

AMINOÁCIDOS EXCITADORES, ACTIVIDAD OVÁRICA Y LA FUNCIÓN DEL EJE SOMATOTRÓPICO EN CABRAS

C. A. Meza Herrera¹, V. Rivas Ibarra¹, J. G. Chávez Perches²,
H. Salinas González³, J. Urrutia Morales.³

¹ Unidad Regional Univesitaria de Zonas Áridas. Universidad Autónoma Chapingo. A.P. 8, Bermejillo, Durango. México. 35230.cmeza2000@hotmail.com

² Gabinete de Radiodiagnóstico y Ultrasonografía. Torreón, Coahuila.

³ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

RESUMEN. Se evaluó el efecto de la suplementación de aminoácidos excitadores sobre la actividad ovárica total (AOT), considerando sus componentes folículos totales (FT) y cuerpos lúteos totales (CLT), así como los niveles séricos de la hormona del crecimiento (GH) y los factores de crecimiento análogos a insulina tipo 1 (IGF-I) en cabras. La investigación se realizó en noviembre del 2003 en la Unidad de Investigación Caprina Sur, URUZA-UACH, localizada entre los 25° LN y 103° LO, a 1,117 msnm, durante los meses de octubre a diciembre, bajo condiciones naturales de luz. Las cabras (n=22) fueron aleatoriamente distribuidas en dos grupos experimentales, 1). Aminoácidos excitadores (AAE; n=10, PV=45.8±4.3 kg), y 2). Control (CONTROL, n=12, PV=46.2±5.8 kg), recibiendo una dieta base de heno de alfalfa (14% PC; 1.14 Mcal kg⁻¹ ENm), y ensilado de maíz (8.1% PC; 1.62 Mcal kg⁻¹ ENm), con agua, sales minerales y sombra a libre acceso. Una vez sincronizadas mediante esponjas vaginales, al grupo AAE se aplicaron 7 mg kg⁻¹ PV de L-Glutamina (i.v.) los días 1, 9, 14 y 17 después del estro. Posteriormente, durante la fase folicular media, se realizó un muestreo intensivo de sangre durante 6 h x 15 min en ambos grupos para evaluar mediante RIA el nivel sérico de GH e IGF-I, así como la pulsatilidad (GH-PULSE) y área bajo la curva de GH (GH-AUC). Durante la fase lútea tardía (d 19) se realizó un análisis ultrasonográfico evaluando el número de FT, CLT y la AOT (FT+CLT). Los resultados indican que los promedios globales para FT, CLT y AOT fueron 4.5, 3.03 y 7.47, respectivamente. Mientras que el número de FT no difirió (P=0.8) entre tratamientos, tanto los CLT como la AOT favorecieron (P=0.07) al grupo AAE. Ni los niveles séricos de GH o IGF-1, ni el patrón de secreción de GH considerando GH-PULSE y GH-AUC difirieron (P>0.6) entre tratamientos. La suplementación de glutamato aunque promovió un incremento en la actividad ovárica total, no generó diferencias entre tratamientos respecto a los niveles séricos de GH ó IGF-1. El efecto positivo de suplementar dicho neurotransmisor pudo considerar un efecto sobre alguna otra señal endocrina ya sea gonadotrópica o metabólica, u otra ruta neuroendocrina no dependiente del la acción del eje somatotrópico GH-IGF-1.

Palabras clave: Cabras, Aminoácidos excitadores, actividad ovárica, hormona del crecimiento, factores de crecimiento.

SUMMARY. The effect of excitatory amino acid supplementation upon total ovarian activity (AOT) in goats, considering its components total follicle (FT) and total corpus luteum (CLT) number, as well as serum concentrations of growth hormone (GH) and insulin like growth factor-1 (IGF-1) was evaluated. This research was conducted in the Southern Goat Research Unit, URUZA-UACH, located between the 25° LN and 103° LO, at 1,117 m.a.s.l., during October to December, under natural photoperiod conditions. Goats (n=22) were randomly assigned to one of two experimental groups, 1). Excitatory amino acids (AAE; n=10, BW=45.8±4.3 kg), and 2). Control (CONTROL, n=12, BW=46.2±5.8 kg), receiving a basal diet of alfalfa hay (14% CP; 1.14 Mcal kg⁻¹ NEM), and corn silage (8.1% CP; 1.62 Mcal kg⁻¹ NEM), as well as free access to water, mineral salts and shades. Once estrually synchronized with vaginal sponges, goats from the AAE group received 7 mg kg⁻¹ BW of L-Glutamine (i.v.) on post-estrus days 1, 9, 14 and 17. Thereafter, during the middle follicular phase, an intensive bleeding (6 h x 15 min) was performed to evaluate by RIA the serum concentrations of GH and IGF-1, as well as both the pulsatility (GH-PULSE) and area under the curve (GH-AUC) of GH. During the late luteal phase (d 19) a transrectal ultrasonographic scanning was performed to evaluate FT, CLT and AOT (FT+CLT). Overall averages for FT, CLT and AOT were 4.5, 3.03 and 7.47, respectively. While FT did not differ (P=0.8) between treatments, both CLT and AOT values favored (P=0.07) to the AAE group. Neither serum GH and IGF-1 concentrations, nor the GH secretion pattern considering GH-PULSE and GH-AUC, differed (P>0.6) between treatments. Although glutamate supplementation promoted an increase in total ovarian activity, it did not generate differences between treatments regarding serum GH or IGF-1 concentrations. Therefore the positive effect to supplement goats with this neurotransmitter could had considered an effect upon any other endocrine signal, either metabolic or gonadotrophic, or another neuroendocrine pathway non dependent upon the action of the somatotropic axis GH-IGF-1.

Key words: Goats, excitatory amino acids, ovarian activity, GH, IGF-1.

INTRODUCCIÓN

La reproducción de pequeños rumiantes es generalmente entendida como generadora de productos de primera necesidad, sin embargo, potencialmente

podría estar orientada a la elaboración de productos de calidad, de origen natural, y con denominación de origen que los posicione con competitividad en el mercado respecto a otros productos similares (González *et al.*, 2003). Por lo anterior, la aplicación de programas

de manejo nutricional, reproductivo y de mejora genética es básica para conseguir un aumento en la producción y reducir la vulnerabilidad de estos sistemas de producción al efecto de los factores medio-ambientales (González *et al.*, 2003). La nutrición representa uno de los principales factores ambientales que influyen sobre la función y eficiencia reproductivas en los rumiantes. Lo cual ha implicado el desarrollo de numerosas investigaciones tendientes a identificar las condiciones y los mecanismos fisiológicos a través de los cuales este factor influye en la actividad reproductiva (Dunn y Moss, 1992).

Durante la última década se han logrado avances significativos para entender las rutas de señalamiento mediante las cuales interaccionan el sistema neural y el endocrino. Al respecto, se ha reconocido un rol preponderante de los aminoácidos excitadores como neurotransmisores involucrados en el control de la función del sistema nervioso central (SNC). El glutamato es reconocido como un aminoácido excitador que afecta los procesos fisiológicos debido a la existencia de un gran número de subtipos de receptores a glutamato en el SNC (Jarry *et al.*, 1992; Brann, 1995).

En el mismo sentido, las interacciones del eje somatotrópico cuyos componentes endocrinos incluyen a la hormona del crecimiento (GH), los factores de crecimiento análogos a insulina tipos I y II (IGF-I y IGF-II), así como las proteínas enlazadoras de IGF (IGFBP), juegan un rol esencial en la función ovárica. En la mayoría de los mamíferos, en el ovario, tanto los IGF-1 como la insulina estimulan la proliferación de las células de la teca y la granulosa, así como la mitogénesis y el sinergismo con las gonadotropinas para estimular la esteroidogénesis ovárica para la formación de folículos preovulatorios (Davidson *et al.*, 2002)

La GH juega papel importante en el crecimiento folicular al inicio de la etapa independiente de gonadotropinas y pudiera tener un efecto inhibitorio sobre las apoptosis o muerte celular programada que tiende a incrementar el proceso de atresia folicular. En el mismo sentido, la GH promueve la secreción de estradiol, IGF-I, oxitocina, IGFBP-3, con lo cual la GH regula en cierta medida la apoptosis folicular (Sirotkin y Makarevich, 1999).

El objetivo del presente estudio fue incrementar la actividad ovárica total medida como el número de folículos y cuerpos lúteos totales en respuesta a la suplementación del aminoácido excitador glutamato, y evaluar si dicho incremento en la actividad ovárica se

relaciona a incrementos en la actividad de eje somatotrópico en cabras.

MATERIAL Y METODOS

Localización del área experimental. El estudio se realizó en la Unidad de Investigación Caprina Sur, de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo. La Unidad se localiza en el municipio de Tlahualilo, Durango, entre las coordenadas geográficas 25° 53' 31.99" LN y 103° 36' 11.23" LO, a una altura de 1,117 msnm.

Condiciones ambientales. El clima es semidesértico extremo (Hernández, 1997; García, 1981). La temperatura media anual es de 22.3 °C, de Abril a Octubre la temperatura media mensual es superior a 20°C, y de Noviembre a Marzo, con rangos mensuales entre 13.6°C y 19.4°C. La precipitación promedio anual es de 217.1 mm.

Formación de los grupos experimentales. En el mes de noviembre bajo un fotoperíodo de días cortos, se realizó la formación de los grupos experimentales considerando a 22 cabras encastadas hacia Saneen y Alpina de 2 años y 10 meses de edad, con un peso promedio de 46.04 kg. Las cabras recibieron una dieta a base de heno de alfalfa (14% PC; 1.14 Mcal Kg.⁻¹ ENm), ensilaje de maíz (8.1% PC; 1.62 Mcal Kg.⁻¹ ENm) y maíz rolado ofreciendo el 100% de sus requerimientos nutricionales ajustados al peso vivo (NRC, 1985). El Cuadro 1 se muestra el contenido de materia seca (MS), aporte de energía neta para mantenimiento (ENm) y proteína cruda (PC) de cada uno de los ingredientes de la dieta ofrecida a las cabras durante el período experimental. Agua limpia y fresca, sales minerales y sombra fueron ofrecidas a libre acceso durante todo el período experimental, el cual tuvo una duración de 51 días. Los grupos experimentales fueron alimentados dos veces al día: por la mañana (0700) con heno de alfalfa, ensilaje de maíz, y maíz rolado por la tarde (1800) con la misma dieta, bajo condiciones naturales de luz observada en el mes de noviembre y diciembre del 2003.

Diseño experimental. Las cabras (n=22) fueron aleatoriamente distribuidas en dos grupos experimentales con peso vivo y condición corporal homogéneos. A cada grupo se le asignó en forma aleatoria uno de dos tratamientos: 1) Con suplementación de Aminoácidos excitadores (AAE, n=10, PV=45.8±4.37 kg), y 2) Control, sin suplementación (CONTROL, n=12; PV=46.2±5.87 kg). Las cabras del grupo AAE recibieron una infusión endovenosa los días 4, 8, 12 y 17 después del estro de 7 mg kg⁻¹ PV cabra⁻¹ de L-glutamato (C₅H₁₀N₂O₃, Merck, Germany). Las cabras del grupo CONTROL recibieron una aplicación de agua destilada estéril por vía endovenosa de 0.0875 ml kg⁻¹ PV al mismo tiempo que les fue administrado el tratamiento al grupo AAE.

Cuadro 1. Contenido de materia seca (MS), energía neta para mantenimiento (ENm, Mcal kg⁻¹) y proteína cruda (PC) de los ingredientes de la dieta ofrecida durante el período experimental.

Ingredientes	MS (%)	ENm (Mcal kg ⁻¹)	PC (%)
Heno de alfalfa	90	1.14	14.0
Ensilaje de maíz	33	1.62	8.1
Maíz roado	86	2.38	11.2

Preparación de la solución buffer. Se pesaron 4 g de L-glutamina (C₅H₁₀N₂O₃, Merck, Germany) en una balanza analítica y se disolvieron en 50 ml de agua destilada estéril. Debido a una limitada disolución del soluto, se combinó la L-glutamina con pequeñas cantidades de agua destilada hasta disolver completamente la cantidad del reactivo utilizado. Posteriormente la solución se ajustó a un pH neutro con HCL 0.1 N, la cual contenía 80 mg de L-glutamina ml⁻¹. Todo el proceso de preparación y manejo de la solución se realizó en un ambiente estéril.

Sincronización del estro. Previo a los muestreos, ambos grupos experimentales fueron estrualmente sincronizados mediante el uso de implantes de esponjas impregnadas de P4 que simularía la presencia de un cuerpo lúteo funcional, mediante el uso de un aplicador para la inserción de las esponjas vaginales (Chrono-gest Intervet-Internacional B.V., BOXMEER-HOLLAND). Nueve días posteriores a la colocación de la esponja se aplicó Cloprostenol (Prosolvín C^{MR}, Intervet International B. V., Boxmeer-Holland), que es análogo sintético de PGF_{2α}, a razón de 0.075 mg cabra⁻¹, con objeto de promover la regresión de cualquier cuerpo lúteo funcional que se encontrara presente en las cabras en estudio. Las esponjas fueron retiradas 2 días después de la aplicación de Cloprostenol. Lo anterior generó una disminución en los niveles séricos de progesterona, a la vez de un incremento en los niveles de estradiol y de la hormona luteinizante (LH) lo cual desencadenó la cascada hormonal que da lugar al proceso de ovulación.

Muestreo sanguíneo intensivo. Una vez ocurrida la primera ovulación, después de transcurrida la fase lútea y hacia la parte media de la fase folicular, en forma aleatoria fueron seleccionadas cinco cabras por tratamiento, para llevar a cabo un muestreo intensivo de sangre. Las muestras sanguíneas fueron colectadas de cada cabra por un período de 6 h a intervalos de 15 min mediante venopunción de la vena yugular utilizando

agujas estériles de 0.8 x 38 mm (Precision GlideTM, Becton & Dickson, NJ, USA) y tubos colectores estériles Vacutainer de 10 ml (Corvac, Sherwood Medical, St Louis, MO). Una vez en el laboratorio, las muestras se dejaron reposar 30 min a temperatura ambiente hasta observarse la formación de coágulo. Las muestras fueron centrifugadas a 1,500 x g durante 15 min. Cada muestra de suero con su replica fue colectada y almacenada en microtubos de polipropileno MCT-150C (Axygen^{MR} Scientific, INC., Union City, CA, USA) de 1.5 ml. y almacenados a una temperatura de -20^a C. En total se colectaron 25 muestras por cabras, 75 muestras por tratamiento, con un total de 300 muestras de suero originales, de las cuales se analizó el contenido de GH y IGF-I.

Quantificación de las hormonas del eje somatotrópico. Todas las muestras de suero colectadas durante el muestreo intensivo fueron evaluadas por su contenido de GH mediante radioinmunoanálisis según los procedimientos señalados por Hoefler y Hallford (1987) con un coeficiente de variación (CV) intraensayo de 9.4% y considerando un límite de detección de 0.2 ng ml⁻¹. Mientras que el área bajo la curva para GH (GH-AUC) fue determinada utilizando el procedimiento de sumatoria trapezoidal, la pulsatilidad de GH fue determinada mediante el programa Cluster para Análisis de Pulsos considerando un CV de 16.2%, 0.95 desviaciones estándar y un límite de detección de 2.15 ng (Velhús y Jonson, 1986).

Debido a que los Factores de Crecimiento Análogos a Insulina del Tipo I (IGF-I) no es una hormona pulsátil, las muestras colectadas a intervalo de 2 horas (3 muestras por cabra) fueron evaluadas mediante radioinmunoanálisis por su contenido de IGF-1, con un CV intraensayo de 10% y un límite de detección de 0.2 ng ml⁻¹. Todos los análisis hormonales fueron realizados en el Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Estatal de Nuevo México, EUA

Análisis ultrasonográfico de la actividad ovárica. En el día 17 posterior a la segunda ovulación se realizó el análisis ultrasonográfico, para evaluar la actividad lútea. Previo al análisis ultrasonográfico, las cabras fueron colocadas en una mesa de recumbencia dorsal, y sujetadas a la mesa por las extremidades anteriores y posteriores. Se utilizó un equipo Toshiba Medical Systems, Ltd, Crawley, UK con un transductor lineal de 7.5 Mhz para uso veterinario. Se aplicó gel obstétrico (Lubrel, Arnolds Veterinary Products, Ltd. USA) al transductor, el cual se colocó dentro de un preservativo estéril aplicando nuevamente gel fuera del guante para que actuara como lubricante al momento de penetrarlo. El transductor se introdujo en el recto del animal, avanzando hasta la línea media del recto, con el rastreador dirigido hacia la parte ventral del animal hasta que la vejiga y el útero fueran identificados (Griffin y Ginther, 1992; Dickie *et al.*, 1999).

Una vez localizadas ambas estructuras, una serie de rotaciones bilaterales fueron realizadas, mientras que el transductor se movía en dirección caudal hasta que ambos ovarios fueron localizados. Debido a los movimientos de la cabra, el movimiento generado en el tracto reproductivo dificultó el posicionar los ovarios en la parte media-lateral del útero. En dichos casos, los ovarios fueron identificados por la posición relativa de uno con respecto al otro (Dickie *et al.*, 1999). Todas las evaluaciones ultrasonográficas, fueron realizadas por un experimentado radiólogo, quien desconocía cualquier información previa de la cabra o del tratamiento al que fueron sometidas. El número de folículos y cuerpos lúteos identificados en los ovarios, mayores y menores a cinco milímetros, fue registrado y fotografiados (algunos), además de ser medidos mediante la técnica de ultrasonido.

Análisis estadístico. Los pesos corporales, condición corporal, así como la actividad ovárica total (AOT), considerando el número de folículos totales y cuerpos lúteos totales, fueron evaluados mediante un análisis de varianza para datos desbalanceados dentro de un diseño completamente al azar con dos tratamientos y 10 ó 12 repeticiones por tratamiento (Snedecor y Cochran, 1967). Las concentraciones séricas de GH y IGF-I fueron evaluados mediante ANOVA con un diseño completamente al azar con un arreglo de parcelas divididas para muestras repetidas en el tiempo. Los tratamientos (AAE y CONTROL) fueron incluidos en la parcela menor, usando el término cabra dentro de tratamientos para calcular el error. El tiempo de muestreo fue incluido en la parcela mayor. En caso requerido la separación de medias consideró la opción PDIFF para probar sus diferencias a través de la opción LSMEANS del procedimiento GLM (PROC GLM) del SAS (Littell *et al.*, 1991).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2, se muestran las medias de mínimos cuadrados para peso vivo inicial (PV), condición corporal inicial (CCI), peso vivo al ultrasonido (PVUS) y condición corporal al ultrasonido (CCUS) de cabras del grupo control (CONT) y suplementadas con aminoácidos excitadores (AAE). Dichas variables no difirieron ($P>0.05$) observándose un comportamiento homogéneo a través del tiempo tanto los pesos vivos como las condiciones corporales entre grupos experimentales.

Cuadro 2. Medias de mínimos cuadrados para peso vivo inicial (PVI, kg) y al ultrasonido (PVUS, kg), y condición corporal inicial (CCI, unidades) y al ultrasonido (CCUS, unidades) en los tratamientos AAE y CONTROL.

	AAE	CONTROL	NSO ¹	EE ²
PVI	45.3	45.1	0.93	1.4
CCI	3.1	2.9	0.14	0.08
PVUS	43.9	45.3	0.47	1.4
CCUS	3.3	3.3	0.76	0.08

¹ Nivel de significancia observado.

² Error estándar de medias de mínimos cuadrados más conservador.

En el Cuadro 3, se indican las medias de mínimos cuadrados para el número de folículos totales (FT, unidades), cuerpos lúteos totales (CLT, unidades) y la actividad ovárica total (AOT, unidades), en cabras de ambos grupos experimentales. El promedio general para el número FT fue de 4.4 ± 0.6 , donde el grupo AAE mostró el mayor número de FT ($p<0.05$) con respecto al grupo CONT. Con respecto al número de CLT no existieron diferencias ($P>0.05$) entre grupos, mientras que la AOT favoreció ($P=0.05$) que favoreció el grupo de AAE (8.2 vs. 6.3 unidades).

En el Cuadro 4, se muestran las medias de los mínimos cuadrados de las concentraciones séricas (ng ml^{-1}) de la GH y los IGF-I, así como área bajo la curva (GH-AUC) y los pulsos (GH-PULSE) observados durante un período de 6h de la GH. Tanto los niveles séricos de GH y el AUC-GH no difirieron entre tratamientos, $P=1.00$ y $P=0.98$, respectivamente. Por su parte la pulsatilidad de la GH y las concentraciones séricas de IGF-I no difirieron entre tratamientos, $P=0.63$ y $P=0.24$, respectivamente.

En el planteamiento inicial se consideró que la suplementación de aminoácidos excitadores incrementan la función celular gonadal en cabras adultas y promueven el incremento de la actividad ovárica total

Cuadro 3. Medias de mínimos cuadrados para folículos totales (FT, unidades), cuerpo lúteo total (CLT, unidades) y actividad ovárica total (AOT, unidades), en cabras suplementadas con aminoácidos excitadores (AAE) y sin suplementación (CONTROL) bajo fotoperíodo decreciente en la Comarca Lagunera (25° LN).

	AAE	CONTROL	NSO ¹	EE ²
FT	5.3 ^a	3.5 ^b	0.03	0.5
CLT	2.9 ^a	2.8 ^a	0.8	0.2
AOT	8.2 ^a	6.3 ^b	0.05	0.6

¹ Nivel de significancia observado

² Error estándar de la media de mínimos cuadrados

Cuadro 4. Concentraciones séricas de (GH) (ng ml⁻¹), pulsos (GH-PULSE, unidades) y área bajo la curva (GH-AUC, unidades²) de GH, y niveles séricos de IGF-I (ng ml⁻¹), en la fase folicular tardía de cabras suplementadas con aminoácidos excitadores (AAE) y cabras control (CONTROL) bajo fotoperíodo decreciente en la Comarca Lagunera (25° LN).

	AAE	CONTROL	NSO ¹	EE ²
GH	14.36	14.36	1.00	1.00
GHAUC	5245.9	5235.7	0.98	369.8
GHPULSE	1.6	1.2	0.63	0.5
IGF-I	298.4	248.2	0.24	28.9

¹ Nivel de significancia observado

² Error estándar de la media

así como la tasa ovulatoria. Tal efecto se planteó que estaría relacionado a una disminución en los niveles circulantes de GH y a un aumento en los niveles séricos de IGF-1. Los resultados del presente trabajo mostraron que las cabras tratadas con aminoácidos excitadores tuvieron una mayor actividad ovárica total (FT+CLT), aunque dicho efecto no fue relacionado a una mediación endocrina de la GH o los IGF-I, cuya concentración sérica no difirió en ambos tratamientos.

De acuerdo con los resultados encontrados existe un incremento en la actividad ovárica total, mas no así en los niveles circulantes de IGF-I y GH. Por lo que, se asume que el efecto positivo de la suplementación de glutamato sobre la actividad ovárica total pudo ser ejercido por algún otro mediador endocrino, ya sea gonadotrópico o metabólico. En el mismo sentido, el aumento en la AOT no puede ser relacionado a diferencias en el nivel de alimentación, diferencias en el peso vivo o en la condición corporal de las cabras en estudio ya que el nivel de alimentación fue el mismo a lo largo del periodo experimental y cubrió al 100% los requerimientos nutricionales de los animales.

Estudios realizados tanto en monogástricos como en rumiantes han reportado incrementos en los

niveles plasmáticos de GH mediante la administración de aminoácidos excitadores. En ovejas se observaron incrementos en la secreción de GH mediante la administración intravenosa de n-methyl-d,l-aspartate (NMDA), un potente agonista de glutamato y aspartato (Estienne *et al.*, 1990) así como en cerdas (Estienne *et al.*, 1996). El efecto de los AAE sobre la producción de GH, y por consiguiente sobre IGF-I, puede estar influenciado por la dosis de aplicación, el estado productivo del animal en incluso de la especie en estudio (Estienne *et al* 1990).

La estimulación del factor liberador de GH (GHRF) del núcleo arqueado (ARC) pareciera ser el principal mecanismo mediante el cual el NMDA estimula la liberación de GH. Ha y evidencias que demuestran que: 1) La liberación inducida de GH por NMDA puede ser bloqueada mediante la administración de anticuerpos de GHRF, 2) La destrucción del ARC, donde residen los cuerpos celulares neurales de GHRF, acaba completamente con la habilidad de NMDA de inducir la liberación de GH, y 3) El uso en ratas de antagonistas del receptor de NMDA causa una reducción en los niveles de RNAm de GHRF mientras los niveles de RNAm de somatostatina no son afectados (Darrel *et al.*, 1997; Mason *et al*, 1983)

La nutrición es uno de los factores que condicionan los niveles circulantes de GH, pues Buonomo y Baile (1991) observaron una elevación en los niveles plasmáticos de GH después de 48 h de restricción alimenticia, mientras que los niveles de IGF-I decrecieron en un 53% en cerdos. Mientras que la respuesta a la nutrición en la secreción de GH esta relacionada de forma inversa al plano nutricional, es decir, existe mayor secreción de GH cuando existen periodos de alimentación restringidos. De acuerdo a Foster et al., (1989), las concentraciones de GH en ovejas ovariectomizadas fueron altas cuando las ovejas fueron expuestas a un régimen de alimentación restringido, mientras una baja concentración de GH se presentó en ovejas con altos niveles de alimentación.

En el presente estudio, dicho efecto queda descartado ya que los niveles de GH no difirieron entre tratamientos, además de que la alimentación ofrecida a las cabras en estudio cubrió el 100% de los requerimientos nutricionales. En ratas, López et al. (1992) observaron aumentos en la actividad ovárica debido a un incremento en la liberación de la hormona luteinizante (LH) debido a inyecciones de aminoácido dicarboxílico L-glutamato (L-GLU) en ratas.

CONCLUSIONES

La aplicación endovenosa de 7 mg kg⁻¹ PV de L-glutamina, como sustrato para la biosíntesis del aminoácido excitador glutamato en los días 1, 9, 14 y 17 del ciclo estral, incrementó la actividad ovárica total en cabras adultas bajo fotoperíodo decreciente (noviembre) en la Comarca Lagunera (25° LN). Dicho efecto no fue mediado por diferencias en condición corporal, peso vivo, o régimen de alimentación de los animales en estudio.

La suplementación generó un incremento en la actividad ovárica total, la administración de glutamato exógeno no promovió diferencias en las concentraciones séricas de GH ó IGF-1 entre tratamientos. Por lo que el efecto positivo de suplementar con dicho neurotransmisor pudo considerar un efecto sobre alguna otra señal endocrina ya sea gonadotrópica o metabólica, u otra ruta neuroendocrina no dependiente de la acción del eje somatotrópico GH-IGF-1.

Alternativamente, la suplementación de glutamato exógeno pudo haber ejercido un efecto directo sobre los diferentes componentes celulares del ovario cuyas señales autocrinas o paracrinas lograron activar un mayor reclutamiento y(o) selección foliculares,

paralelo a una posible reducción en el nivel de atresia folicular en las cabras suplementadas.

LITERATURA CITADA

- Brann, D. W. 1995. Glutamate: a major excitatory transmitter in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology*; 61:213–225.
- Buonomo, F. C. and Baile C. A. 1991. Influence of nutritional deprivation on insulin-like growth factor I, somatotropin, and metabolic hormones in swine. *J. Anim. Sci.* 69: 755-760
- Darrell, W.; B. and Mahesh V. B. 1997. Excitatory Amino Acids: Evidence for a Role in the Control of Reproduction and Anterior Pituitary Hormone Secretion. *Endo. Rev.* 18: 678-700
- Davidson, R. T.; Chamberlain, S. C.; Bridges, S. T., and Spicer J. L. 2002. Effect of Follicle Size on In Vitro Production of Steroids and Insulin-Like Growth Factor (IGF)-I, IGF-II, and the IGF-Binding Proteins by Equine Ovarian Granulosa Cells. *Biol. Reprod.* 66, 1640-1648.
- Dickie, A. M.; Paterson, C.; Anderson, L. M. and Boyd, J. S. 1999. Determination of corpora lutea numbers in Booroola-Texel ewes using transrectal ultrasound. *Theriogenology* 51: 1209-1224.
- Dunn T. G. and Moss, G. E. 1992. Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock. *J. Anim. Sci.* 70: 1580-1593.
- Estienne, M. J.; Harter-Dennis, J. M.; Barb, C. R.; Harstock, R. M. and Armstrong, J. D. 1996. N-methyl-D-L-aspartate-induced growth hormone secretion in barrows: possible mechanisms of action. *J. Anim. Sci.* 74: 597-602
- Estienne, M. J.; Schillo, K. K.; Hileman, S. M.; Green, M. A. and Hayes, S. H. 1990. Effect of N-methyl-d,l-aspartate on luteinizing hormone secretion in ovariectomized ewes in the absence and presence of estradiol. *Biol. Reprod.* 42:126.
- Foster, D.L.; Ebling, F.J.P.; Micka, A.F.; Vannerson, L.A.; Buchlotz, D.C.; Wood, R.I.; Sutties, J.M. and Fenner, D.E. 1989. Metabolic interface between growth and reproduction I. Nutritional modulation of gonadotropin, prolactin and growth hormone secretion in the growth – limited female lamb. *Endocrinol.* 125: 342-350.
- Gonzales de B.,A.; Lopez S.,A.; Cocero, M. de A.; Santiago, M.A. y Garcia; G.R. 2003. Manejo reproductivo en pequeños rumiantes. *Memorias III Curso internacional Fisiología de la reproducción en ruminantes. Colegio de postgraduados. Chapingo, Méx. Pag. 1-17*
- Griffin, J. K. and Ginther, O.J. 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim. Sci.* 70: 953-972.
- Hoefler, W. C. and Hallford, D. M. 1987. Influence of suckling status and type of birth on serum hormones profiles and return to estrus in early post-partum spring lambing ewes. *Theriogenology* 27:887.
- Jarry, H.; Hirsch, B.; Leonhardt, S. and Wuttke, W. 1992. Amino acid neurotransmitter release in the preoptic area of rats during the positive feedback

- actions of estradiol on LH release. *Neuroendocrinology* 56: 133-140.
- Littell, R. C.; Freund, R. J. and Spector, P. C. 1991. SAS Ò System for Linear Models, Third Ed. Cary, NC: SAS Institute Inc., 329 pp.
- Lopez, F.J.; Donoso, A.O. and Negro-Vilar, A. 1992. Endogenous excitatory amino acids and glutamate receptor subtypes involved in the control of hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone secretion *Endocrinology* 130: 1986-1992.
- Mason, G. A.; Bissette, G. and Nemeroff, C. B. 1983. Effects of excitotoxic amino acids on pituitary hormone secretion in the rat. *Brain Res.* 289: 366-369.
- Nacional Research Council. 1998. Nutrients of goats: Angora dairy and meat goats in temperature and tropical countries. National Academy Press. Washington, D. C. U. S. A.
- Santos, V.S. de los. 1973. Climatología general de la Región Lagunera. SARH. México. Boletín Agrícola Lagunero.
- Sirotkin, A. V. and Makarevich, A. V. 1999 GH regulates secretory activity and apoptosis in cultured bovine granulosa cells through the activation of the cAMP/protein kinase A system. *J Endocrinol* 163:317-327.
- Snedector, G. W. and Cochran, W. G. 1967. *Statistical Methods*. 6th ed. The Iowa State Univ. Press, Ames.
- Veldhuis, J. D. and Jonson, M. L. 1986. Cluster analysis: a simple versatile, and robust algorithm for endocrine pulse detection. *Am. J. Physiol.* 250: E486-E493.

