva riduzione con l'avanzare dell'età degli animali in allevamento. Gli ormoni estrogeni hanno messo in luce una tendenza analoga anche se meno pronunciata.

Gli esiti ottenuti hanno fatto intravedere il ruolo che i fattori stressanti possono svolgere nel modificare i livelli ematici in ormoni androgeni. Su questa base, e per ricerche analoghe a quella realizzata, sembra significativo sottolineare l'importanza di una corretta effettuazione dello svezzamento che nel coniglio cade in una fase particolarmente delicata che precede di poco il sensibile aumento della sintesi e quindi della concentrazione ematica di androgeni.

BIBLIOGRAFIA

- 1) A.O.A.C. (1970) Official Methods of Analysis - Publ. A.O.A.C. P.O. Box 40 - Washington D.C.
- 2) Berger M., Chazaud J., Jean Faucher C., De Turckheim M., Veyssiere G., Jean C. (1976) Biology of Reproduction, 15,561
- 3) Berger M., Corr E.M., Jean Faucher C., DeTurckheim M., Veyssiere G., Jean C. (1979) Endocrinology, 104, 1450.

- 4) Caillol M., Dauphin Villemant C., Martinet C. (1983) J.Reprod. Fert. 69, 179.
- 5) Carson W.S., Amann R.P. (1972) J. Animal Sci., 34, 302.
- 6) Challis J.R.G., Davies I.J., Ryan KJ. (1973) Endocrinology, 93, 971.
- 7) Danzo B.G., Eller B.C., Orgebin Crist M.C. (1974) Steroids, 24, 107.
- 8) Danzo B.G., Taylor C.A., Eller B.C. (1982) Endocrinology, 111, 1278.
- 9) Haltmeyer G.C., Eik Nes K.B. (1969) J. Reprod.Fert., 19, 273.
- 10) Michelson K.E., Petra P.H. (1978) J. Biol. Chem., 253, 5293.
- 11) Moor B.C., Younglay E.V. (1975) J. Reprod. Fert., 42, 259.
- 12) N.R.C. (1977) Nutrients Requirements of Rabbits N.A.S.-Washington D.C.
- 13) Parigi Bini R., Dalle Rive V. (1975) Coniglicoltura, 2-3, 33.
- 14) Rose R.M., Gordon T.P., Bernstein I.S. (1972) Science, 178, 643.
- 15) Rowe P.H., Shelton J.C., Gløven J.D. (1973) Acta Endocr., Copenh., 177, 124.
- 16) Snedecor G.W., Cochran W.G. (1967) Statistical Methods-Iowa State University Press-Ames U.S.A.

SUMMARY

"Variations in peripheral levels of some steroid hormones during development in the rabbit".

Testosterone and dihydrotestosterone (T + DHT), estrone, serum binding protein (SBP) were assayed in the peripheral serum of rabbits at 50, 90 and 160 days of age.

The concentration of estrone remained between 97,3 and 83,5 pg/ml from 50 to 160 days. T+DHT reached its maximum at the 90th day (279 ng/100 ml). SBP significantly decreased from 50 (2,7 pg/ml) to 90 (1,9 pg/ml) and to 160 (1,2 pg/ml) days of age ($P < 0,01$).

RIASSUNTO

La prova aveva l'obiettivo di determinare il livello di testosterone e diidrottestosterone (T+DHT), di proteina vettrice e di estrone nel siero di conigli maschi California x Nuova Zelanda di 50-90 e 160 giorni di età.

Il livello sierico di estrone è passato da 97,3 a 83,5 pg/ml da 50 a 160 giorni senza manifestare differenze significative. T+DHT hanno presentato i valori più elevati a 90 giorni (279 ng/100 ml). La proteina vettrice ha palesato una significativa diminuzione in funzione dell'età riducendosi da 2,66 a 1,20, nell'ordine per gli animali di 50-90 e 160 giorni di età.

La ricerca è stata realizzata con contributo della Regione Veneto (L.R. 8-31.10.80)

Tabella 1 - Composizione e caratteristiche chimiche e nutritive del mangime sperimentale

Composizione			Caratteristiche chimiche e nutritive (media \pm DS)		
Farina di medica disidratata	%	48,0	Sostanza secca	%	89,30 \pm 0,14
Cruschello	"	13,0	Proteina grezza (N x 6,25)	"	16,97 \pm 0,02
Farina d'avena	"	11,0	Estratto etereo	"	3,30 \pm 0,04
Farina d'orzo	"	11,0	Fibra grezza	"	17,64 \pm 0,23
Farina di estrazione di soia	"	10,0	Ceneri	"	8,61 \pm 0,50
Melasso	"	2,5	Estrattivi inazotati	"	53,48 \pm 0,71
Fosfato bicalcico	"	2,0	Calcio	"	1,50 \pm 0,07
Carbonato di calcio	"	1,0	Fosforo	"	0,67 \pm 0,04
Cloruro di sodio	"	0,5	Energia lorda (**)	MJ/kg ss	17,92
Integratore (*)	"	1,0	Energia digeribile (**)	" "	11,74
			Energia metabolizzabile (**)	" "	10,80

(*) - Integrazione per kg = vit. A 20.000 UI; vit.D₃ 2.000 UI; vit.E 28 mg; vit.K₃ 3 mg; acido nicotinico 50 mg; calcio pantotenato = 13 mg; vit.B₁ 1,2 mg; vit.B₂ 6,5 mg; vit.B₁₂ 0,01 mg; colina cloruro 1000 mg; Mn 93 mg; Zn 110 mg; Fe 30 mg; Cu 10 mg; J 1,9² mg; Co 1,1 mg. Il mangime conteneva 1 e 0,15 g/kg di metionina e metilcloropindolo.

(**)- Stimata con metodo indicato nel testo.

Tabella 2 - Pesì vivi e consumi alimentari giornalieri.

		50	Età 90	160	Varianza errore	G.l.
N. di animali		10	10	10		
Peso vivo medio	kg	1,027 ^C	2,166 ^B	3,129 ^A	0,132126	27
p ^{0,75}	kg	1,019 ^C	1,779 ^B	2,359 ^A	0,005284	27
Consumi giornalieri:						
- Sostanza secca	g/P ^{0,75}	61,71 ^A	60,24 ^A	53,23 ^B	8,3675	27
- Energia metabolizzabile	kJ/P ^{0,75}	666 ^A	657 ^A	575 ^B	1107	27
- Proteina digeribile	g/P ^{0,75}	7,24 ^A	7,14 ^A	6,24 ^B	0,1305	27
- Calcio	g/P ^{0,75}	0,93 ^A	0,91 ^A	0,80 ^B	0,0021	27
- Fosforo	g/P ^{0,75}	0,41 ^A	0,41 ^A	0,36 ^B	0,0004	27

Le lettere maiuscole diverse indicano medie differenti per P<0,01.

Tabella 3 - Concentrazioni di T + DHT, proteina vettrice ed estrone del siero.

		50	Età 90	160	Varianza errore	G.l.
N. di animali		10	10	10		
T + DHT	ng/100 ml	6,5 ^B	279,1 ^A	239,9 ^A	10588,98	27
Proteina vettrice	ng/100 ml	2,7 ^A	1,9 ^B	1,2 ^C	0,12	27
Estrone	pg/ml	97,3	99,9	83,5	279,58	27

Le lettere maiuscole diverse indicano medie differenti per $P < 0,01$.