

# SUPLEMENTACION DE AMINOACIDOS EXCITADORES, ACTIVIDAD OVÁRICA Y NIVELES SÉRICOS DEL FACTOR DE CRECIMIENTO ANALOGO A INSULINA-1 EN CABRAS BAJO FOTOPERÍODOS CRECIENTES

## EXCITATORY AMINO ACID SUPPLEMENTATION, TOTAL OVARIAN ACTIVITY AS WELL AS SERUM CONCENTRATIONS OF INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1 (IGF-1) IN ADULT GOATS UNDER INCREASED PHOTOPERIODS

C. A. Meza Herrera <sup>1,2</sup>, J. E. Valle Moysen <sup>1</sup> y H. Salinas <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma Chapingo. Unidad Regional Univesitaria de Zonas Áridas. Bermejillo, Durango. México. [cmeza2000@hotmail.com](mailto:cmeza2000@hotmail.com). <sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

**RESUMEN.** Se valuó el efecto de la suplementación de aminoácidos excitadores sobre la actividad ovárica total (AOT) de cabras adultas, considerando los componentes folículos totales (FT,  $< > 5$  mm), folículos antrales (FA,  $> 5$  mm) y cuerpos luteos totales (CLT), así como los niveles séricos del factor de crecimiento análogo a insulina tipo 1 (IGF-1) bajo fotoperíodos crecientes. La investigación se desarrolló en la Unidad de Investigación Caprina Sur, URUZA-UACH, localizada entre los 25°LN y 103°LO, a 1117 msnm, durante febrero a mayo del 2003. Las cabras (n=20) fueron aleatoriamente distribuidas en dos grupos experimentales: 1). Aminoácidos Excitadores (AAE, n=10; PV=43.8±3.2, con 7 mg de glutamato kg<sup>-1</sup> PV, i.v.) y 2). Control (CONT, n=10; PV=44.7±3.04), recibiendo dieta 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), con agua, sombra y sales minerales a libre acceso. Una vez estrualmente sincronizadas y hacia la fase folicular media, cinco cabras por tratamiento fueron aleatoriamente seleccionadas para hacer un muestreo intensivo de sangre (6 h x 15 min) y evaluar los niveles séricos de IGF-1 mediante radioinmunoanálisis. Durante la fase lútea tardía (d19) se realizó un estudio ultrasonográfico de la actividad ovárica, considerando el número de FT, FA y CLT, la AOT-1 (CLT+FT) y AOT-2 (CLT+FA). Los promedios para las variables FT, FA y AOT-1 fueron 2.35, 2.05 y 4.15 unidades, y no difirieron (P>0.10) entre tratamientos. Sin embargo, las cabras suplementadas mostraron un mayor número de CLT (P=0.07) así como de AOT-2 (P=0.03). El promedio global para IGF fue 211.06 ng mL<sup>-1</sup>, sin observar diferencias (P>0.90) entre tratamientos. La suplementación de glutamato en cabras adultas bajo un fotoperíodo creciente, afectó positivamente la función ovárica, sin diferencias en los niveles séricos de IGF-1. Ésto sugiere un posible efecto directo de glutamato a nivel ovario cuyas señales autocrinas o paracrinas lograron activar un mayor reclutamiento y(o) selección folicular, o una posible reducción en el nivel de atresia folicular.

**Palabras clave:** Cabras, aminoácidos excitadores, actividad ovárica, factores de crecimiento análogos a insulina-1.

**SUMMARY.** The effect of excitatory amino acid supplementation upon total ovarian activity (AOT) in adult goats, considering its components total follicles (FT,  $< > 5$  mm), antral follicles (FA,  $> 5$  mm) and total corpus luteum (CLT) number, as well as serum concentrations of insulin like growth factor-1 (IGF-1) under increased photoperiods was evaluated. This research was conducted in the Southern Goat Research Unit, URUZA-UACH, located at 25° LN and 103° LO, at 1,117 m.a.s.l, during February to May. Goats (n=20) were randomly assigned to one of two experimental groups, 1). Excitatory amino acids (AAE; n=10, BW=43.8±3.2 kg, with 7 mg kg<sup>-1</sup> PV, i.v.), and 2). Control (CONTROL, n=12, BW=44.7±3.04 kg), receiving a basal diet of 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), as well as free access to water, mineral salts and shade. Once estrually synchronized and towards the middle follicular phase, five goats per treatment were randomly selected to perform an intensive sampling blood (6 h x 15 min) to evaluate IGF-1 serum concentrations by RIA. During the late luteal phase (d 19) a transrectal ultrasonographic scanning was performed to evaluate FT, FA, CLT, AOT1 (CLT+FT) and AOT-2 (CLT+FA). Overall averages for FT, FA and AOTFT were 2.35, 2.05, and 4.15, respectively, without differences between treatments. However, supplemented goats depicted a greater number for CLT (P=0.07) as well as for AOTFA (P=0.03). Overall mean for IGF-1 was 211.06 ng mL<sup>-1</sup> without differences between treatments. Glutamate supplementation in adult goats under increased photoperiods positively affected ovarian function without differences between treatments regarding serum IGF-1 concentrations. The last suggests a possible direct effect of glutamate at ovarian level whose autocrine or paracrine signals could have activated an increased follicular recruitment or selection, or a possible reduction to the level of follicular atresia.

**Key words:** Goats, excitatory amino acids, ovarian activity, insulin-like growth factors.

## INTRODUCCIÓN

En condiciones naturales la reproducción de las cabras es estacional desde fines del verano y durante todo el otoño, lo cual permite tener un parto al año, desde fines de invierno hasta fines del verano, y largo reposo sexual hasta la próxima temporada de servicios (Legan y Karsch, 1980; Russell, 1998; Russell y Soni, 1998). Por ello, el poder ampliar la temporada de servicios a todo el año y aumentar el número de crías obtenidas con respecto al tiempo es un reto para los productores caprinos. Lo cual permitiría distribuir partos y lactancias en una forma homogénea a través del año, y sobre todo mejorar los niveles de producción (Legan y Karsch, 1980; Russell, 1998; Russell y Soni, 1998).

Existen diversas técnicas cuyo propósito es hacer que las cabras sean más eficientes desde un punto vista productivo-reproductivo. Uno de los factores más estudiados es la suplementación de ciertos componentes como es el caso de los aminoácidos excitadores (AAE). En efecto, se ha demostrado que el glutamato juega un importante papel en la regulación de liberación pulsátil de las hormonas gonadotrópicas, en la inducción de la pubertad, así como durante la fase preovulatoria del ciclo estral (Seeburg, 1993; Rodríguez-Moreno y Lerma, 1998). Dentro de los principales compuestos neuroexcitadores, el glutamato es el principal AAE endógeno que ejerce su acción a través de receptores ionotrópicos y metabotrópicos (Brann y Mahesh, 1995; Lerma, 1998; Michelis, 1998). El ácido glutámico y el ácido aspártico son neurotransmisores excitatorios de amplia e intensa distribución en el sistema nervioso central (SNC), que median en la mayoría de las transmisiones sinápticas excitatorias del cerebro. Éstos se hallan involucrados en procesos tan diversos como las lesiones cerebrales isquémicas y el aprendizaje, a la vez de influir en el desarrollo de las conexiones sinápticas normales del cerebro (Brann y Mahesh, 1995; Meldrum, 2000).

El objetivo del estudio fue determinar el efecto de la suplementación endovenosa de aminoácidos excitadores sobre la actividad ovárica total considerando folículos totales y cuerpos lúteos totales en cabras adultas expuestas a un fotoperíodo natural creciente. Como objetivo adicional se evaluó el efecto de la suplementación endovenosa de aminoácidos excitadores sobre los niveles séricos de los factores de crecimiento análogos a insulina (IGF-1) y determinar su posible relación con la actividad ovárica total de cabras adultas expuestas a un fotoperíodo natural creciente.

## 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, Universidad Autónoma Chapingo. La Unidad se localiza en el municipio de Tlahualilo, Durango, a 3 km de Bermejillo, Durango, entre las coordenadas UTM 639935 E y 2864331 N (Universal Transversa Mercator), correspondiente a las coordenadas geográficas 25° 53' Latitud N y 103° 36' Longitud O, a una altitud de 1,117msnm.

### Condiciones ambientales

El área posee un clima seco cálido (BW) con oscilaciones térmicas muy extremas, con promedios anuales de precipitación y temperatura de 217.5 mm, y 22.3° C, respectivamente. El mes más cálido es junio con temperaturas superiores a los 40° C siendo enero el mes más frío con una temperatura mínima a los 4 ° C.

### Diseño de tratamientos

Las cabras (n=20) fueron aleatoriamente distribuidas en dos grupos experimentales control (CONT) y aminoácidos excitadores (AAE) con un peso vivo (PV) y una condición corporal (CC) homogéneos, y fueron asignadas por parejas a uno de los 10 corrales. A cada grupo se le asignó aleatoriamente uno de dos tratamientos, 1) Control, sin suplementación (CONT, n=10; PV=44.75±3.04), y 2) Aminoácidos Excitadores (AAE, n=10, PV=43.85±3.2). El tratamiento AAE fue administrado por vía endovenosa mediante punción de la yugular, a razón 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), todos los lunes y viernes del periodo del experimento, el cual incluyó del 24 de febrero al 9 de mayo del 2003, con un total de 20 aplicaciones por cabra.

### Alimentación de los animales

Durante el mes de enero bajo condiciones naturales de fotoperíodo, las cabras fueron sometidas a un periodo de acondicionamiento durante tres semanas, para homogenizar tanto el peso vivo (PV) como la condición corporal (CC) de la población, y fueron alimentadas con heno de alfalfa (14%, PC) y maíz roado (11.2%, PC). Las cabras fueron alimentadas durante la mañana a las 8:00 y por la tarde a las 18:00 horas.

### Preparación de solución buffer

Se pesaron 4 g de L-glutamina en polvo (Merck-C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Germany) en una balanza analítica y fueron disueltos en 50 mL de agua destilada estéril. Debido a la dificultad observada para disolver los AAE, los 4 g de AAE fueron integrados en pequeñas cantidades al agua

destilada, agitando mediante vortex en forma vigorosa hasta lograr su disolución. Posteriormente, la solución fue ajustada a un pH neutro con HCl 0.1 N. Todo el proceso de preparación se llevó a cabo en un ambiente completamente estéril. La solución final contenía 80 mg de L-glutamina mL<sup>-1</sup>.

### **Sincronización de estros**

Las cabras fueron estrualmente sincronizadas por medio de implantes de esponjas intravaginales impregnadas de progesterona (P4) (Intervet internacional, Francia), que haría las veces de un cuerpo lúteo. La esponja fue insertada en la cabra por medio de un aplicador de esponjas vaginales Chrono-gest (Intervet Internacional B.V. Boxmeer, Holland). Nueve días posteriores a la colocación de la esponja se aplicó Cloprostenol (Prosilvin C<sup>MR</sup>, Intervet Internacional B.V. Boxmeer, Holland), el cual es un análogo sintético de prostaglandina F<sub>2a</sub> a razón de 1 mL animal<sup>-1</sup> (0.075 mg mL<sup>-1</sup> cabra<sup>-1</sup>). Lo anterior con el fin de provocar la regresión de cualquier cuerpo lúteo que se encontrara presente en cualquiera de las cabras y promover una disminución en las concentraciones de P4. De ésta forma se desencadena el inicio de una fase folicular, con el consiguiente aumento en la concentración de E2 y LH y la consecuente ovulación. Las esponjas fueron retiradas dos días después de la aplicación de Cloprostenol, debiendo ocurrir a las 48 h la presencia del estro.

### **Muestreo sanguíneo intensivo**

En forma aleatoria fueron seleccionadas cinco cabras por tratamiento para realizar un muestreo intensivo sanguíneo. Las muestras sanguíneas fueron colectadas de cada cabra mediante venopunción de la yugular, utilizando agujas estériles de 0.8x38 mm (Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA) y tubos colectores estériles Vacutainer de 10 mL (Corvac, Sherwood Medical, Std. Louis, MO) por un periodo de 6 h a intervalos de 15 minutos. Una vez en el laboratorio, las muestras se dejaron reposar por 30 minutos a temperatura ambiente hasta observarse la formación de coagulo. Las muestras fueron centrifugadas (1,500 x g, 15 min), y el suero fue colectado por duplicado y almacenado en microtubos de polipropileno MCT-150C (Axygen<sup>MR</sup> Scientific, Inc., Union City, CA, USA) de 1.5 mL a temperatura de -20 °C. En total se colectaron 25 muestras por cabra, 125 por tratamiento, con un total de 250 muestras originales de suero.

### **Factores de crecimiento análogos a insulina-1**

Dado que los IGF-1 no muestran un patrón de secreción pulsátil, las muestras colectadas a intervalos de 60 minutos durante el muestreo intensivo (6 muestras por cabra, 30 por tratamiento y 60 del experimento) fueron evaluadas mediante radioinmunoanálisis por su

contenido de IGF-1, siguiendo los procedimientos delineados por Berrie, Hallford y Galyan (1995), con un coeficiente de variación (CV) intra ensayo del 10% y un límite de detección de 0.5 ng mL<sup>-1</sup>. Los análisis hormonales fueron realizados en el laboratorio de endocrinología del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Estatal de Nuevo México, E.U.A.

### **Análisis ultrasonográfico de la actividad ovárica**

El día 17 posterior a la ovulación, ya en fase lútea tardía, la actividad ovárica total fue determinada mediante un análisis ultrasonográfico de las estructuras ováricas. Previo al análisis, 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 fuera del mismo para facilitar su inserción transrectal.

El transductor se introdujo en el recto del animal, avanzándolo 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. Todas las evaluaciones ultrasonográficas fueron realizadas por un experto en imagen, quien desconocía cualquier información previa de la cabra y del tratamiento. El número y tipos de estructuras identificados en ambos ovarios, es decir, folículos mayores y menores a cinco milímetros, folículos totales, así como total de cuerpos lúteos presentes en las estructuras ováricas fueron registrados y fotografiados.

### **Análisis estadísticos**

Los pesos corporales, la condición corporal, así como la actividad ovárica total considerando el número de folículos y cuerpos lúteos totales, fueron evaluados mediante un ANOVA dentro de un diseño completamente al azar con dos tratamientos y 10 repeticiones por tratamiento (Snedecor y Cochran, 1967). Las concentraciones séricas de IGF-1 fueron evaluadas mediante ANOVA con un diseño completamente al azar con un arreglo de parcelas divididas para muestras repetidas en un mismo animal en el tiempo (Gill y Hafs, 1971). Los efectos de tratamientos fueron incluidos en la parcela mayor, utilizando el término cabra dentro de tratamiento para calcular el error (Error A). El tiempo de muestreo y la interacción tratamiento x tiempo fueron incluidos en la

parcela menor utilizando el término residual para calcular su error (Error B). En el evento de un efecto significativo, la separación de medias consideró el procedimiento PDIFF, para probar sus diferencias mediante el procedimiento LSMEANS. Para los análisis se 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 (Cuadro 1).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Peso vivo y condición corporal al inicio del experimento, a la sincronización y al ultrasonido

En el Cuadro 1, se muestran las medias de mínimos cuadrados de peso vivo (PV, kg) y condición corporal (CC, unidades) al inicio del periodo experimental, en las cuales no se observó diferencia ( $P > 0.50$ ) entre tratamientos para ambas variables. En el Cuadro 2, se muestran las medias de mínimos cuadrados de peso vivo (PV, kg) y condición corporal (CC, unidades) al

momento de la sincronización (PVSYN, CCSYN, respectivamente) y peso vivo (PV, kg) y condición corporal (CC, unidades) al momento del ultrasonido (PVUS y CCUS, respectivamente). Ninguna de las variables de respuesta difirieron ( $P > 0.70$ ) entre tratamientos, lográndose mantener dichas variables lo más homogéneas posible.

### Folículos totales, folículos antrales, cuerpos lúteos totales y actividad ovárica total

Las medias de mínimos cuadrados para el número de folículos totales (FT,  $< & > 5$  mm), folículos antrales (FA,  $> 5$  mm), cuerpos lúteos totales (CLT), actividad ovárica total-1 (AOTFT= FT+CLT) y actividad ovárica total-2 (AOTFA= FA+CLT), son presentados en el Cuadro 3. Los promedios para las variables FT, FA y AOTFT fueron 2.35, 2.05 y 4.15 unidades, y no difirieron ( $P > 0.10$ ) entre tratamientos. Sin embargo, las cabras suplementadas con AAE mostraron un mayor número de CLT ( $P = 0.07$ ) así como de AOTFA ( $P = 0.03$ ).

**Cuadro 1.** Medias de mínimos cuadrados para peso vivo (PV 1, kg), y condición corporal (CC 1, unidades) al inicio del periodo experimental en cabras adultas (n=20) bajo fotoperiodo natural creciente (abril - marzo) en la Comarca Lagunera (25° LN)

<sup>1</sup> NSO, nivel de significancia observado

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

**Cuadro 2.** Medias de mínimos cuadrados para peso vivo (PVSYN, kg), y condición corporal (CCSYN, unidades) al momento de la sincronización, peso vivo (PVUS, kg), y condición corporal (CCUS, unidades) al momento del ultrasonido en cabras adultas (n=20) fotoperiodo natural creciente (abril - marzo) en la Comarca Lagunera (25° LN)

Variables	Tratamientos		NSO <sup>1</sup>	EE <sup>2</sup>
	AA	CC		
PVSYNCH	43.75 <sup>a</sup>	44.95 <sup>a</sup>	0.73	0.26
CCSYNCH	3.35 <sup>a</sup>	3.35 <sup>a</sup>	1.00	0.04
PVUS	48.40 <sup>a</sup>	48.40 <sup>a</sup>	1.00	1.32
CCUS	3.32 <sup>a</sup>	3.32 <sup>a</sup>	1.00	0.05

<sup>1</sup> NSO, nivel de significancia observado

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

**Cuadro 3.** Medias de mínimos cuadrados para folículos totales (FT, < & > 5 mm), folículos antrales (FA, > 5 mm), cuerpos luteos totales (CLT), actividad ovárica total-1 (AOTFT=FT+CLT) y actividad ovárica total-2 (AOTFA=FA+CLT) en cabras adultas (n=20) suplementadas con aminoácidos excitadores (AA) durante febrero y marzo, y grupo control (CC) en la Comarca Lagunera (25° LN)

Variables	<u>Tratamientos</u>			
	AA	CC	NSO <sup>1</sup>	EE <sup>2</sup>
FT	2.40 <sup>a</sup>	2.30 <sup>a</sup>	0.79	0.26
FA	2.30 <sup>a</sup>	1.80 <sup>a</sup>	0.10	0.20
CLT	2.10 <sup>a</sup>	1.50 <sup>b</sup>	0.07	0.22
AOTFT (FT+CLT)	4.50 <sup>a</sup>	3.80 <sup>a</sup>	0.19	0.36
AOTFA (FA+CLT)	4.40 <sup>a</sup>	3.30 <sup>b</sup>	0.03	0.33

<sup>1</sup> NSO, nivel de significancia observado

<sup>2</sup> EE, error standar de medias de mínimos cuadrados más conservador

**Cuadro 4.** Medias de mínimos cuadrados durante la fase folicular media de la concentración sérica de los factores de crecimiento análogos a insulina (IGF, ng mL<sup>-1</sup>), en cabras adultas (n = 20) suplementadas durante Febrero y Marzo con aminoácidos excitadores (AA) o sin suplementación, Control (CC) en la Comarca Lagunera (25° LN)

Variables	<u>Tratamientos</u>			
	AA	CC	NSO <sup>1</sup>	EE <sup>2</sup>
<b>IGF</b>	<b>211.86<sup>a</sup></b>	<b>210.26<sup>a</sup></b>	<b>0.97</b>	<b>29.34</b>

<sup>1</sup> NSO, nivel de significancia observado

<sup>2</sup> EE error standar de medias de mínimos cuadrados mas conservador

### Concentración sérica de los IGF-1

Las medias de mínimos cuadrados durante la fase folicular media de la concentración sérica de los IGF (ng mL<sup>-1</sup>), para cabras suplementadas con aminoácidos excitadores y control se concentran en el Cuadro 4. El promedio global para los noveles séricos de IGF durante la fase folicular en el presente estudio fue 211.06 ng mL<sup>-1</sup>, sin embargo, no existieron diferencias (P>0.90) entre tratamientos para dicha variable.

Se consideró que la suplementación de aminoácidos excitadores incrementaba la función celular gonadal en cabras adultas al promover un incremento de la actividad ovárica total. Tal efecto se planteó que estaría relacionado a un aumento en los niveles séricos de IGF-1. Los resultados del presente experimento mostraron que las cabras tratadas con aminoácidos excitadores tuvieron un mayor número de CLT así como una mayor actividad ovárica total considerando el número de CLT+FA, aunque dicho efecto no fue relacionado a un incremento de 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 (CLT, CLT+FA),

más no así en los niveles circulantes de IGF-I. Por lo cual, 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 tanto en CLT como en la AOTFA 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.

Existen diversos factores que alteran el efecto promotor de los aminoácidos excitadores sobre la secreción de IGF-1, la edad de los animales, el estado nutricional, concentración de la dosis y el estado reproductivo, como ha sido reportado por diversos autores (Norris *et al.*, 2001; Martín *et al.*, 2005). Por ejemplo, IGF-I puede servir como indicador del estado nutricional ya que se ha sugerido que los nutrientes influyen en la síntesis y acción de los IGF-I, así como en el nivel de expresión de las IGFBP (Ketelslegers, *et al.*, 1995).

Varios estudios han demostrado que insulina y IGF-1 tiene efectos a nivel del ovario estimulando la

proliferación de las células de la granulosa y la producción de progesterona (Gong, *et al.*, 1993; Spicer *et al.*, 1993). Así, al no existir una diferencia significativa en cuanto a la concentración de IGF-1 se asevera que el incremento en la AOT promovida por la administración de aminoácidos excitadores fue mediada siguiendo una ruta metabólica diferente independiente de IGF-1

Spicer y Echterkamp (1995) afirman que tanto insulina y los IGF-1 han mostrado efectos directos sobre células ováricas cultivadas. Estos incluyen la estimulación de la mitogénesis celular de la granulosa, producción de estradiol por la granulosa, síntesis de andrógenos por parte de la teca y producción de progesterona por las células lúteas. Sin embargo, existen diferencias significativas con respecto de los efectos de insulina y IGF-1 sobre la producción de estradiol de las células de la granulosa.

La nutrición es uno de los factores que condicionan el comportamiento del eje somatotrópico GH-IGF. Al respecto, 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. Se sabe que la nutrición modula la secreción de GH, la cual se relaciona en forma inversa al plano nutricional, es decir, existe mayor secreción de GH cuando existen periodos de restricción alimenticia. Según Foster *et al.* (1989), los niveles de GH en ovejas ovariectomizadas fueron altos bajo régimen de alimentación restringido, mientras una baja concentración de GH se presentó en ovejas con altos niveles de alimentación.

En el presente estudio, a reserva de evaluar el efecto de la suplementación de AAE sobre los niveles de la hormona metabólica GH, y dado que la alimentación ofrecida a las cabras en estudio cubrió el 100% de los requerimientos nutricionales, se observó un patrón de secreción de IGF-1 el cual no difirió entre tratamientos. Por lo anterior, se sugiere que el incremento en la actividad ovárica promovida por la administración de aminoácidos excitadores fue mediada siguiendo una ruta metabólica independiente de la acción del eje somatotrópico, y particularmente de los niveles de IGF-1.

Los aminoácidos excitadores han sido implicados en el control de la secreción de LH a través de la liberación de GnRH, aunque resultados diferentes, sugieren un efecto inhibitorio de EAA sobre la secreción de LH en varias especies después de la gonadectomía han sido reportados (Giri y Kaufman, 1995). Por lo que, en base a los resultados obtenidos, se concidera que los AEE afectaron amplia y positivamente sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. Pero aun así, otra posibilidad sería

evaluar mas estrechamente el posible efecto que la suplementación de AAE pudiera generar en el pulso generador de LH, y evaluar el posible rol que dicha suplementación de glutamato pudiera promover sobre la mayor actividad ovárica y evaluar si dicha actividad está relacionada a una ruta dependiente de las gonadotropinas, aumentando así la actividad del eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal en las cabras suplementadas.

## CONCLUSIONES

El suministro de 7 mg kg<sup>-1</sup> de PV de aminoácidos excitadores a cabras adultas, bajo fotoperíodos crecientes incrementó la actividad ovárica total en cabras adultas (febrero-marzo) en la Comarca Lagunera. El efecto no fue mediado por diferencias en condición corporal, peso vivo, o régimen de alimentación de los animales.

La suplementación generó un incremento en la actividad ovárica total, la administración de glutamato exógeno no promovió diferencias entre tratamientos con respecto a las concentraciones séricas de 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, de la acción de los IGF-1.

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

- Berrie, R.A.; Hallford, D.M. y 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.
- Buonomo, F. C. y 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
- Brann, DW. y Mahesh, VB. 1995. Glutamate: a major neuroendocrine excitatory signal mediating steroid effects on gonadotropin secretion. *J Steroid Biochem Mol Biol. Jun*; 53(1-6):325-9.
- Dickie, A. M.; Paterson, C.; Anderson, L. M. y Boyd, J. S. 1999. Determination of corpora lutea numbers in

- Booroola-Texel ewes using transrectal ultrasound. *Theriogenology* 51:1209-1224.
- Foster, D. L.; Yellon, S.M. y Olster, D.H. 1989. Internal and external determinants of the timing of puberty in the female. *J.Reprod. Fertil.* 75: 327-344.
- Giri, M. y Kaufman, JM. 1995. Involvement of neuroexcitatory amino acids in the control of gonadotropin-releasing hormone release from the hypothalamus of the adult male guinea pig: predominantly inhibitory action of N-methyl-D- aspartate-mediated neurotransmission and its reversal after orchidectomy. *Endocrinology*, Vol 136: 2404-2407
- Gill, J.L. y Hafs, H.D. 1971. Analysis of repeated measurements of animals. *J. Anim. Sci.* 33:331-339.
- Gong, J.D.; McBride, D.; Bramley, T.A. y Webb, R. 1993. Effect of recombinant bovine somatotropin, insulin-like growth factor-1, and insulin on the proliferation of bovine granulosa cells in vitro. *Endocrinology.* 139:67-75.
- Griffin, P.G. y Ginther, O.J. 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim. Sci.* 70:953-972.
- Ketelslegers, J. M.; Maiter, D.; Maes, M.; Underwood, LE. y Thissen, JP. 1995. Nutritional regulation of insulin-like growth factor-I. *Metabolism* 44 [Suppl 4]:50-57.
- Legan, S. J. y Karsch, F. J. 1980. Photoperiodic control of seasonal breeding in ewes: modulation of the negative feedback action of estradiol. *Biol.Reprod.* 23:1061 - 1068.
- Lerma, J. 1998. Kainate Receptor: an interplay between excitatory and inhibitory synapses. *FEBS Lett*430: 100-104.
- Martin, MA.; Serradas Ramos, PS.; Fernández, E.; Goya, L.; Gangnerau, MN.; Lacorne, M.; Pascual-Leone, AM.; Escrivá, F.; Portha, B. y Álvarez, C. 2005. Protein-Caloric Food Restriction Affects Insulin-Like Growth Factor System in Fetal Wistar Rat. *Endocrinology* Vol. 146( 3):1364-1371.
- Meldrum, B. 2000. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *J Nutr* 130: 1007s-10152.
- Michaelis, E. 1998. Molecular Biology of Glutamate Receptors in The Central Nervous System and their role in Excitotoxicity, oxidative stress and Aging. *Progress in Neurobiol* 54: 369-451.
- Norris, R.; Glick, MD.; Milton, H.; Fischer, PhD. y William, N. A. Jr. 2001, The Influence of Nutrition on IGF-1 in Tube-Fed Profoundly Retarded Adults. *Journal of the American College of Nutrition*, Vol. 20(1):81-86 .
- Rodriguez-Moreno, A. y Lerma, J. 1998. Kainate receptor modulation of GABA release involves a metabotropic function. *Neuron* 20: 1211-1218.
- Russell, G.F. y Soni, B.G. 1998. Extraretinal photoreceptors and their regulation of temporal physiology UK. *Reviews of Reproduction* 3, 145-150.
- Russell, G. F. 1998. Shedding light on the biological clock. *Neuron* 20:829-832.
- SAS. 1991. SAS/SAT user's guide. SAS Institute, Inc. Cary, N. C.
- Seeburg, P. 1993. The molecular biology of mammalian glutamate receptor channels. *TINS.* 16: N° 9.
- Snedector, M. J. y Cohoran, W. G. 1967. *Statistical methods.* 6 ed. The Iowa State. Univ. Pess, Ames. USA.
- Spicer, L.J.; Alpizar, E. y Echternkamp S.E. 1993. Effects of insulin, insulin-like growth factor-1 and gonadotropins on bovine granulosa cells proliferation, progesterone production, estradiol production, and (or) insulin-like growth-factor-1 production in vitro. *Journal Animal Science*, v. 71:1232- 1241.
- Spicer, L.J. y Echternkamp, S. E. 1995. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domesti Anim Endocrinol* 12(3):223-45.

