

# EFFECTO AGUDO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMATO SOBRE EL DESARROLLO DE FOLÍCULOS ANTRALES Y NIVELES SÉRICOS DE IGF-1 EN CABRAS

## ACUTE EFFECT OF GLUTAMATE SUPPLEMENTATION UPON DEVELOPMENT OF ANTRAL FOLLICLES AND SERUM IGF-1 LEVELS IN GOATS

A. González Velázquez <sup>a</sup>, C. A. Meza Herrera <sup>a,\*</sup> Ornella Castro <sup>b</sup>, J. M. Reyes Ávila <sup>a</sup>, P. Pacheco Alvarez <sup>a</sup>, Maria Wurzinger <sup>c</sup>, F. G. Veliz Deras <sup>d</sup>, Evaristo Carrillo <sup>e</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma Chapingo, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. México.

<sup>b</sup> Universidad Nacional de Catamarca, Facultad de Ciencias Agrarias, Argentina.

<sup>c</sup> BOKU - University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Austria.

<sup>d</sup> Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.

<sup>e</sup> Instituto Tecnológico de Torreón, México.

\* Autor de correspondencia: [cmeza2020@hotmail.com](mailto:cmeza2020@hotmail.com) / [cmeza2000@gmail.com](mailto:cmeza2000@gmail.com)

**RESUMEN.** Se evaluó el efecto agudo de la suplementación de corto plazo de L-glutamato sobre el desarrollo de folículos antrales (FA) y los niveles séricos de los Factores de Crecimiento Análogos a Insulina Tipo 1 (IGF-I) en caprinos bajo fotoperíodos decrecientes. El estudio se realizó en la Unidad de Investigación Caprina Sur, (URUZA-UACH, 25° LN, 103° LO y 1,117 msnm) durante el mes de noviembre. Las cabras (n=22; 7/8 Sannen-Alpina) fueron aleatoriamente distribuidas en dos grupos experimentales con peso vivo (PV) y condición corporal (CC) homogéneos, asignándose en forma aleatoria uno de dos tratamientos: 1) Suplementación con L-glutamato (GLUT, n=10, PV=45.8±4.37 kg; 0.175 mg kg<sup>-1</sup> PV de L-glutamato, i.v) los días 1, 9, 14 y 17 después del estro, y 2) Control (CONT, n=12, PV=46.2±5.87 kg). Las cabras recibieron una dieta a base de heno de alfalfa (14% PC; 1.14 Mcal Kg<sup>-1</sup> ENm), y ensilado de maíz (8.1% PC; 1.62 Mcal kg<sup>-1</sup> ENm). Una vez sincronizadas mediante el uso de esponjas intravaginales y ocurrida la ovulación, se realizó un muestreo intensivo de sangre (6 h x 120 min), para evaluar las concentraciones séricas de IGF-1 mediante radioinmunoanálisis. El día 18 post-ovulación se evaluó el desarrollo de los folículos antrales mediante ultrasonografía. Ni el PV (44.5±1.3 kg), ni la CC (3.3±0.8 unidades), ni los niveles séricos de IGF-1 (273.3±28.9 ng mL<sup>-1</sup>) difirieron (P>0.05) entre tratamientos. Sin embargo, se observó un incrementado número de folículos antrales (P=0.05; 3.4 vs. 2.1) en las cabras suplementadas con glutamato. Los resultados sugieren que el efecto agudo de la suplementación de corto plazo con L-glutamato en cabras pudo haber aumentando la secreción hipofisiaria de FSH ó incrementando la expresión de receptores a FSH en las células foliculares (Teca y Granulosa) durante la fase de reclutamiento y selección foliculares. Lo anterior, en turno, pudo haber estimulado el desarrollo de la población de folículos antrales, en una ruta no-dependiente de IGF-1.

**Palabras clave:** Cabras, suplementación estratégica, glutamato, actividad ovárica, folículos antrales.

**SUMMARY.** The acute effect of the short-term L-glutamate supplementation upon development of antral follicles (FA) as well as on serum insulin-like growth factor type 1 (IGF-1) concentrations in goats was evaluated. The study was carried out at the Southern Goat Research Unit (URUZA-UACH, 25° NL, 103° WL, at 1,117 msnm) during November. Goats (n=22, 7/8 Saanen-Alpine) were randomly assigned to two experimental groups with similar live weight (PV) and body condition (CC), and received one of two treatments: 1) L-glutamate supplementation (GLUT, n=10, PV=45.8±4.37 kg; 0.175 mg kg<sup>-1</sup> PV of L-glutamate, i.v, on days 1, 9, 14 and 17 post-ovulation), and 2) Control (CONT, n=12, PV=46.2±5.87 kg). Goats received a base diet with alfalfa hay (14% CP; 1.14 Mcal kg<sup>-1</sup> NEm), and corn silage (8.1% CP; 1.62 Mcal kg<sup>-1</sup> NEm). Once estrually synchronized with intravaginal sponges and after ovulation, an intensive blood sampling (6 h x 120 min) was performed to evaluate, serum insulin concentrations (RIA). On day 18 post-ovulation, antral follicle number was evaluated by ultrasonographic techniques. Neither PV (44.5±1.3 kg), nor CC (3.3±0.8 units), or serum IGF-1 concentration (273.3±28.9 ng mL<sup>-1</sup>) differed (P>0.05) between treatments. Nonetheless, an increased number of antral follicles was observed (P=0.05; 3.4 vs. 2.1) in the L-glutamate supplemented goats. These results suggest that the acute effect of L-glutamate short-term supplementation in goats could had augmented the hypophysary FSH secretion or increasing the FHS receptor expression in follicular cells (theca and granulosa) during the recruitment or selection within the follicular phase. The last, in turn, could had stimulated the development of the antral follicular population, in a non-insulin-like growth factor-1 dependent pathway.

**Key words:** Goats, focus feeding, glutamate, ovarian activity, antral follicles.

## INTRODUCCION

La estacionalidad reproductiva en caprinos se ve afectada por una gran cantidad de factores genéticos, ambientales y sociales; entre los que predominan la raza, efecto macho, la nutrición y el fotoperiodo (Chemineau *et al.*, 1998). Las cabras y otras especies con reproducción estacional utilizan el fotoperiodo para programar su actividad reproductiva, iniciándose cuando el periodo luminoso diario disminuye, lo que ocurre en otoño e invierno (Chemineau *et al.*, 2007). El efecto del fotoperiodo sobre el comportamiento reproductivo depende de la latitud, siendo mayor en las zonas alejadas al ecuador. El anestro estacional es una de las principales limitantes en la reproducción en caprinos y representa una señal ambiental productivo que provoca una estacionalidad de producción de leche y cabritos, generando bajos precios para el productor (Chemineau *et al.*, 1998; Chemineau *et al.*, 2007).

Aunque actualmente se usan progestágenos, gonadotropinas y melatonina, como métodos para inducir y prolongar la actividad reproductiva en cabras durante el anestro reproductivo, estas técnicas son caras y se dificulta el uso para hatos mantenidos en condiciones extensivas. Las técnicas para inducir la actividad sexual en la época de reposo sexual deben de ser sencillas, baratas y factibles dentro de los sistemas de producción existentes en cada región (Martin *et al.*, 2004a,b; Scaramuzzi *et al.*, 2006). En la Comarca Lagunera, donde se registran débiles variaciones fotoperiodicas pero importantes variaciones estacionales en la disponibilidad de alimento, la nutrición puede ser uno de los principales factores que determinan la actividad reproductiva.

En efecto, la suplementación nutricional puede ser importante en la inducción de la actividad sexual durante el periodo de reposo reproductivo. En rumiantes, cambios en las concentraciones plasmáticas de hormonas metabólicas son señales importantes que informan al eje reproductivo el estado nutricional de los animales, afectando su comportamiento reproductivo (Gong 2002; Meza-Herrera *et al.* 2004; Scaramuzzi *et al.* 2006; Meza-Herrera *et al.* 2007). Esta estrecha relación entre el estado metabólico y la función reproductiva se establece para asegurar que la función reproductiva este estrechamente alineadas con la disponibilidad de alimento (Gamez-Vazquez *et al.* 2008; Meza-Herrera *et al.*, 2008; Guerra-García *et al.* 2009; Meza-Herrera *et al.*, 2010a,b). Según Scaramuzzi *et al.*, (2006) el efecto agudo de la nutrición se refiere al incremento en tasa ovulatoria que ocurre después de una suplementación alimenticia de corto plazo en ausencia de cambios detectables en el peso vivo. La presente investigación fue diseñada para evaluar el efecto

de la suplementación de corto plazo con aminoácidos excitadores (L-glutamato) sobre la actividad ovárica (folículos antrales), y analizar cuál es el rol que desempeña sobre el nivel sérico de los factores de crecimiento análogos a insulina tipo 1 (IGF-I) en cabras adultas bajo fotoperíodos decrecientes en la Comarca Lagunera.

## MATERIALES 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, de la Universidad Autónoma Chapingo, localizada entre las coordenadas geográficas 25° 53' LN y 103°36' LO, a una altura de 1,117 msnm.

### Condiciones ambientales

El clima se clasifica como semidesértico extremo. 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. Durante Junio ocurren las más altas temperaturas con más de 40°C y el mes más frío es Enero con temperatura mínima de 4°C (García, 1981).

### Formación de los grupos experimentales

Hacia el mes de Noviembre, bajo un fotoperíodo decreciente o 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.<sup>-1</sup> ENm), ensilaje de maíz (8.1% PC; 1.62 Mcal kg<sup>-1</sup> ENm) y maíz roado, ofreciendo el 100% de sus requerimientos nutricionales ajustados al peso vivo (NRC, 1981). En 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 de las cabras durante el periodo experimental. Agua limpia y fresca, sales minerales y sombra fueron ofrecidas a libre acceso durante todo el periodo 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 roado por la tarde (1800) con la dieta, bajo condiciones naturales de luz observada en el mes de Noviembre y Diciembre del 2008.

### Diseño experimental de tratamientos

Las cabras fueron aleatoriamente distribuidas en dos grupos experimentales con peso vivo y condición corporal homogéneos. A cada grupo se le asignó en

**Cuadro 1.** Contenido de Materia seca (MS, %), energía neta para mantenimiento (ENm, Mcal kg<sup>-1</sup>) y proteína cruda (PC, %) de los ingredientes de la dieta ofrecida durante el periodo experimental.

Ingredientes	MS (%)	ENm (Mcal kg <sup>-1</sup> )	PC (%)
Heno de alfalfa	90	1.14	14.0
Ensilaje de maíz	33	1.62	8.1
Maíz roloado	86	2.38	11.2

forma aleatoria uno de los dos tratamientos: 1) con suplementación de aminoácidos excitadores (**GLUT**, n=10, PV=45.8±4.37 kg) y 2) control, sin suplementación (**CONT**, n=12, PV=46.2±5.87 kg). Las cabras del grupo GLUT recibieron una infusión endovenosa los días 1, 9, 14 y 17 después del estro de 0.175 mg kg<sup>-1</sup> PV cabra de L-Glutamato (Merck, Germany). Las cabras del grupo CONT recibieron una aplicación de agua destilada estéril por vía endovenosa de 0.0875 mL kg<sup>-1</sup> PV al mismo tiempo que les fue administrado el tratamiento al grupo AAE.

#### **Muestreo sanguíneo intensivo y cuantificación del nivel sérico de IGF-1**

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 120 min mediante venopunción de la yugular utilizando agujas estériles de 0.8 x 38 mm (Precision Glide™, 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 réplica fue colectada y almacenada en microtubos de polipropileno MCT-150C (Axygen<sup>MR</sup> Scientific, INC., Union City, CA, USA) de 1.5 mL y almacenados a una temperatura de -20°C.

Debido a que el IGF-I no es una hormona liberada en forma pulsátil, las muestras de suero colectadas durante el muestreo intensivo a intervalos de 120 minutos (3 muestras por cabra) fueron evaluadas mediante radioinmunoanálisis por su contenido de IGF-I de acuerdo a los procedimientos señalados por Berrie *et al.*, (1995), con un CV intra-ensayo de 10% y un límite de detección de 0.2 ng mL<sup>-1</sup>. En total se colectaron 3 muestras por

cabra, 15 muestras por tratamiento, con un total de 30 muestras de suero originales, de las cuales se analizó el contenido de IGF-I. Todos los análisis hormonales fueron realizados en el Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Estatal de Nuevo Mexico, EUA.

#### **Análisis ultrasonográfico de la actividad ovárica: Folículos antrales**

Una vez finalizado la aplicación de los tratamientos, ya en fase folicular tardía, se realizó un análisis ultrasonográfico, para evaluar la actividad ovárica, considerando el número de folículos antrales. 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 de látex estéril aplicando nuevamente gel como lubricante.

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 con la técnica transrectal con imagen ultrasónica (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 experto en imagen, quien desconocía cualquier información previa de la cabra o del tratamiento a la 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 estadísticos**

Los pesos corporales, condición corporal, así como la actividad ovárica medida como el número de folículos antrales (mayores a 5 mm, FA), fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANOVA) dentro de un diseño completamente al azar con dos tratamientos y 10 - 12 repeticiones por tratamiento (Morris, 1999). Las concentraciones séricas de IGF-I 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 de tratamiento (GLUT & CONT) 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 mediante la opción LSMEANS del procedimiento GLM (PROC GLM) del SAS (Littell *et al.*, 1991). El nivel de confiabilidad del experimento es de un 95%, con una probabilidad de 0.05 ( $P < 0.05$ ).

## **RESULTADOS Y DISCUSION**

En el Cuadro 2 se concentran los promedios del peso vivo al ultrasonido (PVUS) y la condición corporal al ultrasonido (CCUS) monitoreados en ambos grupos. Dichas variables no difirieron ( $P > 0.05$ ) entre grupos experimentales desde el inicio del tratamiento hasta la toma de la ecografía en el día 17 (Cuadro 2).

Por otra parte, la actividad ovárica medida como el número de folículos antrales difirió ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos en favor del grupo tratado (GLUT). En efecto, las cabras del grupo GLUT registraron el mayor número de folículos

antrales (FA) con 3.4 unidades, mientras que el control (CONT) registró 2.1 unidades ( $P = 0.05$ ). Sin embargo, los niveles séricos de IGF-I no difirieron entre tratamientos, aunque existió una diferencia ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos respecto a los niveles de IGF-I a través del tiempo (Cuadro 3). Al analizar las variables experimentales entre los tratamientos, se observó una correlación positiva entre el peso vivo (PVUS) y condición corporal (CCUS), con un coeficiente de 0.845, ( $P = 0.0021$ ).

La hipótesis planteada al inicio de este estudio consideró que la suplementación de corto plazo con glutamato, afectaría positivamente el comportamiento reproductivo en cabras, promoviendo el desarrollo de una mayor población de folículos antrales. Se propuso adicionalmente, que dicha respuesta estaría relacionada con incrementos en la concentración de los niveles séricos de IGF-I. Los resultados obtenidos en la investigación muestran que existió un efecto positivo sobre el desarrollo de FA para las cabras del grupo suplementado con aminoácidos excitadores, aunque dicho efecto no fue relacionado a un incremento en los niveles séricos de IGF-I, ya que no se observaron diferencias entre tratamientos. Lo anterior sugiere que el efecto positivo de la suplementación de corto plazo con glutamato sobre el número de folículos antrales, es ejercido por la acción endocrina de algún factor gonadotropico o metabólico y no en respuesta a incrementos en los niveles séricos de IGF-I. Asimismo, el incremento en la actividad ovárica no puede ser relacionada a efectos de la nutrición de mediano o largo plazo ya que ni el peso vivo (PV), ni la condición corporal (CC), ni el nivel de alimentación de las cabras en estudio difirió entre tratamientos a lo largo del periodo experimental.

Se ha demostrado que el uso de aminoácidos excitadores puede modular la función reproductiva en

**Cuadro 2.** Medias de mínimos cuadrados para peso vivo al ultrasonido (PVUS) y condición corporal al ultrasonido (CCUS).

Variable	CONT	AAE	NSO <sup>1</sup>	EE <sup>2</sup>
PVUS	45.22 <sup>a</sup>	43.91 <sup>a</sup>	0.497	1.378
CCUS	3.31 <sup>a</sup>	3.30 <sup>a</sup>	0.8781	0.084

<sup>1</sup> Nivel de Significancia Observado

<sup>2</sup> Error Estándar más conservador

**Cuadro 3.** Medias de mínimos cuadrados para folículos antrales (FA), concentraciones séricas (ng mL<sup>-1</sup>) de IGF-I y tiempo del muestreo (T).

Variable	CONT	AAE	NSO <sup>1</sup>	EE <sup>2</sup>
FA	2.18 <sup>b</sup>	3.40 <sup>a</sup>	<b>0.05</b>	0.4
IGF-I	248.27 <sup>a</sup>	298.40 <sup>a</sup>	0.241	28.9
T1	257.8 <sup>b</sup>	313.2 <sup>a</sup>	<b>0.001</b>	10.5
T2	239.2 <sup>b</sup>	299.0 <sup>a</sup>	<b>0.001</b>	10.5
T3	247.8 <sup>b</sup>	282.27 <sup>a</sup>	<b>0.001</b>	10.5

mamíferos (Brann y Mahesh, 1992; Brann, 1995; Kalb 1995). Brann y Mahesh (1997) encontraron que la administración de glutamato y sus agonistas en ratas, puede inducir la liberación de LH en animales anéstricos. Mientras que los antagonistas hacia los receptores glutamatergicos ionotrópicos, puede inhibir la liberación pulsátil de LH. Estos hallazgos concuerdan con los resultados obtenidos en este estudio, observándose que la función ovárica en cabras fue favorecida por el efecto agudo de la suplementación de glutamato. Se ha observado que en ratas y hamsters, el efecto estimulador de NMDA, receptor agonista de glutamato, sobre la secreción de LH es bloqueado o significativamente atenuado mediante la administración de antagonistas del receptor a GnRH; presumiblemente debido a que el efecto estimulatorio de NMDA es mediado a través del aumento en la secreción de GnRH (Urbanski, 1990; Urbanski *et al.*, 1996). Asimismo, Estienne *et al.*, (2000) reportaron que la administración intravenosa (10 mg/kg de PV) de NMDA, estimuló la liberación de LH, GH y testosterona en porcinos, sin afectar los niveles circulantes de estradiol o leptina. Estos resultados sugieren que existen diferencias en el control neuroendocrino de la secreción de LH y FSH, por lo que el estudio de modelos alternos del control endocrino de la reproducción deberán ser planteados en futuras investigaciones.

Por otra parte, el monitoreo de la hormona IGF-I a lo largo del periodo de experimentación, permitió establecer que no existe relación entre el desarrollo de folículos antrales y los niveles séricos de IGF-I. Beam y Butler (1999) reportaron que las concentraciones plasmáticas de IGF-I están positivamente

correlacionadas con la condición corporal y el consumo de alimento. Sin embargo, nuestros resultados indican que no existió un efecto positivo de la suplementación de glutamato sobre los niveles séricos de IGF-I. Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con datos reportados por Scaramuzzi *et al.*, 2006, quienes encontraron que la suplementación nutricional de corto plazo (5 días) ya sea con glucosa o lupinos no afectó la concentración plasmática de IGF-I. Del mismo modo, Viñoles *et al.*, (2007) observó que los niveles circulantes de IGF-I en ovinos, no fueron modificados con una suplementación de corta duración (6 días), aunque incrementos en las concentraciones de glucosa, insulina y leptina fueron observados.

Adicionalmente, Viñoles *et al.*, (2007) reportó que una suplementación de 6 días, usando una dieta de maíz y harina de soja, prolonga la vida y el diámetro del folículo dominante en ovinos, aunque no se produjo modificación en los niveles totales de IGF-I, estradiol o FSH. Por lo que, al igual que Mazonbourg *et al.*, (2003) planteamos la posibilidad de que la nutrición pudiera afectar la síntesis de IGF-BPs, y mantener los niveles de IGF-I en un rango óptimo para el crecimiento del folículo preantrales. Lozana *et al.*, (2003) y Gong (2002) reportaron que una subnutrición reduce las concentraciones de IGF-I en ovinos y en bovinos. Esta discrepancia entre los resultados pudo deberse al efecto del tiempo y duración del periodo de la suplementación nutricional usado en esta investigación (días 1, 9, 14 y 17 después del estro). Dado que IGF-I por sí mismo, es incapaz de responder a los efectos de la suplementación de corta duración, es posible que el sistema IGF pudiera ser regulado por factores gonadotropicos o metabólicos.

Según Gaudice (1992), existe una correlación positiva entre IGF-1 y función ovárica, particularmente desarrollo folicular. Al respecto, la administración intravenosa de IGF-I (240 µg/kg·d) por 7 días más aplicaciones repetitivas de LH humana (7–10 mIU/ml) e infusiones crecientes cada 3 días de FSH humana (de 7.5 a 17.5 mIU/ml) por 15 días, en monos previamente tratados con un antagonista a GnRH, no produjo cambios en los niveles séricos de IGF-I intrafolicular (Zelevnik *et al.* 2005). Estos hallazgos hacen suponer que existen otros factores endocrinos que actúan en sinergia con las gonadotropinas para incrementar el desarrollo folicular. Posiblemente la acción de hormonas metabólicas como leptina o insulina, podrían estar involucrados en el desarrollo de folículos antrales como efecto de un incremento en la síntesis de FSH. Al respecto, Kendall *et al.*, (2004) y Scaramuzzi *et al.*, (2006), proponen que la suplementación de corto plazo produce un incremento en las concentraciones de hormonas metabólicas como la leptina, la cual podría disminuir la capacidad de IGF-I para estimular la producción de estradiol folicular, lo que en turno podría disminuir el mecanismo de retroacción negativo de estradiol, permitiendo un incremento en la concentración de FSH y por lo tanto el desarrollo de más folículos.

### CONCLUSIONES

La hipótesis planteada al inicio de esta investigación es aceptada parcialmente, ya que aunque el efecto agudo de la suplementación de L-glutamato generó un incremento en el número de FA, los niveles séricos de IGF-I no difirieron entre tratamientos. Estos hallazgos sugieren que dicha suplementación pudo haber incrementado el nivel secreción de FSH ó la expresión de receptores a FSH, lo cual en turno, pudo haber estimulado el desarrollo de la población de folículos antrales, en una ruta no-dependiente de IGF-1.

### Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero de los Proyectos Colaborativos Internacionales CONACYT-FOMIX-DURANGO: DGO-2008-C01-87559 & DGO-2009-C02-116746, así como al Proyecto ALFA-III-ALAS/ALFA-III-82, financiado por la Unión Europea.

### LITERATURA CITADA

Beam, S.W.; Butler, W.R. 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 54:411-424.

Berrie, R. A.; Hallford, D. M.; Galyan, M. L. 1995. Effects of zinc source and level of performance, carcass characteristics, and metabolic hormone concentrations of growing and finishing lambs. *The Professional Animal Scientist*. 11: 149-156.

Brann, D. W.; Mahesh, B. V. 1992. Endogenous excitatory amino acid regulation of the progesterone-induced LH and FSH surge in estrogen-primed ovariectomized rats. *Neuroendocrinology* 53(1):107-110.

Brann, D.W.; Mahesh, B.V. 1997. Excitatory aminoacids: evidence for a role in the control of reproduction and anterior pituitary hormone secretion. *Endocrine Reviews*. 18(5):678-700.

Brann, D.W. 1995. Glutamate: a major excitatory transmitter in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology* 61:213-225.

Chemineau P, Martin GB, Saumande J, Normant E 1998 Seasonal and hormonal control of pulsatile LH secretion in the dairy goat (*Capra hircus*). *Journal of Reproduction and Fertility* 83 91-98.

Chemineau O, Malpoux B, Brillard JP, Fostier A 2007 Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal* 1 419-432.

Dickie, A. M.; Paterson, C.; Anderson, L. M.; Boyd, J. S. 1999. Determination of corpora lutea numbers in Boroola –Texel ewes using transrectal ultrasound. *Theriogenology* 51: 1209-1224.

Estienne, M.J.; Broughton, D.S.; Barb, C.R. 2000. Serum concentrations of luteinizing hormone, testosterone, estradiol, and leptin in boars treated with n-methyl-D-L-aspartate. *Journal Of Animal Science*. 78(2):365-370.

García, E. 1981. Modificaciones al sistema de Coopen para adaptarlo a las condiciones de la Republica mexicana. Instituto de Geografía, UNAM. México. 253 p.

Giudice, L.C. 1992. Insulin-like growth factors and ovarian follicular development. *Endocr Rev* 13: 641-69.

Gamez-Vazquez, H.G., Rosales-Nieto, C.A.; Bañuelos-Valenzuela, R.; Urrutia-Morales, J.; Diaz-Gomez, M.O.; Silva-Ramos, J.M.; Meza-Herrera, C.A. (2008) Body condition score positively influence plasma leptin concentrations in criollo goats. *Journal of Animal and Veterianry Advances* 7,1237-1240.

Guerra-García, M.; Meza-Herrera, C.A.; Sanchez-Torres-Esqueda, M.T.; Gallegos-Sanchez, J.; Torres-Hernandez, G.; Pro-Martinez, A. (2009) IGF-1 and ovarian activity of goats in divergent body condition and supplemented with non-degradable ruminal protein. *Agrociencia* 43: 241-247.

Gong, J. G. 2002. Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. *Domest Anim Endocrinol* 2002, 23: 229–241.

Griffin, J. K.; Ginther, O. J. 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim. Sci.* 70:953-972.

Kalb, R. G. 1995. Current excitement about the glutamate receptor family. *Neuroscience Update* 1 60–63

Kendall, N. R.; Gutierrez, C. G.; Scaramuzzi, R. J.; Baird, D. T.; Webb, R.; Campbell, B. K. 2004. Direct in vivo effect of leptin on ovarian steroidogenesis in sheep. *Reproduction* 128,757-765.

Littell, C. R.; Freund, J. R.; Philip, C. 1991. SAS System for Linear Models, Third edition, Cary, NC: SAS Institute Inc., 329 pp.

- Lozana, J. M.; Lonergran, P.; Boland, M. P.; O'Callaghan, D. 2003. Influence of nutrition on the effectiveness of superovulation programmes in ewes: effect on oocyte quality and postfertilization development. *Reproduction* 2003, 125: 543–553.
- Martin, G.B.; Rodger, J.; Blache, D. (2004a). Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants. *Reproduction Fertility and Development* 16, 491-501.
- Martin, G.; Milton, J.; Davidson, R.; Banchero Hunzicker, G.; Lindsay, D.; Blache, D. (2004b) Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal Reproduction Science* 82-83, 231–45.
- Meza-Herrera, C.A.; Sanchez, S.J.M.; Chavez-Perches, J.G.; Salinas, H.; Mellado, M. (2004) Protein supplementation, body condition and ovarian activity in goats. Preovulatory serum profile of insulin. *South African Journal of Animal Science*. 34(Suppl. 1), 223-226.
- Meza-Herrera, C.A.; Ross, T.; Hallford, D.; Hawkins, D.; Gonzalez-Bulnes, A. (2007). Effects of body condition and protein supplementation on LH secretion and luteal function in sheep. *Reproduction in Domestic Animals* 42, 461-465.
- Meza-Herrera, C.A.; Hallford, D.M.; Ortiz, J.A.; Cuevas, R.A.; Sanchez, J.M.; Salinas, H.; Mellado, M.; Gonzalez-Bulnes A (2008) Body condition and protein supplementation positively affect periovulatory ovarian activity by non-LH mediated pathways in goats. *Animal Reproduction Science* 106, 412-420.
- Meza-Herrera CA, Veliz-Deras FG, Wurzinger M, Lopez-Ariza B, Arellano-Rodriguez G, Rodriguez-Martinez R (2010a) The kiss-1, kisspeptin, gpr-54 complex: A critical modulator of GnRH neurons during pubertal activation. *Journal of Applied Biomedicine* 8, 1-9.
- Meza-Herrera CA, Gonzalez-Bulnes A, Kridli R, Mellado M, Arechiga-Flores CF, Salinas, H, Luginbuhl JM (2010b) Neuroendocrine, metabolic and genomic cues signaling the onset of puberty in females. *Reproduction in Domestic Animals* In press. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2009.01355.x
- Morris TR (1999) Experimental designs and analyses in animal sciences. CABI-Publishing, New York, NY. USA., p. 208.
- Mazerbourg, S.; Bondy, C. A.; Zhou, J.; Monget, P. 2003. The Insulin-like Growth Factor system: a key determinant role in the growth and selection of ovarian follicles ? A comparative species study *Reproduction in Domestic Animals* 38, 247-258, (2003).
- NRC, 1981. Effect of environment on nutrients requirements of domestic animals. National Research Council. National Academic Press, Washintong, D, C. 152 pp.
- Scaramuzzi, R. J.; Campbell, B. K.; Downing, J. A.; Kendall, N. R.; Khalid, M.; Muñoz-Gutierrez, M.; Somchit, A. 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reprod. Nutr. Dev.* 46 (2006) 339–354.
- Urbanski, H. F.; Kohama, S. G.; Garyfallou, V. T. 1996. Mechanisms mediating the response of GnRH neurones to excitatory amino acids. *Journal of Reproduction and Fertility* 1359-6004/96.
- Urbaski, H. F. 1990. A role of Methyl-D-Aspartate receptors in the control of seasonal breeding. *Endocrinology* 127:2223-2228.
- Viñoles, C.; Paganoni, B. L.; Glover, K. M. M.; Milton, J. T. B.; Martin, G. B. 2007. Alimentación focalizada para aumentar la eficiencia reproductiva en ovinos: modelos de una oleada folicular para estudiar su efecto en el desarrollo folicular y los perfiles hormonales. V Curso Internacional de Reproducción en Rumiantes. Colegio de Postgraduados, México.
- Zeleznik, A. J.; Little-Ihrig, L.; Ramasawamy, S. 2002. Administration of insulin-like growth factor-1 to rhesus monkeys does not augment gonadotropin-Stimulated Ovarian Steroidogenesis. *Clinical Endocrinology & Metabolism* Vol. 87, No. 12: 5722-5729.