

# EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON AMINOÁCIDOS EXCITADORES SOBRE LA ACTIVIDAD OVÁRICA TOTAL Y CONCENTRACIONES SÉRICAS DE HORMONA LUTEINIZANTE E INSULINA EN CABRAS

C. A. Meza Herrera<sup>1</sup>, A. Lorenzo R.<sup>1</sup>, J. G. Chávez Perches<sup>2</sup>, H. Salinas González<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Unidad Regional Univesitaria de Zonas Áridas. Universidad Autónoma Chapingo. A.P. 8, Bermejillo, Durango. México. 35230. [cmeza2000@hotmail.com](mailto:cmeza2000@hotmail.com)

<sup>2</sup>Gabinete de Radiodiagnóstico y Ultrasonografía. Torreón, Coahuila.

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Matamoros, Coahuila.

**RESUMEN.** Se evaluó el efecto de la suplementación de aminoácidos excitadores sobre la actividad ovárica total (AOT), considerando sus componentes folículos (FT) y cuerpos lúteos totales (CLT); así como los niveles séricos de hormona luteinizante (LH) e insulina (INS) en cabras. El estudio se desarrolló en la Unidad de Investigación Caprina Sur, URUZA-UACH, localizada entre los 25° LN y 103° LO y altitud de 1 117 msnm, en los meses de octubre a diciembre del 2002. Las cabras (n=22) fueron distribuidas en dos grupos experimentales, 1) Aminoácidos excitadores (AAE, n=10; PV=45.825 ± 4.37Kg), y 2) Control (CONT, n=12; PV=46.208 ± 5.87kg). Recibieron una dieta que cubría el 100% de sus requerimientos nutricionales a base de alfalfa heno (14% PC; 1.14 Mcal Kg<sup>-1</sup> ENm) y ensilaje de maíz (8.1% PC; 1.62 Mcal Kg<sup>-1</sup> ENm) con acceso libre a agua, sales minerales y sombra. Una vez sincronizadas las cabras mediante implantes de esponjas impregnadas de progesterona, mismas que fueron retiradas 9 días después, además de una aplicación de cloprostenol, los días 1, 9, 14 y 17 después del estro el grupo AAE recibió una infusión endovenosa de 7 mg kg<sup>-1</sup> PV de L-glutamina. El día 19 después del estro se colectaron muestras sanguíneas durante 6 horas cada 15 minutos de los dos grupos experimentales para ser evaluadas por su contenido de LH e INS y para medir pulsatilidad y área bajo la curva de LH (LH-AUC). El día 17 posterior a la segunda ovulación, FT y CLT fueron evaluados entre los grupos experimentales a través de un estudio ultrasonográfico transrectal. Los promedios generales para FT, CLT y la AOT fueron 4.5, 3.03 y 7.47, respectivamente. El grupo AAE mostró un mayor número de FT (P<0.03) sin observarse diferencia en cuanto a CLT (P>0.8) con respecto del grupo CONT. Sin embargo la AOT sí mostró diferencia significativa (P<0.05) entre tratamientos en favor del grupo AAE. Mientras que los niveles séricos, área bajo la curva y pulsos de LH no mostraron diferencias (P>0.05) entre grupos experimentales, se observó una mayor concentración sérica de INS (P<0.03) por parte del grupo AAE. Al no existir diferencias entre tratamientos con respecto de la concentración sérica de LH y sí con respecto de los niveles séricos de INS, los resultados sugieren que los incrementos en la AOT observados en cabras tratadas con AAE fueron mediados por esta última hormona más que por la primera.

**Palabras clave:** Cabras, aminoácidos excitadores, actividad ovárica, hormona luteinizante, insulina.

**SUMMARY.** The effect of excitatory amino acids supplementation upon total ovarian activity (AOT), considering its components total follicles (FT) and corpus luteum (CLT), as well as luteinizing hormone (LH) and insulin (INS) serum levels in goats was evaluated. This study was developed in the URUZA-UACH Southern Goat Research Unit, located between the 25° NL and 103° WL, at 1 117 m, during october to december months. Goats (n=22) were randomly assigned to one of two experimental groups: 1) Excitatory amino acids (AAE, n=10; BW=45.825 ± 4.37 Kg), and 2) Control (CONT, n=12; BW=46.208 ± 5.87 kg). They received a diet which meet 100 % of their daily nutritional requirements based on alfalfa hay (14% CP; 1.14 Mcal Kg<sup>-1</sup> ENm) and corn silage (8.1% CP; 1.62 Mcal Kg<sup>-1</sup> ENm), goats had free access to water, mineral salts and shadow. Once estrually synchronized, the days 1, 9, 14 and 17 after the estrus, AAE group received a iv infusion of 7 mg kg<sup>-1</sup> BW of L-glutamine. Day 19 after the estrus, blood samples from both AAE and CONT experimental groups were collected for LH and INS serum levels quantification. Day 17 after the second ovulation, FT and CLT of both experimental groups were evaluated by transrectal ultrasonography. FT, CLT and AOT means were 4.5, 3.03 and 7.47, respectively. AAE group depicted a larger (P<0.03) FT value but without difference (P>0.8) with respect to CLT values compared with CONT group. However AOT depicted significative difference (P=0.05) between both AAE and CONT group, depicting the larger value AAE treatment. While there were non differences (P>0.05) with respect to LH values between both AAE and CONT group, larger INS serum levels were observed (P<0.03) for the first. Since there were non differences among experimental groups with respect to LH serum levels but there were differences with respect to INS concentration, that AOT enhancements observed in goats treated with AAE were mediated by last hormone more than the first is suggested by results.

**Key words:** Goats, excitatory amino acids, ovarian activity, luteinizing hormone, insulin.

## INTRODUCCIÓN

La explotación de caprinos ha permitido en buena medida el desarrollo ganadero desde las sociedades más primitivas, gracias a su gran capacidad de adaptación a todo tipo de medios y variedad de recursos. Estas ventajas en cuanto a rusticidad y aprovechamiento de recursos, tienen su contrapartida en una gran dependencia del medio, y unos escasos rendimientos reproductivos, muy limitados genéticamente y muy condicionados por factores externos (López *et al*, 2001).

Uno de los factores externos que inciden sobre la eficiencia reproductiva es la alimentación. Se ha propuesto que ciertos factores nutricionales están implicados en la modulación de procesos reproductivos tales como el inicio de los ciclos estrales, el desarrollo folicular, la calidad del ovocito y el desarrollo embrionario temprano. Ha sido establecido también que el efecto de la época del año sobre la nutrición también puede afectar el desarrollo normal de los folículos (Gutiérrez, 2001).

Si el desarrollo folicular se controla principalmente por la acción coordinada de las gonadotropinas, entonces cambios en la secreción de las mismas, provocados por la nutrición podrían afectar al desarrollo folicular (Gutiérrez, 2001). Dentro del manejo reproductivo y desde un punto de vista tecnológico, se pueden considerar dos campos bien diferenciados, uno relacionado con el control de la eficacia reproductiva de las hembras, que afecta a la fertilidad y prolificidad, y otro el de tecnologías de la reproducción aplicadas a la selección y mejora genética (López *et al*, 2001).

La eficiencia reproductiva de las hembras depende de las respuestas ováricas a las secreciones hipofisarias promovidas por hipotálamo. Esta comunicación endocrina hipotálamo – hipófisis es favorecida por compuestos químicos (aminoácidos excitadores) que funcionan a manera de neurotransmisores cuya concentración puede ser potenciada a través de la suplementación de la dieta con aminoácidos excitadores (Chang *et al.*, 1993; Brann y Mahesh, 1995).

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Localización del estudio.** El estudio se realizó en la Unidad de Experimentación Caprina Sur, de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo. La Unidad se localiza en el municipio de Tlahualilo, Dgo. a 3 km de

Bermejillo, Mapimí, Dgo. La unidad se localiza entre las coordenadas UTM 639935 E y 2864331 N (Universal Transversa Mercator), correspondiendo a las coordenadas geográficas 25° 53' 31.99" Latitud N y 103° 36' 11.23" Longitud O, con una altitud de 1,117 msnm.

**Clima.** Las características del clima presente en esta área son: clima seco BW, cálido, con oscilación térmica muy extremosa, y con precipitación y temperatura media anual de 217.1 mm, y 22.3 °C, respectivamente. El mes más cálido es Junio con temperaturas superiores a los 40° C y el mes más frío es Enero con temperatura mínima de 4° C.

**Formación de grupos experimentales y alimentación.** Se utilizaron 22 cabras encastadas hacia Saanen y Alpina de 2 años y 10 meses de edad con un peso promedio de 46.01±5.05 kg. Se ofreció a las cabras una dieta a base de heno de alfalfa, ensilaje de maíz y maíz rolado ofreciendo el 100% de sus requerimientos nutricionales ajustados al peso vivo (NRC, 1998). Se ofrecieron agua limpia y fresca, sales minerales *ad libitum* (ambas), y sombra durante todo el periodo experimental (51 días).

Los grupos experimentales fueron alimentados dos veces al día: por la mañana (0700h) heno de alfalfa y ensilaje de maíz y por la tarde (1800h) de igual forma pero con maíz rolado para los animales que lo requerían, bajo condiciones naturales de luz.

**Tratamientos y sincronización del estro.** Las cabras (n=22) fueron separadas en dos grupos con peso promedio homogéneo y fueron asignadas en parejas a cada uno de 11 corrales. Cada uno de los grupos fue asignado a uno de dos tratamientos experimentales: 1) con suplementación con Aminoácidos Excitadores en cuatro infusiones endovenosas de 7 mg kg<sup>-1</sup> PV de L-glutamina (C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Merck, Germany) en los días 1, 9, 14 y 17 después del estro, respectivamente (**AAE**, n=10; PV=45.825 ± 4.37Kg) y 2) sin suplementación (**CONT**, n=12; PV=46.208 ± 5.87kg). Las cabras del grupo CONT recibieron una aplicación de agua destilada y esterilizada por vía endovenosa de 0.0875ml Kg<sup>-1</sup> PV al tiempo de las infusiones de L-glutamina para el grupo AAE a fin de simular el mismo estrés al que fueron sometidas las cabras de este grupo.

Las cabras fueron distribuidas considerando cinco y seis corrales para los tratamientos AAE y CONT, respectivamente, y fueron colocadas dos cabras en cada corral. Todas las cabras continuaron con su dieta a base de heno de alfalfa durante el periodo experimental. El periodo experimental consideró 34 días antes y 17

días después de la ovulación. Previo a los muestreos, las cabras fueron estrualmente sincronizadas por medio de implantes de esponjas intravaginales impregnadas de progesterona (Intervet), con un aplicador para inserción Chrono-gest para cordera/cabra. Nueve días después se retiraron las esponjas y se hizo una aplicación de cloprostenol (Prosolvín CO) el cual es un análogo a la prostaglandina  $F_{2a}$ , en dosis de 1 ml por animal (0.075mg por cabra).

**Preparación de la solución buffer.** Se pesaron 4 g de L-glutamina -en polvo- (Merk) en una balanza analítica y se disolvieron en 50 ml de agua destilada estéril. Esto último se hace prácticamente imposible si se trata de disolver todo el polvo a un tiempo, para facilitar este paso se deben combinar la L-glutamina y el agua destilada en cantidades pequeñas agitando vigorosamente hasta disolver la cantidad completa de reactivo que se utiliza. Posteriormente se procedió a llevar la solución a pH neutro con HCl 0.1N. Todo el proceso de preparación de la solución se llevó a cabo en ambiente estéril. La solución preparada contenía 80 mg de L-glutamina  $ml^{-1}$ .

#### **Muestreo sanguíneo intensivo y cuantificación de hormona luteinizante e insulina.**

Una vez ocurrida la primera ovulación, se dejaron transcurrir 19 días; ya en fase lútea, en forma aleatoria fueron seleccionadas cinco cabras por tratamiento, cinco corraletas con dos cabras dentro para realizar un muestro intensivo de sangre. Las muestras sanguíneas fueron colectadas de cada cabra mediante venopunción de la vena yugular utilizando agujas estériles de 0.8x38mm (Becton Dickinson and Company) y tubos colectores estériles Vacutainer de 10 ml (Corvac, Sherwood Medical), por un período de seis horas a intervalos de 15 min.

Una vez en laboratorio, las muestras se dejaron reposar a temperatura ambiente por un lapso de 30 min hasta que ocurriera la retracción del coagulo. Las muestras fueron centrifugadas (1,500 x g, 15 min), el suero fue colectado y almacenado a  $-20^{\circ} C$ . Cada muestra de suero con su réplica fueron almacenadas en tubos de polipropileno de 1.5 ml. En total se colectaron 25 muestras por cabra, 75 muestras por tratamiento, con un total de 300 muestras originales de suero.

Todas las muestras de suero fueron evaluadas por su contenido de LH mediante radioinmunoanálisis (RIA) según los procedimientos señalados por Hoeffler y Hallford (1987) con un coeficiente de variación (CV) intra-ensayo del 16% y un límite de detección de 0.2 ng

$ml^{-1}$ . Mientras que el área bajo la curva para LH (LH-AUC) fue determinada utilizando un procedimiento de sumatoria trapezoidal, la pulsatilidad de LH fue determinada mediante el programa Cluster para Análisis de Pulsos (Veldhuis y Jhonson, 1986).

Debido a que insulina no es una hormona pulsátil, muestras colectadas cada hora fueron evaluadas por su contenido de INS con un CV del 10% y un límite de detección de 0.5 ng  $ml^{-1}$  de acuerdo con los procedimientos de Sanson y Hallford (1984). 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.**

El día 17 posterior la segunda ovulación la actividad ovárica total fue determinada mediante un estudio ultrasonográfico. 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 guante de látex estéril aplicando nuevamente gel obstétrico fuera del guante como lubricante.

Todas las evaluaciones ultrasonográficas, fueron realizadas por un experimentado radiólogo, quien desconocía cualquier información previa de la cabra o del tratamiento a la que fue expuesta. El número y tipos de estructuras identificadas en ambos ovarios, a saber, el número de folículos mayores y menores a cinco milímetros, folículos totales, así como número y diámetro de cuerpos lúteos presentes, fueron registrados así como fotografiados (Griffin y Ginther, 1992; Dickie *et al*, 1999).

**Análisis estadísticos.** Los pesos corporales, la condición corporal, así como la actividad ovárica considerando el número de folículos y cuerpos lúteos totales, fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANOVA) dentro de un diseño completamente al azar con dos tratamientos y 10-12 repeticiones por tratamiento (Snedecor y Cochran, 1967). Las concentraciones séricas de LH e INS fueron evaluadas mediante un ANOVA con un diseño completamente al azar con un arreglo de parcelas divididas para muestras repetidas en el tiempo. Los efectos principales y la interacción fueron incluidos en la parcela mayor, usando el término cabra dentro de tratamiento para calcular el error. El tiempo de muestreo y la interacción tratamiento por tiempo fueron incluidos en la parcela mayor. La separación de medias consideró el procedimiento PDIFF

para probar sus diferencias mediante el PROC LSMEANS. Todos los análisis utilizaron los procedimientos del paquete estadístico SAS (SAS, 1991). Los valores reportados son las medias de mínimos cuadrados  $\pm$  el error estándar de la media.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Peso vivo y condición corporal al inicio del experimento y al ultrasonido.** Tanto los pesos vivos al inicio (PVI) y final (PVUS) del experimento, así como la condición corporal al inicio (CCI) y final (CCUS) del experimento no difirieron ( $P>0.05$ ) manteniéndose lo más homogéneo posible entre los grupos experimentales (Cuadro 1).

**Folículos totales, cuerpos lúteos totales y actividad ovárica total.** El promedio general para número de folículos totales (FT) fue  $4.5 \pm 0.6$ . Las cabras suplementadas con aminoácidos excitadores (AAE) mostró un mayor número de folículos totales ( $P<0.05$ ) con respecto de las que no recibieron suplementación (CONT) (Cuadro 2).

Con respecto del número de cuerpos lúteos totales (CLT) se observó una media general de  $3.03 \pm$

0.2, no observándose diferencias ( $P>0.08$ ) entre tratamientos para dicha variable. El promedio global para actividad ovárica total (AOT) fue  $7.47 \pm 0.6$ , observándose una diferencia significativa que favoreció ( $P=0.05$ ) al grupo AAE sobre el CONT (Cuadro 2).

**Peso vivo, condición corporal, actividad ovárica total, niveles séricos, área bajo la curva y pulsos de hormona luteinizante y niveles séricos de insulina.** En lo que a la concentración de hormona luteinizante (LH) respecta no se encontraron diferencias ( $P>0.05$ ) entre tratamientos. Tampoco el área bajo la curva (LH-AUC), ni los pulsos (LH-PULSE) de LH mostraron diferencias ( $P>0.05$ ) entre ambos grupos experimentales. En cuanto a la concentración de insulina (INS), los resultados muestran una diferencia ( $P<0.03$ ) entre grupos experimentales a favor del tratamiento AAE (Cuadro 3).

En el Cuadro 3 se observa una diferencia ( $P=0.05$ ) en cuanto a AOT entre tratamientos que no puede ser atribuida al PV ni a la CC, que no mostraron diferencias ( $P>0.05$ ), ni a las acciones de LH que también se comportó igual entre los dos grupos experimentales, pero sí puede deberse a INS puesto que las diferencias en cuanto a sus niveles séricos en cabras AAE y CONT sí fueron significativas.

**Cuadro 1.** 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) de los tratamientos AAE (n=10) y CONT (n=12).

	AAE	CONT	NSO <sup>1</sup>	EE <sup>2</sup>
PVI	45.3	45.1	0.9	1.4
CCI	3.1	2.9	0.6	0.08
PVUS	43.9	45.3	0.8	1.4
CCUS	3.3	3.3	0.7	0.08

<sup>1</sup> Nivel de significancia observado.

<sup>2</sup> Error estándar de medias de mínimos cuadrados más conservador.

**Cuadro 2.** Medias de mínimos cuadrados para folículos totales (FT), cuerpos lúteos totales (CLT) y actividad ovárica total (AOT), todas en unidades, en cabras suplementadas con aminoácidos excitadores (AAE) y sin suplementación (CONT) bajo fotoperíodo decreciente en la Comarca Lagunera (25° LN).

	AAE	CONT	NSO <sup>1</sup>	EE <sup>2</sup>
FT	5.3 <sup>a</sup>	3.5 <sup>b</sup>	0.03	0.61
CLT	2.9 <sup>a</sup>	2.8 <sup>a</sup>	0.8	0.22
AOT	8.2 <sup>a</sup>	6.3 <sup>b</sup>	0.05	0.61

<sup>1</sup> Nivel de significancia observado.

<sup>2</sup> Error estándar de medias de mínimos cuadrados más conservador.

**Niveles séricos de insulina en el tiempo.** No hubo diferencias ( $P>0.05$ ) entre la concentración sérica de INS global (para los dos distintos tratamientos) en los diferentes tiempos de muestreo. Así mismo, por separado tampoco se observó diferencia alguna ( $P>0.05$ ) entre las concentraciones de INS en el tiempo para cabras suplementadas con aminoácidos excitadores (AAE) y para aquellas sin suplementación (CONT) (Cuadro 4).

Los resultados del presente experimento mostraron que cabras tratadas con infusiones de aminoácidos excitadores tuvieron una mayor actividad ovárica total, pero este efecto no pudo ser mediado por hormona luteinizante cuya concentración sérica en ambos tratamientos no tuvo diferencia significativa. La concentración de insulina, en cambio, sí mostró incremento ( $P<0.05$ ) en cabras tratadas con aminoácidos excitadores sobre las del grupo control.

Debido a que en este caso el tratamiento con aminoácidos excitadores no incrementó la secreción pulsátil de LH puesto que esta variable no mostró diferencia ( $P>0.05$ ), se asume que existen diversos factores que alteran el efecto promotor de los aminoácidos excitadores sobre la secreción de gonadotropinas como la dosis, el estado reproductivo de la hembra y la edad, como ha sido reportado por diversos autores (Sesti y Britt, 1992; Lee, 1993; Estienne, 1998).

Por ejemplo, factores de los cuales depende el efecto de la administración de NMA sobre la liberación de LH son los niveles de esteroides circulantes y el estado reproductivo. Esto es sostenido por Estienne (1998) quien encontró que tratamiento con NMA ( $10 \text{ mg kg}^{-1} \text{ PV}$ ) incrementó la frecuencia pulsátil de LH en cerdas en fase lútea por un 125%, mientras que NMA disminuyó las concentraciones medias de LH por un

**Cuadro 3.** Medias de mínimos cuadrados para las variables peso vivo (PV, kg); condición corporal (CC, unidades); actividad ovárica total (AOT, unidades); niveles séricos (LH,  $\text{ng ml}^{-1}$ ), área bajo la curva (LH-AUC, unidades<sup>2</sup>) y pulsos (LH-PULSE, unidades) de hormona luteinizante; así como niveles séricos de insulina (INS) en la fase lútea tardía de cabras suplementadas con aminoácidos excitadores (AAE) y sin suplementación (CONT) bajo fotoperíodo decreciente en la Comarca Lagunera ( $25^\circ \text{ LN}$ ).

VARIABLES	AAE	CONT	NSO <sup>1</sup>	EE <sup>2</sup>
PV	43.9	45.3	0.8	1.4
CC	3.3	3.3	0.7	0.08
AOT	8.2	6.3	0.05	0.61
LH	4.6	5.3	0.58	0.8
LH-AUC	1 682.8	1 926.0	0.59	316.1
LH-PULSE	3.8	3.8	1.00	0.52
INS	5.7	3.9	0.03	0.5

<sup>1</sup> Nivel de significancia observado

<sup>2</sup> Error estándar de medias de mínimos cuadrados más conservador.

**Cuadro 4.** Medias de mínimos cuadrados para la concentración sérica ( $\text{ng ml}^{-1}$ ) de insulina (INS) cada hora durante 6 h en la fase lútea tardía del ciclo estral para cabras suplementadas con aminoácidos excitadores (AAE), sin suplementación (CONT) y ambas (GLOBAL) en la Comarca Lagunera ( $25^\circ \text{ LN}$ ).

INS	Tiempo de muestreo							NSO <sup>1</sup>	EE <sup>2</sup>
	0	1	2	3	4	5	6		
GLOBAL	6.47	4.66	4.99	4.97	4.18	3.65	3.89	0.31	0.8
AAE	7.22	5.39	6.41	7.10	4.76	4.11	4.82	0.09	3.8
CONT	4.56	3.93	4.46	3.93	3.52	3.67	3.38	0.09	2.0

<sup>1</sup> Nivel de significancia observado

<sup>2</sup> Error estándar de medias de mínimos cuadrados más conservador.

48% y suprimió la frecuencia pulsátil de LH por un 33% en cerdas ovariectomizadas.

De igual manera Estienne (1998) no encontró efecto sobre las características de secreción de LH por NMA en fase folicular. Esto pudo ser debido a que en esta fase las cerdas pueden ser menos sensibles o completamente insensibles a NMA a pesar de la habilidad del compuesto para estimular GnRH y elevar la secreción de LH. Alternativamente, NMA pudo haber estimulado la secreción de GnRH del hipotálamo, pero no hubo un correspondiente incremento en la liberación de LH debido a los efectos del estradiol sobre la glándula pituitaria.

El estradiol actuando sobre la glándula pituitaria bloquea la actividad de los AAE para elevar la secreción de LH por la retroalimentación negativa que ejerce. Sin embargo, Sesti y Britt (1992) encontraron que en cerdas lactando pretratadas con Benzoato de Estradiol, el NMA evocó un incremento del 69% en la concentración media de LH durante 1 h después de la inyección, y similarmente, el Área bajo la Curva fue mayor durante el periodo post-NMA que durante el periodo pre-NMA.

El efecto de NMA sobre la liberación de gonadotropinas depende también de la dosis en que sea administrado. Sesti y Britt (1992) reportaron que en cerdas lactando que recibieron una administración IV de NMA en dosis de 1.5 y 3.0 mg kg<sup>-1</sup> PV la concentración media de LH en suero no se vió alterada, en cambio, cerdas en las mismas condiciones mostraron un incremento en LH del 114% durante 1 h luego de recibir 5.0 mg kg<sup>-1</sup> PV IV.

Así mismo, al no existir diferencia significativa en cuanto a la concentración de LH se asume que el incremento en la AOT promovido por la administración de aminoácidos excitadores fue mediado siguiendo una ruta metabólica distinta dependiente de insulina, que sí mostró incrementos ( $P < 0.03$ ) en las cabras suplementadas con AAE, promoviendo quizá la activación de receptores a LH en el ovario independientemente de la secreción de esta última hormona.

Estudios han demostrado que al incrementarse la concentración de insulina a través de la infusión intravenosa de glucosa aumenta también la tasa de ovulación (Bucholtz *et al*, 1988). Se sabe que el desarrollo folicular es mediado por diversos factores endocrinos y parácrinos. Varios estudios han demostrado que insulina e IGF-I tienen efectos a nivel del ovario estimulando la proliferación de las células de la granulosa y la producción de progesterona. Trabajos

como estos le confieren a la insulina como reguladora de los niveles de glucosa un rol en el mecanismo de los efectos nutricionales sobre la función ovárica en ovejas (Gong *et al.*, 1993 y Spicer *et al.*, 1993).

Spicer y Echterkamp (1995) afirman que insulina y factores de crecimiento análogos a insulina (IGF's) han tenido efectos directos sobre células ováricas cultivadas. Estos incluyen la estimulación de la mitogénesis celular de la granulosa, producción de la granulosa y progesterona por las células lúteas, y la producción androgénica por parte de las células de la teca. Sin embargo, existen diferencias específicas con respecto de los efectos de insulina y IGF-I sobre la producción de estradiol de las células de la granulosa.

Estudios afirman que en condiciones *in vitro* insulina estimula la captación y utilización de numerosos nutrientes y regula el crecimiento de las células de la granulosa en cerdos, además de potenciar los receptores de LH y producción de esteroides, promoviendo así la función ovárica. Células de la granulosa, teca y lúteas contienen receptores para insulina y IGF's que parecen mediar los efectos de estas dos hormonas (Spicer y Echterkamp, 1995).

## CONCLUSIONES

La aplicación de cuatro infusiones endovenosas de 7 mg kg<sup>-1</sup> PV de L-glutamina, como sustrato para la biosíntesis del amino ácido excitador glutamato, en los días 1, 9, 14 y 17 después del estro a cabras adultas resulta en un incremento de la actividad ovárica total correlacionándose de manera positiva con los niveles séricos de la hormona insulina, sin alterar la concentración de la hormona luteinizante.

La hormona Insulina, por lo tanto, estaría ejerciendo efectos locales a nivel ovárico sobre la proliferación celular de la teca y la granulosa y la esteroidogénesis potenciando la activación de receptores a LH y promoviendo el desarrollo folicular y la función ovárica en general, sin ser necesario un incremento en la secreción de LH.

## LITERATURA CITADA

- Brann, D. W. and Mahesh, V. B. 1995. Glutamate: a major neuroendocrine excitatory signal mediating steroid effects on gonadotropin secretion. *J Steroid Biochem Mol Biol* 53(1-6):325-329.
- Bucholtz, S. C., Vannerson, L. A., Ebling, F. J. P., Wood, R. I., Suttie, J. M. and Foster, D. L. 1988. Modulation of Gonadotrophin Secretion in Growth-restricted Lambs by Glucose/Amino Acids. *Biol. Reprod.* 38(suppl.):185.

- Chang W. J.; Barb, C. R.; Kraeling, R. R.; Rampacek, G. B. and Asanovich, K. M. 1993. N-Methyl-D,L-Aspartate Modulation of Pituitary Hormone Secretion in the Pig: Role of Opioid Peptides. *Domest. Anim. Endocrinol.* 10(4):305-313.
- 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.
- Estienne, M. J.; Hurlock, W. F. and Barb, C. R. 1998. Serum Concentrations of Luteinizing Hormone, Growth Hormone, y Cortisol in Gilts Treated with N-Methyl-D-Aspartate During the Estrous Cycle or After Ovariectomy. *J Anim. Sci* 76:2162-2168.
- Gong, J. E.; McBride, D.; Bramley, T. A. and Webb, R. 1993. Effect of recombinant bovine somatotrophin, insulin-like growth factor-I and insulin on the proliferation of bovine granulosa cells in vitro. *Endocrinol.* 139:67-75.
- Griffin, J. K. and Ginther, O. J. 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim. Sci* 70:953-972.
- Gutiérrez, A. C. 2001. Influencia de la Nutrición en la Reproducción. II Curso Internacional Fisiología de la Reproducción en Rumiantes, Edo. de México, MEX.
- 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.
- Lee, W. S.; Abbud, R.; Hoffman, G. E. and Smith, M. S. 1993. Effects of N-methyl-D-aspartate receptor activation on cFos expresión in luteinizing hormone-releasing hormone neurons in female rats. *Endocrinology* 133(5):2248-2254.
- López, S. A.; González, B. A. y Santiago, M. J. 2001. Manejo Reproductivo en Pequeños Rumiantes. II Curso Internacional Fisiología de la Reproducción en Rumiantes, Edo. de México, MEX.
- National Research Council. 1998. Nutrient requirements of goats: Angora, dairy and meat goats in temperature and tropical countries. 1ª ed. National Academy Press. Washington, D. C. U.S.A.
- Sanson, D. W. and Hallford, D. M. 1984. Growth response, carcass characteristics and serum glucose and insulin in lambs fed tolazamide. *Nutr. Rep. In* 64:461-469.
- SAS. 1991. SAS/SAT user's guide. SAS Institute, Inc. Cary, N. C. USA.
- Sesti, L. A. C. and Britt, J. H. 1992. Elicitación of Release of Luteinizing Hormone by N-Methyl-D,L-Aspartic Acid During Three Paradigms of Suppressed Secretion of Luteinizing Hormone in the Female Pig. *Domest. Anim. Endocrinol.* 9(2):105-114.
- Snedecor, G. W. and Cochran, W. G. 1967. *Statistical Methods*. 6th Ed. The Iowa State Univ. Press, Ames.
- Spicer, L. J.; Alpizar, E. and Echternkamp, S. E. 1993. Effects of Insulin-Like Growth Factor I, and Gonadotropins on Bovine Granulosa Cell Proliferation, Progesterone Production, Estradiol Production, and (or) Insulin-Like Growth Factor I Production In Vitro. *J. Anim. Sci* 71:1232-1241.
- Spicer, L. J. and Echternkamp, S. E. 1995. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domest Anim Endocrinol* 12(3):223-45.
- Veldhuis, J. D. and Jhonson, M. L. 1986. Cluster analysis: a simple versatile, and robust algorithm for endocrine pulse detection. *Am. J. Physiol.* 250:E486-E493.

