



01684  
1  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

**DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA  
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**EFFECTO DE LA CONDICIÓN CORPORAL, SOBRE HORMONAS  
METABÓLICAS Y LEPTINA EN LA FUNCIÓN REPRODUCTIVA DE LAS  
VAQUILLAS.**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

**HORACIO LEÓN VELASCO**

**T U T O R :**

**DR. CARLOS GUTIÉRREZ AGUILAR**

**COMITÉ TUTORAL:**

**DR. ALEJANDRO VILLA GODOY  
DR. GERMÁN MENDOZA MARTÍNEZ  
DR. LUIS A. ZARCO QUINTERO**

**MÉXICO D.F.**

**2003**

1

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# **PAGINACIÓN DISCONTINUA**

## DEDICATORIAS.

A mis padres: Hernán León López† y Luvia Velasco Castañón quienes con su amor, sacrificio y esfuerzo me impulsaron en el camino del conocimiento y de la ciencia.

A Lupita. Por todo su amor y los momentos felices que hemos compartido.

A mis hijos: Hernán y Horacio, razón de mi existencia.

A mis hermanos y primos quienes en todo momento me brindaron su apoyo incondicional.

A la familia Martínez Burguete por su comprensión y paciencia.

A mis amigos que creen en mi como yo creo en ellos.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Hernán León Velasco

FECHA: 28/08/03

FIRMA: [Firma manuscrita]

2  
10  
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **AGRADECIMIENTOS.**

A la Universidad Autónoma de Chiapas por apoyarme para cumplir esta meta de estudios de posgrado y por realizar los trámites de beca ante el PROMEP.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca crédito que me fue otorgada y por el financiamiento del proyecto de investigación No J27756B.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, en especial a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por ser parte importante en mi formación profesional.

A la Fundación Produce Chiapas AC, quien otorgó parte del financiamiento de este proyecto.

Mi gratitud, al Dr. Carlos G. Gutiérrez Aguilar quien fue un excelente guía y amigo durante mis estudios de posgrado. Gracias.

Al H. jurado por sus acertados comentarios y apoyo para hacer posible este trabajo: Dr. Luis A. Zarco Quintero, Dr. Everardo González Padilla, Dr. Alejandro Villa Godoy, Dra. Ma. Teresa Sánchez Torres, Dr. Germán Mendoza Martínez y Dr. Carlos García Bojalil.

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Joel Hernández Cerón por su valioso apoyo técnico. Así como a la MVZ Clara Murcia Mejía y a la MVZ Susana Rojas por su colaboración en las determinaciones hormonales.

Al Dr. Carlos Vázquez y al Dr. Hugo Montaldo por su participación en los análisis estadísticos.

A mis compañeros y amigos el MVZ. Modesto Valencia y el MVZ. Nicolás Valenzuela Jiménez por el desinteresado apoyo técnico en este estudio.

Al Dr. Javier Flores Covarrubias, por su gentileza y paciencia con los estudiantes de posgrado.

3

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## DECLARACION DEL AUTOR.

El autor da su consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, para que esta tesis este disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliográfico.



**HORACIO LEÓN VELASCO**

4

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## LISTA DE CONTENIDO.

	Pág.
<b>RESUMEN</b> .....	ii
<b>ABSTRACT</b> .....	iv
<b>I. INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	1
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	5
2.1. Anestro.....	5
2.1.1 Bases endocrinas del anestro posparto.....	5
2.1.2. Opiodes endógenos.....	7
2.1.3. Anestro nutricional .....	8
2.2. Efectos de la condición corporal y la nutrición en la actividad reproductiva .....	10
2.2.1. Criterios de evaluación de la condición corporal en el ganado bovino .....	11
2.2.2 Efectos de la Nutrición sobre la Reproducción .....	13
2.3. Foliculogénesis.....	14
2.3.1. El papel de la hormona del crecimiento en la dinámica folicular .....	19
2.3.2. Características de la dinámica folicular durante la restricción nutricional .....	21
2.4. Actividad hipofisiaria.....	22
2.5. Actividad hipotalámica.....	24
2.6. Metabolitos sanguíneos y hormonas metabólicas.....	25
2.6.1. Antecedentes de la leptina.....	29
2.6.2. Acciones biológicas de la leptina.....	31
2.6.3. Factores fisiológicos que afectan la expresión del gen de leptina en el tejido adiposo .....	33
2.6.4. La leptina en ruminantes.....	35
<b>III. LITERATURA CITADA</b> .....	38
<b>IV. RELACIÓN ENTRE LOS CAMBIOS DE LA CONDICIÓN CORPORAL Y LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE LEPTINA, IGF-I E INSULINA EN VAQUILLAS DE DOBLE PROPÓSITO</b> .....	55
<b>V. RELACIÓN TEMPORAL DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE LEPTINA, IGF-I E INSULINA DURANTE LA TRANSICIÓN AL ANESTRO Y A LA CICLICIDAD EN VAQUILLAS CEBÚ X SUIZO</b> .....	76

## RESUMEN.

Horacio León Velasco. **EFFECTO DE LA CONDICIÓN CORPORAL, SOBRE HORMONAS METABÓLICAS Y LEPTINA EN LA FUNCIÓN REPRODUCTIVA DE LAS VAQUILLAS** (Bajo la dirección del PhD. Carlos G. Gutiérrez Aguilar).

Experimento 1. El objetivo de este estudio fue determinar la relación entre los cambios en condición corporal (CC) con las concentraciones plasmáticas de leptina, IGF-I e insulina en vaquillas. Se utilizaron 19 vaquillas de la raza Cebú x Suizo, con 24 a 30 meses de edad, peso vivo inicial de  $322 \pm 9$  kg y una CC de 3.0 (escala de 1.0 a 9.0). Las vaquillas recibieron 60% de sus requerimientos nutricionales hasta alcanzar una  $CC \leq 2.0$ . Una vez alcanzada dicha CC las vaquillas se mantuvieron así por 25 días más. Posteriormente, las vaquillas fueron divididas aleatoriamente en dos grupos. Restricción nutricional ( $n=9$ ), se les mantuvo con la misma ración alimenticia para permanecer en  $CC$  de  $\leq 2$ , mientras que el grupo de ganancia de peso ( $n = 10$ ) fueron alimentadas para ganancia de 1 kg por día hasta que alcanzaron la CC de 6.0. Se colectaron muestras sanguíneas dos veces por semana en las cuales se determinaron las concentraciones de leptina e insulina a través del RIA. Las concentraciones de IGF-I fueron determinadas por el ensayo inmunoradiométrico una muestra cada dos semanas. Se encontró una correlación altamente significativa ( $P < 0.01$ ) entre las concentraciones plasmáticas de leptina y la CC ( $r = 0.75$ ), y el peso vivo ( $r = 0.71$ ;  $P < 0.01$ ). Similarmente existió una correlación positiva entre IGF-I ( $r = 0.79$ ;  $P < 0.01$ ) e insulina ( $r = 0.20$ ;  $P < 0.01$ ) con condición corporal. Las concentraciones plasmáticas de leptina descendieron durante la restricción nutricional ( $P < 0.01$ ) conforme disminuían los niveles de CC. Durante el periodo de ganancia de peso, las concentraciones de leptina incrementaron significativamente para CC 3.0 y así para cada punto de CC. Los niveles de IGF-I descendieron ( $P < 0.01$ ) al declinar la CC. En contraste, durante la etapa de ganancia de peso los niveles de IGF-I aumentaron significativamente hasta la CC 4.0 y posteriormente a pesar del aumento de la CC, los niveles de IGF-I no incrementaron ( $P > 0.05$ ). Las concentraciones de insulina no cambiaron durante el periodo de restricción nutricional ( $P > 0.05$ ). Después del cambio de dieta, se observó un aumento significativo en las concentraciones de insulina en vaquillas con CC 1.0 ( $P < 0.01$ ). Sin embargo, CC 2.0 y 3.0 no existió diferencias ( $P > 0.05$ ) siendo valores más bajos que para la CC 1.0. Los niveles de insulina aumentaron ( $P < 0.01$ ) a partir de la CC 4.0 y 6.0. Finalmente, se concluye que la leptina es un indicador dinámico de la CC en vaquillas, así como un indicador del estatus nutricional.

Experimento 2. El objetivo de este estudio fue conocer la relación temporal de las concentraciones plasmáticas de leptina, IGF-I e insulina durante la transición al anestro y a la ciclicidad en vaquillas Cebú x Suizo. Se utilizaron 19 vaquillas de 24 a 30 meses de edad y una condición corporal (CC) de 3.0 (1.0 = muy flaca y 9.0 = obesa). Las vaquillas estaban ciclando y fueron alimentadas con 60% de sus requerimientos nutricionales hasta provocar el anestro. Posteriormente, fueron divididas aleatoriamente en dos grupos. Anestro ( $n = 9$ ), se les mantuvo con la misma ración alimenticia para permanecer en condición corporal de  $\leq 2.0$ , mientras que el grupo de ganancia de peso ( $n = 10$ ) fueron alimentadas para ganancia de peso de 1 kg/día hasta que alcanzaron CC de 6.0. Se utilizó diariamente ultrasonografía transrectal para evaluar la dinámica folicular, clasificándose los folículos según el diámetro



en pequeños (< 4 mm), medianos (4 a 8 mm) y grandes (> 8 mm). Se colectaron muestras sanguíneas dos veces por semana en las cuales se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona, leptina, insulina e IGF-I. El estudio fue en las siguientes etapas fisiológicas. Restricción nutricional (RN), fue definido como el intervalo desde el inicio del estudio hasta iniciar el periodo de transición al anestro. Transición al anestro (TA) se consideró desde la última evidencia de ovulación y formación del cuerpo lúteo hasta la luteólisis y desarrollo de un folículo anovulatorio. Anestro (A) se definió como falla en la ovulación y ausencia de estro. La transición a la ciclicidad (TC) fue el periodo de 21 días previos a la primera ovulación. Ciclicidad (C) manifestaciones de ciclos estrales regulares. Las vaquillas en RN tuvieron niveles de leptina ( $1.34 \pm 0.21$  ng/ml) similares ( $P > 0.05$ ) a las vaquillas en TA ( $1.12 \pm 0.19$  ng/ml) y A ( $1.21 \pm 0.14$  ng/ml). Mientras que los animales TC y C mostraron valores de leptina mayores ( $2.12 \pm 0.25$  ng/ml y  $3.64 \pm 0.16$  ng/ml, respectivamente) ( $P < 0.01$ ). Se observaron valores diferentes al contrastar las concentraciones de leptina de cada vaquilla en la etapa de A ( $1.12 \pm 0.05$  ng/ml) con el día en que ocurrió la primera ovulación ( $2.92 \pm 0.50$  ng/ml) ( $P < 0.05$ ). En el periodo de RN, TA y A las concentraciones de IGF-I e insulina fueron similares ( $P > 0.05$ ). Las vaquillas en TC y C exhibieron mayores concentraciones ( $P < 0.01$ ) de IGF-I e insulina en ( $128 \pm 13.6$ ;  $0.26 \pm 0.04$  ng/ml y  $165 \pm 11.6$  y  $0.36 \pm 0.03$  respectivamente). Se detectaron correlaciones ( $P < 0.01$ ) entre leptina e IGF-I ( $r = 0.61$ ), entre insulina y leptina ( $r = 0.21$ ), y entre insulina e IGF-I ( $r = 0.60$ ). Se detectaron valores superiores del diámetro mayor e índice de crecimiento del folículo dominante ( $P < 0.01$ ) en el periodo de RN en comparación a TA y A. Estas dos últimas presentaron un menor índice de crecimiento ( $0.70 \pm 0.10$  y  $0.66 \pm 0.07$  mm/día respectivamente), en comparación a TC ( $1.1 \pm 0.07$  mm/día) y C ( $1.1 \pm 0.04$  mm/día). El promedio de los folículos pequeños y medianos en TA ( $9.9 \pm 0.70$  y  $3.0 \pm 0.61$ ) y A ( $10.3 \pm 0.04$  y  $3.75 \pm 0.43$ ) fue inferior ( $P < 0.01$ ) en comparación a RN ( $11.7 \pm 0.52$  y  $4.7 \pm 0.45$ ) TC ( $11 \pm 0.49$  y  $7.3 \pm 0.43$ ) C ( $11.1 \pm 0.27$  y  $7.5 \pm 0.24$  respectivamente). Se concluye que el inicio de la ciclicidad en las vaquillas es precedido por un aumento significativo en las secreciones de leptina, insulina e IGF-I, lo cual se asocia con un incremento del reclutamiento y crecimiento folicular.

**Palabras claves:** Anestro, IGF-I, Insulina, Leptina, Nutrición, Vaquillas de Carne

## ABSTRACT.

### Horacio León Velasco. EFFECT ON THE BODY CONDITION SCORE ON METABOLIC HORMONES, LEPTIN AND REPRODUCTIVE FUNCTION IN HEIFERS (Under the direction of PhD. Carlos G. Gutiérrez Aguilar).

Experiment 1. The objective of this study was to determine the relationship among plasma concentrations of leptin, insulin, and IGF-I with dynamic changes in body condition scores (BCS) in heifers. Nineteen Zebu-Brown Swiss crossbred heifers, 24 to 30 months old, weighing  $322 \pm 9$  kg, and with an initial BCS of 3 (1 to 9 scale) were used. Heifers were fed 60% of their maintenance requirements until they reached a  $BCS \leq 2$ . Heifers were then maintained at that level for 25 d, after which they were fed to gain 1 kg of body weight daily until a BCS of 6 was reached. Heifers were weighed weekly and BCS was measured every two wk. Plasma samples were collected twice weekly and leptin and insulin were determined by RIA. An immunoradiometric assay was used to measure IGF-I from one sample every two wk. Plasma concentrations of leptin were significantly and positively correlated with BCS over the range of BCS from 1 to 6 ( $r = 0.75$ ;  $P < 0.01$ ) and with body weight ( $r = 0.71$ ;  $P < 0.01$ ). Similarly, there was a positive correlation between IGF-I ( $r = 0.79$ ;  $P < 0.01$ ) and insulin ( $r = 0.20$ ;  $P < 0.01$ ) with BCS. Plasma concentrations of leptin decreased during nutritional restriction ( $P < 0.01$ ) as BCS diminished. During weight gain, leptin concentration increased at BCS 3 and thereafter for each point change in the BCS. Regression analysis showed that changes in body weight affect leptin concentrations within a given BCS. IGF-I decreased as BCS declined ( $P < 0.01$ ). In contrast, during weight gain IGF-I increased significantly with every unit change in body condition up to BCS of 4 and plateaued thereafter. Insulin concentrations did not change during nutritional restriction between BCS 3 to 1 ( $P > 0.05$ ). However, once the diet was improved there was a large increase in insulin concentrations in heifers with BCS 1 ( $P < 0.01$ ). Among heifers in BCS 2 and 3, insulin did not differ ( $P > 0.05$ ) and was lower than in heifers in BCS 1 ( $P < 0.01$ ). Insulin increased ( $P < 0.01$ ) among heifers at BCS 4 to 6. Both IGF-I and insulin were positively correlated with each other ( $r = 0.60$ ) and with leptin ( $r = 0.61$  and  $r = 0.21$ ; respectively). It was concluded that leptin serves as a dynamic indicator of body condition in heifers, as well as an indicator of nutritional status.

Experiment 2. The objective of this study was to determine the temporal relationship between reproductive status and plasma concentrations of insulin, IGF-I, and leptin in heifers. Nineteen beef heifers that were exhibiting normal oestrous cycles and that were in low body condition score ( $BCS = 3$ ; scale 1 to 9) were selected for study. Heifers were then fed 60% of their nutritional requirements to provoke further body weight loss until the onset of anoestrus. Thereafter, ten heifers were fed to achieve a body weight gain of 1 kg per day until they reached a BCS of 6, whilst the rest remained in anoestrus. Follicular dynamics were monitored daily throughout the study via rectal ultrasonography. Follicles were classified according to their diameter as small ( $< 4$  mm), medium (4-8 mm), or large ( $> 8$  mm). Plasma samples were collected twice weekly throughout the study to assess peripheral concentrations of progesterone, insulin, IGF-I, and leptin. Reproductive status

was classified as follows: Nutritional restriction (NR), was defined as the interval from the start of the study to the start of the transition to anoestrous (TA). Transition to anoestrous (TA) was defined as the interval encompassing the from last ovulation until luteolysis and the formation of a anovulatory follicle at which point the heifers were considered to be anoestrous (A). Subsequently, transition to cyclicity (TC), was defined as the 21-day interval that preceded the first ovulation of a normal oestrous cycle. Cyclicity (C) was the interval encompassing normal oestrous cycles following refeeding. The initial body weight of the heifers was  $322 \pm 9$  kg and the onset of anoestrus was observed  $60 \pm 5$  days after the initiation of nutritional restriction when heifers had lost between 15 to 18% of their original body weight. Upon refeeding, heifers started cycling  $47 \pm 7.09$  days after weight gain began. Leptin levels did not differ among heifers that were nutritionally restricted, anoestrus, or transitioning to anoestrus. Among TC and C heifers leptin levels were significantly elevated. A similar pattern was observed for plasma concentrations of insulin and IGF-I. It was observed that the diameter (mm) and growth rate (mm/day) of the dominant follicle recruitment decreased ( $P < 0.05$ ) during the periods of TA ( $8.5 \pm 0.4$  and  $0.7 \pm 0.1$ ) and A ( $9.5 \pm 0.3$  and  $0.7 \pm 0.7$ ) compared to nutritional restriction ( $10.3 \pm 0.3$  and  $0.9 \pm 0.07$ ), transition to cyclicity ( $11.5 \pm 0.3$  and  $1.1 \pm 0.07$ ) and cyclicity ( $11.7 \pm 0.1$  and  $1.1 \pm 0.04$ ). It is concluded that the onset of cyclicity is preceded by a period of increased secretion of leptin, insulin, and IGF-I whereby the recruitment and growth of ovarian follicles increase.

**Key Words: Anestrous, Beef Heifers, IGF-I, Insulin, Leptin, Nutrition.**

## I. INTRODUCCIÓN GENERAL.

En la mayoría de las especies se ha demostrado que la reproducción no puede llevarse a cabo satisfactoriamente si la nutrición es deficiente. En el ganado bovino se ha observado que la nutrición está relacionada con la edad a la pubertad, el reinicio de la actividad ovárica posparto, el intervalo entre partos y el anestro (Richards *et al.*, 1986; Rhodes *et al.*, 1995; Roche *et al.*, 2000). En ovinos una restricción nutricional que cause pérdida de peso vivo resulta un retraso en la pubertad, menor tasa de prolificidad y una disminución general de la fertilidad del rebaño (Wright *et al.*, 1990b; Schillo, 1992).

En los bovinos de carne y doble propósito el anestro está fuertemente influido por el estado nutricional de los animales (Hernández *et al.*, 2001). Así, la restricción nutricional en vacas y vaquillas desencadena la pérdida de peso vivo, condición corporal (CC), disminución de la actividad lútea y cese de los ciclos estrales (Rhodes, 1996; Webb *et al.*, 2000).

La estimación de la cantidad de reservas corporales a través de la evaluación de la condición corporal es un método práctico que se utiliza para determinar el estado nutricional del ganado (Nicholson y Butterworth, 1986). Debido a que no resulta práctico medir directamente la grasa almacenada en el cuerpo animal vivo, la aplicación del sistema de condición corporal permite la estimación indirecta del porcentaje de grasa, con lo cual es posible inferir el estado nutricional pasado y presente del animal y predecir sus requerimientos futuros (Wright y Russel, 1984; Nelsen *et al.*, 1985).

Existe una estrecha relación entre la CC y la actividad ovárica en vacas y vaquillas. Domínguez (1997) encontró un menor número de folículos pequeños y medianos ( $P < 0.01$ ) en vaquillas con pobre condición corporal. Vizcarra *et al.* (1995) determinaron en vaquillas que por cada unidad de descenso en la CC de las vaquillas se produjo una reducción de la actividad lútea del 17% ( $r = 0.88$ ). Butler (2000) señala que conforme la pérdida de condición corporal es mayor las tasas de concepción disminuyen en vacas lecheras. Al

respecto, los animales que durante la lactación temprana pierden más de un punto en la escala de condición corporal de 1 a 5, tienen mayor riesgo de presentar baja fertilidad, con tasas de concepción de 17 a 38%. La CC también se ha asociado con algunas hormonas metabólicas. Bishop *et al.* (1994) demostraron una correlación positiva entre los niveles del factor de crecimiento parecido a la insulina I (IGF-I) y la CC ( $r = 0.50$ ). Asimismo, los niveles de insulina responden significativamente a cambios nutricionales (Gutiérrez *et al.*, 1997).

Las fluctuaciones en la dieta provocan modificaciones en la liberación de pulsos de la hormona luteinizante (LH) en vacas y vaquillas (Imakawa *et al.*, 1987; Schillo *et al.*, 1992). Asimismo, Kurz *et al.* (1990) detectaron mayor frecuencia de pulsos de LH en vaquillas alimentadas con un nivel alto de energía (19.2 Mcal/kg de EM), que en aquellas alimentadas con un nivel bajo de energía (6.8 Mcal/kg de EM). La LH es la hormona responsable de la maduración final de los folículos y de la ovulación (Xu *et al.*, 1995).

Los efectos del estado nutricional sobre la función reproductiva son mediados por una serie de señales sanguíneas que reflejan el estado metabólico del animal, y que actúan simultáneamente a varios niveles del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. En bovinos las concentraciones periféricas de IGF-I están positivamente asociadas con la edad del inicio pubertad y con el intervalo del parto a la primera ovulación (Zurek *et al.*, 1995; Thatcher *et al.*, 1996). Por otra parte, las concentraciones elevadas de insulina también están asociadas con una ovulación más temprana en el posparto (Lucy *et al.*, 1991; Gutiérrez *et al.*, 1997). Asimismo, la infusión central de insulina en ovejas en restricción nutricional causó un incremento en las concentraciones séricas de LH (Daniel *et al.*, 2000).

Los mecanismos que relacionan el estado nutricional con las características de la secreción pulsátil de LH no se conocen. Se ha sugerido que existen señales sanguíneas que reflejan el estado metabólico del animal y que pueden influir sobre la secreción de LH (Steiner *et al.*, 1983; Butler, 2000). Es probable que los efectos inhibitorios de la baja nutrición sobre la secreción de LH involucren mecanismos del sistema nervioso central que controlan la

secreción de GnRH por el hipotálamo (Ebling *et al.*, 1990). No obstante, se conoce poco acerca de cómo el animal informa al sistema nervioso central sobre su estado nutricional y de cómo esta información es traducida en una señal neuroendocrina. Existen diferentes hipótesis que tratan de explicar como la secreción de LH podría ser regulada por las reservas de grasa corporal o por señales metabólicas presentes en la sangre, como ácidos grasos libres (AGL), insulina, tiroxina, GH y el IGF-I (Randel, 1990; Hall *et al.*, 1992; Roche *et al.*, 2000). Sin embargo, no se ha concluido si es una sola señal nutricional específica la que controla la secreción de LH, o si intervienen varios factores que actúan sinérgicamente en dicho proceso.

Desde hace varias décadas se propuso la teoría del lipostato, según la cual los animales requieren de cierta cantidad de tejido adiposo para el inicio y mantenimiento de la actividad reproductiva (Kennedy, 1953). Sin embargo, fue hasta 1994, cuando Friedman y colaboradores (Zhang *et al.*, 1994), identificaron a una proteína de 167 aminoácidos, producto del gen *ob*, nombrándola leptina (su nombre deriva de la raíz griega leptos, que significa delgado). El descubrimiento de que la leptina es sintetizada por los adipositos proporciona la oportunidad de entender las relaciones entre los cambios en el equilibrio del consumo del alimento, metabolismo y reproducción de los animales (Vaisse *et al.*, 1996; Carro *et al.*, 1997; Dyer *et al.*, 1997).

Existen varios trabajos que demuestran ampliamente que la leptina tiene profundos efectos en los cambios metabólicos y neuroendocrinos en ratones y en humanos (Carro *et al.*, 1997; Elmquist *et al.*, 1997). El mecanismo por el cual ejerce dichos efectos no es muy claro; sin embargo, algunas evidencias indican la leptina puede tener efectos directos sobre el hipotálamo ya que se han encontrado receptores en este órgano (Dyer *et al.*, 1997). También se han detectado receptores para leptina en la hipófisis, gónadas y el tejido adiposo (Spicer y Francisco, 1997), por lo que sus efectos pueden ocurrir a varios niveles. Asimismo, las concentraciones de leptina circulante pueden ser una señal metabólica, a través de la cual el organismo regula la reproducción ya que la administración de leptina a

ratas prepúberes adelantó la pubertad (Cheung *et al.*, 1997). Asimismo, en ratonas (ob/ob) con problemas de esterilidad se pudo corregir este padecimiento mediante la administración de leptina por varias semanas presentándose ovulación, gestación y parto, además de incrementarse significativamente las concentraciones de LH, así como el peso de los ovarios y el útero (Barash *et al.*, 1996; Chehab *et al.*, 1997). En los rumiantes se han identificado receptores para leptina en el hipotálamo (Dyer *et al.*, 1997), y se ha demostrado que la leptina regula el consumo de alimento (Morrison *et al.*, 2001) e interviene en los procesos reproductivos (Nagatani *et al.*, 2000) y de termorregulación (Mostyn *et al.*, 2001) de la oveja.

Como se mencionó anteriormente, la condición corporal es un indicador práctico del estatus nutricional de los animales. En los bovinos la CC tiene una correlación positiva con los depósitos de grasa intra e intermuscular y en los tejidos abdominales (Otto *et al.*, 1991). Sin embargo, se desconoce la relación existente entre la CC y las concentraciones de leptina, así como su asociación con las concentraciones de IGF-I e insulina. Además, en el bovino existe muy poca información sobre la relación entre las concentraciones de hormonas metabólicas, el estado nutricional y la función ovárica, especialmente durante los procesos de transición hacia el anestro o hacia el inicio de la actividad reproductiva. Por estas razones los objetivos del presente trabajo son:

1. Determinar si la leptina es un indicador de la condición corporal en vaquillas y su importancia como mediador entre la nutrición y la reproducción.
2. Establecer las asociaciones entre la leptina, IGF-I e insulina como posibles mediadores de los efectos de la nutrición durante transición al anestro y durante el inicio de la ciclicidad en vaquillas.
3. Conocer el patrón de la dinámica folicular asociado con los cambios en las concentraciones de leptina, IGF-I e insulina.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA.

### 2.1. Anestro.

Uno de los factores que restringe la productividad del ganado bovino productor de carne y del de doble propósito es el anestro (Anta *et al.*, 1989; Hernández *et al.*, 2001). El anestro es un proceso complejo que está influido principalmente por los efectos del amamantamiento, nutrición y condición corporal (Williams *et al.*, 1996; Yavas y Walton, 2000), aunque puede también ser modulado por factores menores como la presencia del semental, involución uterina, distocia, época del año, edad de la hembra y número de partos de los animales (Richards *et al.*, 1989; Short *et al.*, 1990).

#### 2.1.1 Bases endocrinas del anestro posparto.

En la última etapa de la gestación y en los primeros días después del parto, se bloquea el ritmo natural de secreción de GnRH, debido a los efectos de altas concentraciones de progesterona y estradiol producidos durante la gestación en la placenta y ovarios. Este ambiente hormonal deprime los niveles plasmáticos de FSH y LH, y en consecuencia afecta el desarrollo folicular de los ovarios durante el periodo posparto temprano (Williams *et al.*, 1996).

Después del parto las concentraciones de  $17\beta$ -estradiol después del parto son muy bajas porque no hay folículos grandes (Yavas y Walton, 2000). Sin embargo, después del día 9 posparto se incrementan las concentraciones de estrógenos, las cuales comienzan a fluctuar debido al crecimiento y regresión de los folículos dominantes. Para que se produzca la primera ovulación después del parto es necesario que los estrógenos provenientes de un folículo dominante se eleven hasta un nivel que provoque la liberación de un pico de LH por retroalimentación positiva, ocasionando así la ovulación (Williams, 1990). Durante todo este tiempo las concentraciones de progesterona permanecen en niveles basales, y su producción solo se iniciará cuando se forme el cuerpo lúteo resultado de la primera ovulación (Schams *et al.*, 1978).



Las concentraciones de FSH, permanecen bajas durante los primeros días después del parto. Sin embargo, tienden a elevarse en forma muy rápida en el posparto. En el día 4 posparto ya existen pulsos de FSH, y las concentraciones de la hormona pueden permanecer constantes o tener fluctuaciones equivalentes a las de vacas ciclando (Williams, 1990)

Los cambios en la secreción de FSH resultan en el reclutamiento folicular y en la aparición de los primeros folículos dominantes, lo que ocurre entre el día 7 a 10 posparto en vacas productoras de leche (Savio *et al.*, 1990), entre el día 10 a 15 en vacas productoras de carne (Stagg *et al.*, 1995) y entre el día 26 a 78 en vacas Cebú manejadas de manera extensiva en la zona tropical (Ruiz-Cortés y Olivera Ángel, 1999). La secreción de FSH requiere de un estímulo mínimo de GnRH, y su liberación es controlada principalmente por los estrógenos e inhibina a través de la retroalimentación negativa. Por lo tanto, existe amplia evidencia de que la secreción de FSH y el desarrollo foliculos en el ovario no son factores limitantes para el restablecimiento de la actividad reproductiva posparto en vacas productoras de carne (Yavas y Walton, 2000).

Lamming *et al.* (1982) indican que el reinicio temprano de los pulsos de FSH, se debe a que la hormona responde a bajas frecuencias de pulsos de GnRH. En contraste, los pulsos de LH se manifiestan más tarde en el posparto debido a que se necesita un incremento en la frecuencia de los pulsos de GnRH.

Por esta razón las concentraciones circulantes de LH se mantienen bajas en el periodo posparto, y solamente se incrementan en el periodo previo a la primera ovulación (Rahe *et al.*, 1988). Estas bajas concentraciones circulantes de LH son el resultado de una baja frecuencia de pulsos de LH (0.8 a 2.3/6h). Se ha observado que la recuperación de la secreción pulsátil de LH en el ganado lechero ocurre entre el día 13 a 19 posparto, mientras que en el ganado de carne la liberación pulsátil de LH ocurre entre el día 25 a 32 posparto (Webb *et al.*, 1980).

Las concentraciones de receptores para GnRH y 17  $\beta$ -estradiol en la hipófisis permanecen constantes entre el día 10 a 15 posparto, lo que indica que la sensibilidad de la hipófisis, al GnRH y al estradiol no es el factor limitante para el reinicio de los pulsos frecuentes de secreción de LH (Yavas y Walton, 2000).

La razón por la que durante el posparto temprano no existe una liberación pulsátil de GnRH que induzca a la liberación también pulsátil de LH, es que durante este periodo el generador de pulsos del hipotálamo es demasiado sensible a la retroalimentación negativa del estradiol proveniente de los folículos en desarrollo. Esta alta sensibilidad durante el amamantamiento del becerro, es modulado por opiodes endógenos liberados por el cerebro. Después del día 30 posparto, el generador de pulsos de GnRH es menos sensible a la retroalimentación negativa del estradiol, y como consecuencia se incrementa en la frecuencia de pulsos de GnRH y LH, causando desarrollo, maduración y ovulación del folículo dominante (Nett *et al.*, 1987).

### **2.1.2. Opiodes endógenos.**

Los péptidos opiodes endógenos son producidos en el hipotálamo y en la hipófisis. Existen varios grupos: endorfinas, encefalinas y dinorfinas. De éstos las  $\beta$  endorfinas son las más potentes (Brook *et al.*, 1986). Los opiodes están involucrados en la inhibición de la secreción de GnRH y LH, actuando a nivel de las neuronas que sintetizan GnRH así como en las células de la hipófisis. La inhibición de la liberación de GnRH y LH provocada por el estímulo del amamantamiento, se debe a que dicho estímulo libera opiodes endógenos, principalmente endorfinas. La administración de antagonistas opiodes como la Naloxona, en aplicación única de 200, 400 o 800 mg a partir del día 28 induce la secreción de LH (Whisnant *et al.*, 1986). Con esto se ha sugerido que durante el posparto en vacas de carne se producen opiodes que inhiben la secreción de LH, y que la inhibición disminuye conforme avanzan los días posparto.

### **2.1.3. Anestro nutricional.**

Se ha demostrado que el consumo de energía en la dieta, y en consecuencia el metabolismo energético, ejercen profundos efectos sobre el sistema de comunicación neurohormonal que regula la función sexual tanto antes como después de la madurez sexual (Dun y Moss, 1992). En efecto, se conoce que el sistema nervioso central es capaz de detectar incluso hasta cambios muy sutiles de la disponibilidad de varios combustibles metabólicos como resultado de esto el patrón de secreción de GnRH, y por lo tanto el de gonadotropinas, puede disminuir o aumentar dependiendo de la dirección del cambio del metabolismo (Grimard *et al.*, 1995; Williams *et al.*, 1998). Así los animales que son subalimentados por periodos prolongados presentan concentraciones más bajas de GnRH y de LH (Jolly *et al.*, 1995) que aquellos animales con alimentación adecuada.

Por otra parte, se ha observado que los animales a los que se les mejora la alimentación después de haber sufrido deficiencias nutricionales crónicas que han provocado el agotamiento de la mayor parte de sus reservas grasas, no recuperan inmediatamente la capacidad de síntesis y/o secreción de gonadotropinas, ya que para lograrlo es necesario que alcancen un nivel crítico de acumulación de reservas corporales de grasa (Garnsworthy y Tops, 1982; Garnsworthy, 1988).

La asociación entre el estado nutricional y la función reproductiva es mediada por una serie de señales sanguíneas que reflejan el estado metabólico del animal y que actúan simultáneamente a varios niveles del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. En bovinos se ha observado que las concentraciones periféricas de IGF-I se correlacionan negativamente con la edad al inicio de la pubertad y con el intervalo del parto a la primera ovulación (Zurek *et al.*, 1995; Thatcher *et al.*, 1996). Por otra parte, las concentraciones elevadas de insulina se relacionan con una ovulación más temprana en el posparto (Lucy *et al.*, 1991; Gutiérrez *et al.*, 1997). Asimismo, la infusión central de insulina en ovejas en restricción nutricional provocó un incremento en las concentraciones séricas de LH (Daniel *et al.*, 2000).

Además del efecto a nivel cerebral de estas hormonas, también actúan a nivel gonadal. Se ha confirmado que la insulina y el IGF-I estimulan *in vitro* a la secreción de estradiol por parte de las células de la granulosa (Gutiérrez *et al.*, 1998). De igual modo, estudios *in vivo* indican que el diámetro folicular está asociado con altas concentraciones de IGF-I (Enright *et al.*, 1994; Butler, 2000). Spicer *et al.* (1990) señalan que el balance energético está asociado con la concentración de IGF-I y la producción de progesterona en vacas lecheras durante el periodo posparto. Estos resultados fueron corroborados por Jolly *et al.* (1995), quienes al trabajar con vacas de razas de carne observaron que las concentraciones de IGF-I, están asociadas con el estado nutricional.

En resumen, los mecanismos que relacionan el estado nutricional con las características de la secreción pulsátil de LH no se conocen. Se ha sugerido que existen señales sanguíneas que reflejan el estado metabólico del animal y que pueden influir sobre la secreción de LH (Steiner *et al.*, 1983; Butler, 2000). Es probable que los efectos inhibitorios de la baja nutrición sobre la secreción de LH involucren mecanismos del sistema nervioso central que controlan la secreción de GnRH por el hipotálamo (Ebling *et al.*, 1990). No obstante, se conoce poco acerca de cómo el animal informa al sistema nervioso central sobre su estado nutricional y de cómo esta información es traducida en una señal neuroendocrina. Existen diferentes hipótesis que tratan de explicar como la secreción de LH podría ser regulada por las reservas de grasa corporal o por señales metabólicas presentes en la sangre, como ácidos grasos libres (AGL), insulina, tiroxina, GH, IGF-I y leptina (Randel, 1990; Hall *et al.*, 1992; Nagatani *et al.*, 2000; Roche *et al.*, 2000). Sin embargo, no se ha concluido si es una sola señal nutricional específica la que controla la secreción de LH, o quizá se debe a la participación de varios factores que actúan sinérgicamente en dicho proceso. Roche *et al.* (2000) en una revisión reciente resumieron los principales cambios metabólicos y hormonales presentes durante el anestro.

**a) Metabolismo.**

1. Disminución de la condición corporal.
2. Concentraciones bajas de glucosa e insulina.

3. Concentraciones altas de GH.
4. Desacoplamiento entre los receptores de GH y la producción de IGF-1. Por lo tanto, hay bajas concentraciones de IGF-1.
5. Altas concentraciones de AGL,  $\beta$  hidroxibutirato y triacilglicerol.

**b) Reproducción.**

1. Disminución en la frecuencia de pulsos de LH.
2. Disminución en el diámetro del folículo dominante y bajas concentraciones de estradiol
3. Baja disponibilidad de IGF-I intrafolicular.

**2.2. Efectos de la condición corporal y la nutrición en la actividad reproductiva.**

En los animales domésticos, como en el hombre, la reproducción se ve afectada por cambios en la nutrición. Cuando los requerimientos nutricionales son mayores, como ocurre en procesos fisiológicos de lactación y gestación, se presenta un déficit nutricional y las hembras disminuyen el número de óvulos, permaneciendo infértiles. En los machos las deficiencias nutricionales provocan una reducción en la producción espermática y el tamaño de los testículos. En síntesis, la mala nutrición altera el eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal y como consecuencia repercute en la gametogénesis (Jolly *et al.*, 1995; Boukhliq *et al.*, 1997).

Algunos investigadores han utilizado sistemas para evaluar subjetivamente la composición corporal y los requerimientos de energía en el ganado, aplicando el concepto de condición corporal. Debido a que no resulta práctico medir directamente la grasa almacenada en el cuerpo del animal vivo, la aplicación de un sistema de condición corporal permite la estimación indirecta del porcentaje de grasa, con lo cual es posible inferir el estado nutricional pasado y presente del animal y predecir sus requerimientos futuros (Wright y Russel, 1984; Nelsen *et al.*, 1985).

La calificación de la condición corporal tiene una alta correlación con la magnitud de la grasa subcutánea intra e intermuscular y en los tejidos abdominales (Otto *et al.*, 1991). La mayor cantidad de grasa corporal está en el tejido subcutáneo y muscular (50 – 70 %) y el resto en el tejido adiposo abdominal. La secuencia del almacenamiento de la grasa en el cuerpo se refleja primero en el tejido subcutáneo, después en tejidos abdominales y finalmente en el tejido muscular.

Por lo anterior, la evaluación de la condición corporal en los rumiantes se apoya en los cambios de la acumulación de grasa en la región lumbar y pélvica representando un método rápido para estimarlas.

### **2.2.1. Criterios de evaluación de la condición corporal en el ganado bovino.**

#### **Palpación.**

Este procedimiento consiste en llevar a cabo la palpación de áreas corporales, como los huesos de la columna vertebral (apófisis transversas y espinosas) en la región de la décima y la décima tercera costilla, la porción de grasa en el lomo, en los huesos protuberantes de la pelvis y la cadera, en las vértebras sacro-coccígeas y en el área localizada alrededor del maslo de la cola (Wildman *et al.*, 1982; Selk *et al.*, 1988).

#### **Apreciación visual.**

Las características más importantes a evaluar sobre el cuerpo de animal son: presencia de la capa de grasa sobre el área adyacente de la base de la cola, el lomo y las apófisis transversas, el grado de visibilidad del trocánter mayor, los huesos planos de la costilla y las tuberosidades del ileon y el isquion. Algunas áreas auxiliares para determinar visualmente con mayor precisión la condición corporal es la presencia de grasa almacenada en el pecho y la giba (siempre y cuando sea ganado de la raza Cebú), la profundidad de la fosa sublumbar, la profundidad de la depresión extravaginal, y la estructura de la masa muscular lateral y posterior de la pierna (Nicholson y Butterworth, 1986; Ferguson *et al.*, 1994). El método de evaluación visual proporciona la ventaja de que el animal no requiere ser sujetado por lo que tampoco se necesitan instalaciones costosas. Además el

procedimiento es fácil y rápido, y el resultado de las evaluaciones finales es relativamente poco afectado por el tamaño corporal del animal (Edmonson *et al.*, 1989).

### **Ultrasonido.**

El uso del ultrasonido proporciona un medio para cuantificar el tejido graso y muscular en animales vivos. El principio de la técnica de ultrasonido es la transmisión (pulso) de ondas sonoras de alta frecuencia que son propagadas a través del tejido biológico, las cuales proveen (eco) información sobre la composición y estructura del tejido. Las frecuencias más comunes para operar con ultrasonido son de 1 Mhz, que permite obtener mayor profundidad en la imagen y 5 Mhz que permite tener mayor resolución, aunque no tanta profundidad (López y Rubio, 1998). Un aspecto importante de la técnica es ubicar al lugar más conveniente para realizar la medición debido a que se ha considerado que la grasa corporal debe ser medida entre la décima y décima tercera costilla, mientras que la determinación de la masa muscular y marmoleado debe hacerse sobre el músculo *longissimus dorsi* (Edwards *et al.*, 1989; Domecq *et al.*, 1995).

Por otra parte, Park *et al.* (1994) utilizaron la determinación de la velocidad del sonido a través de los tejidos corporales para predecir la proporción de grasa intramuscular del músculo largo dorsal de bovinos, y obtuvieron una exactitud de la predicción del 90% en muestras con menos del 8 % de grasa intramuscular. Independientemente del sistema de evaluación utilizado y de la magnitud o amplitud de una escala en particular, cualquier técnica para estimar la condición corporal debe mostrar alto grado de precisión y ser repetible; es decir, tener un alto grado de coeficiente de correlación entre evaluaciones sucesivas de un mismo evaluador o juez adecuadamente capacitado (Lara, 1996). Así Croxton y Stollard (1976) al evaluar la condición corporal en vacas lecheras y productoras de carne reportaron índices de repetibilidad y reproducibilidad de 0.80 y 0.90 para diferentes grupos raciales.

### **2.2.2. Efectos de la Nutrición sobre la Reproducción.**

Existe amplia evidencia que los cambios en el peso vivo y la condición corporal en ganado de carne tienen una estrecha correlación con la reproducción (Richards *et al.*, 1986). En bovinos de carne mantenidos en régimen alimenticio inadecuado en energía y proteína se han observado bajos porcentajes de gestación a primer servicio y por ende, intervalos entre partos prolongados en las vacas (Randel, 1990).

Sin embargo, en vacas lecheras la situación es diferente, ya que la demanda de nutrientes para la producción de grandes cantidades de leche después del parto coloca fácilmente a las vacas altas productoras en balance energético negativo, a pesar de estar bien alimentadas; por esto, el balance nutricional después del parto adquiere mucho mayor importancia que en la vaca productora de carne (Zarco, 1993). En este ganado existe una relación positiva entre la producción láctea, intervalos entre partos y la primera ovulación (Butler *et al.*, 1981). Por su parte, Benoit *et al.* (1996) citan también que la restricción de energía en la dieta tiene una influencia en la edad a la pubertad, desarrollo folicular en vaquillas prepúberes y el reinicio de la actividad ovárica en el ganado.

En general, la fertilidad de un hato se determina por su eficiencia reproductiva. Por lo tanto, desde el punto de vista reproductivo es de gran interés conocer algunos factores que tienen un impacto sobre la fertilidad. Al respecto, Randel (1990) menciona que los niveles de energía en la dieta afectan el índice de preñez tanto en vaquillas como en vacas de carne, ya que los animales mantenidos en consumo de energía restringido durante el periodo posparto presentaron una tasa de concepción del 50 al 76 %, mientras que los resultados para aquellos animales con una alimentación adecuada fue del 87 al 95 %.

Richards *et al.* (1986) evaluaron el efecto de la nutrición y la condición corporal al parto sobre el comportamiento reproductivo en ganado de carne, usando la escala numérica de condición corporal (CC) de 1 a 9 (1 = emaciado, 9 = extremadamente gordo) y con base en el régimen nutricional de los animales encontraron que la condición corporal al parto era un factor determinante para el reinicio de la actividad ovárica y de la gestación. Así, las vacas



que al parto alcanzaron una  $CC \geq 5$  retornaron el estro más temprano que a aquellas que parieron con una  $CC \leq 4$  ( $P < 0.01$ ). También se confirmó que la ganancia de peso corporal en el periodo posparto es más importante para las vacas que parieron en baja condición corporal por lo que coincide de acuerdo a lo reportado por Selk *et al.* (1988), Bolaños *et al.* (1996 a) y Lalman *et al.* (1997) quienes concluyeron que la condición corporal al parto es un factor determinante en la duración del anestro posparto.

Butler (2000) señala que conforme la pérdida de condición corporal es mayor las tasas de concepción disminuyen. Así los animales que pierden más de un punto (escala de 1 a 5) durante la lactación temprana tienen mayor riesgo de presentar una baja fertilidad, con tasas de concepción de 17 a 38%.

El índice de concepción a primer servicio tanto en vaquillas como en vacas posparto está influenciado por el consumo de energía y proteína de las dietas. Sasser *et al.* (1989) al comparar diferentes niveles de proteína en la dieta observaron un 71% de fertilidad cuando se proporcionaron niveles adecuados y solo el 25% cuando los animales se mantuvieron en niveles bajos de proteína. Esto indica que la nutrición es un pilar básico para un buen comportamiento productivo del ganado.

### **2.3. Foliculogénesis.**

En los mamíferos, el número de folículos primordiales en los ovarios está determinado desde el nacimiento. En la vaca existen aproximadamente 150 000 folículos primordiales al nacer, quedando alrededor de 3 000 ovocitos cuando el animal tiene entre 15 y 20 años de edad (Webb *et al.*, 1992). La mayoría de los folículos primordiales permanecen inactivos, y el 99 % de ellos tiene como destino volverse atrésicos (Ireland, 1987). Los mecanismos asociados con el inicio del crecimiento, desarrollo, ovulación y atresia de los folículos no está claramente definido (Bao y Garverick, 1998).

Desde el punto de vista hormonal el proceso de desarrollo folicular comprende dos etapas: la etapa basal abarca el crecimiento del foliculo hasta que alcanza 4 mm de diámetro, y es independiente de las gonadotropinas. En la etapa tónica los folículos tienen más de 4 mm de diámetro y son dependientes de gonadotropinas (Monniaux *et al.*, 1997). La FSH, LH y factores de crecimiento son las hormonas primarias para el proceso de selección y maduración de los folículos ováricos (Bao y Garverick, 1998). Esta etapa consta de procesos bien definidos como reclutamiento, selección, dominancia, atresia y ovulación (Driancourt, 1991; Gong *et al.*, 1996). En todos los animales domésticos estudiados la FSH es la hormona principal implicada en el reclutamiento, lo cual es demostrado por tres hechos principales. En primer lugar existe una asociación temporal entre reclutamiento y aumento de FSH en la vaca cíclica. Los niveles máximos de FSH se han observado cuando el futuro foliculo dominante mide 4 mm. En segundo lugar, el bloqueo *in vivo* del aumento de FSH por administración del fluido folicular, inhibe el reclutamiento (Driancourt, 1999). En tercer lugar, en la ternera inmunizada activamente contra GnRH (Crowe *et al.*, 1996), la administración de FSH recombinante es capaz de inducir el reclutamiento de folículos > 4 mm.

La actividad ovárica es un proceso dinámico que se manifiesta con crecimiento en un conjunto de folículos (oleadas). Ginther *et al.* (1989) reportan dos o tres oleadas de crecimiento folicular durante el ciclo estral. Durante cada oleada de crecimiento folicular, un conjunto de 2 a 6 folículos de 4 a 5 mm de diámetro emergen e inician el crecimiento (fase de reclutamiento). Aproximadamente 2.5 días antes se produce un incremento transitorio en las concentraciones de FSH, que declinan cuando aparece la siguiente onda folicular (Adams *et al.*, 1992; Hamilton *et al.*, 1995). El conjunto de folículos que comienzan a crecer juntos continúan haciéndolo durante las primeras 36 a 48 horas. Posteriormente, un foliculo de entre 8 a 9 mm de diámetro es seleccionado y mantiene un ritmo de crecimiento superior al de sus compañeros (fase de selección). Estos últimos dejan de crecer y se vuelven folículos subordinados, cuyo fin es la atresia (Hamilton *et al.*, 1995). Driancourt (1999) ha descrito dos posibles mecanismos para producir la selección: Un mecanismo endocrino y/o un mecanismo local. En la hipótesis endocrina, el desarrollo

de la oleada de folículos reclutados se acompaña de un aumento en la producción de estradiol y de inhibina retroalimentan negativamente sobre la secreción de FSH. Al bajar las concentraciones de FSH se bloquea el desarrollo de los folículos que aún tienen la necesidad de FSH. En cambio, el folículo dominante es capaz de continuar desarrollándose con concentraciones bajas de FSH, por lo que mantiene su ritmo de crecimiento. En la hipótesis local, el folículo más maduro de la oleada produce un compuesto, todavía desconocido, y que debe circular de un ovario al otro que inhibe directamente el crecimiento de los otros folículos de la oleada.

La dominancia folicular es el proceso mediante el cual el folículo seleccionado inhibe el reclutamiento de un conjunto de nuevos folículos (Fortune, 1994). Independientemente, del mecanismo el folículo seleccionado ejerce dominancia sobre los otros folículos, inhibiendo su desarrollo mientras que el folículo dominante continúa incrementando su tamaño. Cuando el folículo dominante alcanza su máximo diámetro se mantiene así por un periodo de tres a seis días. Si en ese momento ocurre la luteólisis folículo dominante culminará su desarrollo y ovulará (Kastelic *et al.*, 1990). Si la luteólisis no se presenta, el folículo dominante se vuelve atrésico después de algunos días y el proceso de reclutamiento vuelve a iniciarse. El primer folículo dominante puede ser identificado usando ultrasonografía entre los días 2 y 4 del ciclo estral. Este folículo alcanza su diámetro máximo entre el día 6 y 8 del ciclo (Driancourt, 1991), y como en ese momento no se produce la luteólisis va disminuyendo su diámetro hasta dejar de ser detectable a la ultrasonografía en el día 15.

Un segundo folículo dominante se desarrolla alrededor del día 12, alcanzando su diámetro máximo en el día 16 (o en el día 19 en los ciclos en los cuales el segundo folículo dominante es el folículo ovulatorio). El tercer folículo dominante generalmente es identificado en el día 16 y alcanza su diámetro máximo en el día 21 cuando se produce la ovulación (Savio *et al.*, 1988). Para que un folículo pueda establecerse como dominante es indispensable la aparición de receptores de LH en las células de la granulosa cuando el folículo tiene alrededor de 8 mm. Con esto, el folículo dominante tiene la capacidad de

continuar creciendo cuando las concentraciones de FSH disminuyen gracias a la presencia de concentraciones basales de LH (Xu *et al.*, 1995).

Algunos mecanismos que pueden estar involucrados en el mantenimiento y funcionalidad del folículo dominante son: (I) el folículo dominante tiene una mayor vascularidad, y como consecuencia es más estimulado por la FSH y la LH (Moor y Seamark, 1986); (II) Este folículo tiene un desarrollo abundante de receptores para LH en las células de la granulosa (Xu *et al.*, 1995; Bao *et al.*, 1997); (III) El folículo dominante expresa mayores niveles de proteínas reguladoras agudas de la esteroidogénesis (StAR) en las células de la teca, lo que facilita el transporte de colesterol a la mitocondria para la producción de andrógenos (Bao *et al.*, 1997); (IV). El folículo dominante expresa altos niveles de ARNm para la enzima aromataasa, la cual puede ser capaz de convertir grandes cantidades de andrógenos a 17  $\beta$ -estradiol, lo que mejora la sensibilidad de las células de la granulosa a la FSH (Herderson *et al.*, 1984; Xu *et al.*, 1995). Bajo estas circunstancias, la FSH y el estradiol estimulan la formación de receptores para LH en las células de la granulosa cuando el folículo alcanza un cierto grado de maduración (Mc Neilly *et al.*, 1991).

Además de la regulación clásica a través de FSH y LH La actividad ovárica puede estar ligada también a otros sistemas de control paracrin y autocrinos. Además, es influido por las hormonas metabólicas, como la hormona del crecimiento y la insulina, que sirven de señal para vincular la reproducción con el estado energético de los animales (Spicer *et al.*, 1990; Enright *et al.*, 1994).

Los factores paracrin producidos en el folículo dominante reducen la sensibilidad de los folículos pequeños a la FSH, reduciendo la capacidad de aromatización de las células de la granulosa, mientras que la activina y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) actúan sobre las células de la teca reduciendo la síntesis de andrógenos (Driancourt, 1991). También EGF y factor de crecimiento nervioso (NGF) estimulan a las células de la granulosa para la producción de oxitocina (Schams *et al.*, 1988). En síntesis, la relevancia

de los factores de crecimiento estriba en la posibilidad de poder diferenciar el crecimiento y el desarrollo de los folículos.

Como ya se mencionó, el folículo dominante es más sensible a las gonadotropinas que los demás folículos, por lo que no sufre atresia a pesar de provocar con sus secreciones una reducción en la producción hipofisiaria de FSH. Este aumento de sensibilidad puede ser debido a factores autocrinos, como el factor de crecimiento parecido a la insulina I (IGF-I), que se encuentra en mayor concentración en los folículos grandes (Lapierre *et al.*, 1995). Yuan *et al.* (1998) demostraron que el folículo dominante expresa abundantes cantidades de ARNm para IGF-I e IGF-II pero bajos niveles de la proteína ligadora IGFBP-2. En contraste, los folículos atrésicos o subordinados manifestaron menores cantidades de IGF-I y IGF-II, pero abundantes cantidades de IGFBP-2. En síntesis, estos cambios pueden ser mecanismos importantes para controlar el crecimiento y diferenciación folicular.

Lucy *et al.* (1992) mencionan que la hormona más importante para el inicio del crecimiento temprano del folículo antral es la FSH, mientras que el desarrollo y maduración del folículo están a cargo de la LH, lo que es posible debido a los incrementos de la frecuencia de pulsos de LH, que actúa estimulando a las células de la teca para producir los andrógenos que serán aromatizados a 17  $\beta$ -estradiol en las células de la granulosa. Estos estrógenos provocan un incremento de la actividad de la aromatasa en el folículo dominante al mismo tiempo que junto con la inhibina, provocan una disminución en la secreción hipofisiaria de FSH.

El modelo más aceptado del crecimiento folicular y la esteroidogénesis indican que las células de la teca y granulosa están involucrados en forma conjunta en la producción de 17  $\beta$ -estradiol (modelo de dos células y dos gonadotropinas). En este modelo, las células de la granulosa contienen receptores para FSH (FSHr) y las células de la teca contienen receptores para LH (LHr). En las células de la teca, bajo influencia de la LH se estimula la síntesis de pregnenolona y progesterona, que luego son convertidos a androstenediona través de la enzima 17 alfa hidroxilasa. Finalmente, estos andrógenos son metabolizados a

17  $\beta$ - estradiol por acción de la enzima aromatasa (Bao *et al.*, 1997), que es estimulada por la FSH.

Una vez que el folículo dominante ha alcanzado un alto grado de desarrollo los estrógenos producidos por él activan el mecanismo de retroalimentación positiva sobre el eje hipotálamo-hipofisiario, causando la liberación preovulatoria de GnRH, que resulta en la secreción del pico preovulatorio de LH, lo que a su vez desencadena el proceso de la ovulación (Short *et al.*, 1988).

Después de la ovulación los vasos sanguíneos penetran a través de la membrana basal del folículo y las células de la granulosa comienzan a luteinizarse, sufriendo hiperplasia e hipertrofia, lo que resulta en la formación de un cuerpo hemorrágico (CH), el cual posteriormente se transforma en un cuerpo lúteo (CL). Las células de la granulosa de este cuerpo lúteo en formación comienzan a sintetizar progesterona (Rathbone *et al.*, 2001).

### **2.3.1. El papel de la hormona del crecimiento en la dinámica folicular.**

La hormona del crecimiento (GH) es producida en la hipófisis anterior. Esta hormona está involucrada en numerosos procesos metabólicos y fisiológicos incluyendo a la reproducción (Lucy *et al.*, 1999). En el hígado existen altas cantidades de receptores de GH, que al ser estimulados por la hormona inducen un incremento en la síntesis y secreción de IGF-I, que es un importante mediador de los efectos de GH. Sin embargo, la GH puede actuar directamente en tejidos reproductivos que contienen receptores para GH, incluyendo el hipotálamo, hipófisis, cuerpo lúteo, folículos ováricos, oviducto, endometrio y placenta (Kirby *et al.*, 1997; Lucy *et al.*, 1998).

El IGF-I, es un polipéptido de 70 aminoácidos y un peso molecular de 7500 daltons, mientras que el IGF-II tiene 67 aminoácidos. Ambos tienen similitud estructural y funcional con la insulina. El IGF-I es el mediador que se produce en respuesta a la hormona del crecimiento, mientras que el IGF-II es más independiente de la GH y está

presente en el suero en grandes concentraciones durante la vida fetal y neonatal (Moses *et al.*, 1980).

Un aspecto interesante es la existencia de al menos 7 proteínas de enlace de los IGF's (IGFBP's), las cuales modulan su actividad biológica (Oh *et al.*, 1996). Aunque se desconoce su función exacta se acepta que en general tienen un efecto inhibitorio o dilatorio de la actividad de los IGF's, además de servir como proteínas transportadoras, y de permitir un aumento en la vida media de las hormonas en la circulación y en los diferentes tejidos (McCusker, 1998; Winger *et al.*, 1997). Un claro ejemplo de la importancia de las proteínas de enlace lo constituye la maduración final del folículo dominante, durante la cual las concentraciones intrafoliculares de IGFBP-5 disminuyen drásticamente tanto por un decremento en su síntesis como por un aumento de su degradación por la acción de enzimas específicas lo que resulta en una mayor biodisponibilidad de IGF-I, que amplifica las acciones de gonadotropinas en las células foliculares.

En cambio, la atresia de un folículo dominante se relaciona con un incremento en las IGFBPs, las cuales bloquean la acción de los IGFs y como consecuencia el desarrollo folicular (Monget y Monniaux, 1995). En los folículos atrésicos hay un incremento demostrable de los IGFBP-2, 4 y 5, los cuales disminuyen la disponibilidad de los IGFs (De la Sota *et al.*, 1996). La disminución en la disponibilidad de los IGFs debido al incremento de los IGFBP puede ser un mecanismo por el cual se induce apoptosis y atresia en los folículos bovinos (Tilly, 1996).

Existe una acción sinérgica entre el IGF-I y las gonadotropinas (FSH y LH) en la actividad ovárica (Lucy *et al.*, 1999). El IGF-I, actuando en conjunto con la FSH incrementa la división y diferenciación de las células de la granulosa (Carson *et al.*, 1989). Además, el IGF-I estimula la producción de andrógenos tecales, incrementa el número de receptores para LH en las células de la granulosa (Adashi *et al.*, 1985; Hernández *et al.*, 1988), así como estimula la actividad de la enzima aromatasa y la síntesis de los estrógenos y

progesterona (Adashi *et al.*, 1985; Spicer y Echtenkamp 1995). Además, de estas acciones mediadas por factores de crecimiento, la GH incrementa el crecimiento y el desarrollo de los folículos antrales y del cuerpo lúteo, así como potencializa la esteroidogénesis. Estas acciones de la GH, son sinérgicas con IGF-I y las gonadotropinas.

La secreción de IGF-I en respuesta a la GH es regulada por el estatus nutricional (McGuire *et al.*, 1992). Los animales con alimentación adecuada tienen altas concentraciones séricas de IGF-I. Existe una alta correlación entre las concentraciones séricas y aquellas en el fluido folicular, quizá porque la mayoría del IGF-I en el fluido folicular es derivado de la sangre (Leeuwenberg *et al.*, 1996; Roberts *et al.*, 1997). Generalmente las concentraciones séricas de GH están inversamente correlacionadas con las de IGF-I porque este último es regulador primario de la secreción de GH a través de un mecanismo de retroalimentación negativa. Una excepción de la relación inversa es el tratamiento exógeno con GH, ya que en este caso la GH de origen exógeno está elevada al mismo tiempo que los IGF-I de origen endógeno. En los animales así tratados se produce un aumento en el número de folículos reclutados (Gong *et al.*, 1997; Kirby *et al.*, 1997).

### **2.3.2. Características de la dinámica folicular durante la restricción nutricional.**

Durante un ciclo estral normal en el bovino se producen 2 o 3 oleadas foliculares, por lo que se produce el desarrollo y atresia de uno o dos folículos dominantes antes de que se desarrolle el folículo que finalmente ovula (Wetteman y Bossis 1999).

Bossis *et al.* (1999) encontraron que el día de emergencia del folículo ovulatorio en vaquillas que perdieron peso vivo durante los dos ciclos estrales previos a que se produzca un estado anovulatorio debido a la restricción alimenticia fue similar al de vaquillas que mantuvieron su peso vivo. Sin embargo, el folículo ovulatorio fue más grande ( $P < 0.01$ ) en vaquillas que sostuvieron el peso vivo ( $15.7 \pm 0.9$  mm), en comparación al de las vaquillas con restricción nutricional ( $10.4 \pm 0.9$  mm). Este mismo comportamiento se presentó en el índice del crecimiento del folículo dominante, lo que sugiere que la restricción alimenticia



severa resulta en cambios hormonales que afectan el ritmo de desarrollo del folículo dominante.

Por su parte, Rhodes *et al.* (1995) señalan que el número de folículos dominantes por ciclo estral, no se vio alterado en vaquillas Brahman e inducidas al anestro por medio de la restricción nutricional. Empero, por cada 10 kg de peso vivo que disminuían estas vaquillas, se detectó una reducción de  $0.31 \pm 0.006$  mm en el diámetro del folículo ovulatorio, así como una disminución en la duración de la persistencia del folículo dominante. De igual forma, Stagg *et al.* (1995a) citan que el índice de crecimiento y el diámetro del folículo dominante fueron menores en vaquillas con restricción nutricional e inducidas al anestro, comparados con previos ciclos ovulatorios. Igualmente, el tamaño del cuerpo lúteo y su funcionalidad se ve afectado en este tipo de programa (Rhodes *et al.*, 1995; Bossis *et al.*, 1999).

#### **2.4. Actividad hipofisiaria**

Durante el ciclo estral existen complejas interacciones hipotálamo-hipófisis-gónadas que pueden modificar el curso de la foliculogénesis. En el período proéstrico, la LH aumenta después de la caída de los niveles de progesterona y el cese de retroalimentación negativa que ésta ejerce (Stumpf *et al.*, 1989). Las concentraciones de estradiol en la circulación general aumentan, alcanzando su pico en el estro.

El pico preovulatorio de LH y FSH cerca del inicio del estro. El estímulo para esta liberación es el incremento en las concentraciones de estradiol en el período preovulatorio (Hansel y Convey, 1983).

La LH es secretada en forma pulsátil durante la fase lútea, pero el estradiol y la progesterona juntos ejercen una inhibición sobre la liberación de LH en la vaca y en la oveja y en esta etapa, por lo que la frecuencia de secreción es baja. La progesterona sola provocaría secreción de LH en baja frecuencia y alta amplitud, mientras que el estradiol por sí solo, provoca liberación en alta frecuencia y baja amplitud de LH. Aparentemente la

caída de progesterona es un prerrequisito para que el estradiol cause el pico de gonadotropinas (Kesner *et al.*, 1981). Los factores nutricionales en el ganado tienen importante efectos sobre la secreción de GnRH por el hipotálamo, sensibilidad de la hipófisis a GnRH, la sensibilidad del hipotálamo y/o hipófisis a la retroalimentación negativa por el estradiol y la frecuencia de pulsos de LH en animales posparto (Echternkamp *et al.*, 1982; Rutter *et al.*, 1983; Imakawa *et al.*, 1987; Nolan *et al.*, 1988).

Wright *et al.* (1990a) al investigar el efecto de la condición corporal sobre la función hipotalámica y pituitaria en vacas de razas de carne con estímulo de amamantamiento mantenidos en dos niveles de régimen alimenticio (alto y bajo), observaron mucho mayor frecuencia de los pulsos de LH ( $P < 0.01$ ) en vacas con plano nutricional adecuado. No obstante, la concentración de FSH no se vio afectada por los regímenes nutricionales. Asimismo, se ha comprobado también que existe una correlación positiva ( $P < 0.01$ ) entre frecuencias de pulsos de LH y la condición corporal al parto (Wright *et al.*, 1992; Rathbone *et al.*, 2001).

Generalmente se considera que se requiere una alta frecuencia de pulsos de LH (6-8 pulsos / 8 horas) para lograr la estimulación final de la maduración folicular y la ovulación. Al respecto, Canfield y Butler (1990) trabajando con ganado bovino lechero, observaron que el máximo balance energético negativo (nadir) ocurrió  $11.9 \pm 1.3$  días, y la primera ovulación posparto ocurrió a los 19 días. En dicho estudio se demostró que existen cambios notables en la secreción de LH, a partir del momento en que la magnitud del balance energético negativo comienza a reducirse, ya que a partir de ese momento comienza acelerarse la frecuencia de secreción de LH, lo que conduce a la primera ovulación.

En los últimos años varios autores han monitoreado los cambios de la actividad ovárica y la secreción de gonadotropinas después de la restricción nutricional en ganado bovino de carne. En síntesis, han observado anestro, fallas en la ovulación y bajas concentraciones de LH. Las condiciones nutricionales adversas provocaron folículos ováricos pequeños ( $< 5$  mm), deficientes niveles circulantes de  $17 \beta$ -estradiol, y como consecuencia una

disminución en la liberación del factor liberador de las gonadotropinas (GnRH) (Grimard *et al.*, 1995; Rhodes *et al.*, 1996).

Finalmente, existen otros efectos negativos que inhiben la liberación de LH, como el amamantamiento, estrés y mecanismos de opioides endógenos. Este último se ha postulado que parece mediar la retroalimentación por esteroides de la secreción de gonadotropinas en varias especies (López, 1991).

### **2.5. Actividad hipotalámica.**

Randel (1990) realizó una revisión de literatura sobre la relación entre nutrición y el comportamiento reproductivo del ganado bovino, y menciona que existen testimonios que demuestran que la disminución de energía o proteínas en la dieta afecta la secreción hipotalámica de GnRH.

Nolan *et al.* (1988) estudiaron el efecto de la restricción de proteína en las dietas de ganado bovino de carne sobre el sistema endocrino hipotálamo-hipófisis-gónadas, encontrando incrementos en la frecuencia de pulsos LH para aquellos animales con dietas adecuadas durante el periodo pre y posparto. Estos resultados coinciden con los reportados por otros investigadores quienes establecen que el régimen nutricional afecta la duración del anestro posparto (Whisnant *et al.*, 1985; Moss *et al.*, 1985).

Por otro lado, la sensibilidad de la glándula pituitaria al GnRH incrementa conforme avanzan los días posparto, aunque la deficiencia de proteínas disminuye esta respuesta (Nolan *et al.*, 1988). Wright *et al.* (1990a) especifican que el hipotálamo y la hipófisis recuperan normalmente su capacidad funcional a las cinco semanas posparto en vacas de razas de carne que se encuentran amamantando. Sin embargo, la liberación pulsátil de GnRH se mantiene inhibida posiblemente por el efecto de la retroalimentación negativa del estradiol. Se han realizado diversos estudios con el propósito de caracterizar los eventos fisiológicos durante el periodo posparto en el ganado bovino de carne. Así Jagger *et al.* (1987) probaron el uso de dosis bajas de GnRH aplicadas a intervalos cortos (2 h) por un

lapso de 48 horas, logrando inducir picos preovulatorios de LH. De la misma manera, Peter *et al.* (1985) utilizando esta misma metodología en ganado lechero, lograron estimular ondas de crecimiento folicular que resultaron en niveles elevados de secreción de  $17\beta$ -estradiol, que por el mecanismo de retroalimentación positiva fue capaz de liberar FSH y LH. Estos hallazgos confirman que el estímulo provocado por pulsos repetidos de GnRH incrementa la sensibilidad de la hipófisis durante el periodo posparto temprano.

Jolly *et al.* (1995) al llevar a cabo una exhaustiva revisión bibliográfica sobre los efectos de la nutrición en la actividad reproductiva del ganado bovino, concluyeron que la nutrición puede interactuar también con factores genéticos, medio ambientales y de manejo que influyen en la duración del anestro posparto, pudiendo expresarse por medio de un mecanismo neuroendocrino. Este hecho es reflejado en el reclutamiento, crecimiento, maduración de folículos ováricos y por ende en la ovulación.

#### **2.6. Metabolitos sanguíneos y hormonas metabólicas.**

La determinación de las concentraciones sanguíneas de diversos metabolitos permite detectar la movilización del tejido adiposo y el catabolismo proteico durante un determinado estado nutricional y establecen su relación con el subsiguiente comportamiento reproductivo (Russel y Wright, 1983; Randel, 1990).

En el ganado productor de leche se han utilizado los perfiles séricos de metabolitos como un análisis de tipo diferencial auxiliar en el diagnóstico de ciertas enfermedades metabólicas, como la hipocalcemia y la cetosis (Payne *et al.*, 1973). Actualmente este tipo de pruebas tienen un valor predictivo a corto plazo en relación a la producción, fundamentándose en el hecho de que cualquier anomalía detectada a través del análisis químico de la sangre está correlacionado con algún problema de tipo metabólico, el cual generalmente está asociado a desbalances nutrimentales en la dieta (Álvarez, 1996).

Andersson *et al.* (1991) analizaron la relación entre la fertilidad, concentración de cuerpos cetónicos en la leche y el nivel de nutrición en 38,624 lactaciones durante un periodo de

tres años, y observaron que las concentraciones superiores a 2.0 mM, se asociaron con efectos negativos sobre el intervalo entre el parto-primer servicio y una mayor incidencia de ovarios quísticos. Estos resultados confirman que el balance energético en ganado bovino lechero reviste gran importancia en la fertilidad del hato.

Con base en la cuantificación de ciertos metabolitos producidos durante el catabolismo del tejido adiposo es posible reconocer el momento en el que un rumiante se encuentra en balance energético negativo, y compensar dicha deficiencia para evitar o minimizar la movilización de reservas corporales (Bowden, 1971).

Los ácidos grasos volátiles (AGVs, acetato, propionato y butirato) son formados en el rumen a partir de la fermentación de carbohidratos. Los AGVs pasan a la circulación portal y aportan hasta un 80 % de la energía metabolizable disponible para un rumiante. En animales alimentados adecuadamente el propionato es el precursor más importante de la glucosa, y puede aportar entre 40 y 50 % de la producción total (Bergman, 1977; Álvarez, 1996). McCaughey *et al.* (1988) al evaluar el efecto de la infusión de glucosa sobre el comportamiento reproductivo en vacas de ganado de carne, no detectaron incremento en la respuesta de LH y GnRH. Sin embargo, la infusión del propionato abomasal incrementó la concentración de glucosa y la liberación de GnRH y LH en vaquillas prepúberes (Rutter *et al.*, 1983). Por su parte, McClure *et al.* (1978) al administrar un inhibidor metabólico de glucosa denominado 2-deoxy-D-glucosa en vaquillas bien alimentadas y ciclando, produjo fallas en la conducta estral y en la formación del cuerpo lúteo, así como inhibición en la glucólisis. De esto se deduce que existe una asociación entre los niveles de glucosa y la actividad reproductiva del ganado bovino.

Existen reportes que señalan que las concentraciones de glucosa, insulina, ácidos grasos libres (AGL) y 3  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) pueden ser utilizados para determinar el estatus energético en el ganado (Russel y Wright, 1983; Canfield y Butler, 1990). Grimard *et al.* (1995) al investigar las interacciones entre el balance energético, metabolitos sanguíneos y hormonas metabólicas en el ganado bovino, encontraron que los animales con bajo plano

nutricional presentaron menores concentraciones de insulina y glucosa en comparación a los semovientes con régimen alimenticio adecuado. En cambio, las vacas mantenidas en bajo plano nutricional tuvieron mayores concentraciones de AGL. De manera sintética, se puede concluir que los metabolitos sanguíneos, y particularmente los AGL deben ser considerados cuando se estudia el efecto de la nutrición en la reproducción de los bovinos. López-Barbella *et al.* (1990) observaron una alta correlación entre los cambios de peso en ovejas lactantes y los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres. Dichas asociaciones están relacionadas con los niveles de energía y proteínas en la dieta, con la actividad reproductiva posparto y con una relativa distribución de nutrientes durante el periodo parto-primer estro.

Por otro lado, la concentración plasmática de proteínas totales se utiliza para evaluar el estado de las reservas corporales. Aunque son de valor como indicadores del balance de nitrógeno (Sykes y Field, 1973), la albúmina y las globulinas son mejores indicadores para determinar el estado proteínico de los animales en el largo plazo.

Bolaños *et al.* (1996b) realizaron un estudio con el objeto de analizar la relación entre el reinicio de la actividad ovárica, la condición corporal y los niveles plasmáticos de compuestos relacionados con la nutrición. El inicio de la primera fase lútea ocurrió a los  $87 \pm 19$  días posparto, y los animales que reiniciaron la actividad ovárica tuvieron condición corporal y peso vivo significativamente más alto que los animales que se mantuvieron en anestro. La concentración de albúmina fue significativamente mayor en los animales que permanecieron en anestro. Este hecho refleja probablemente una mayor eficiencia en la utilización del alimento en los animales que reiniciaron la actividad ovárica. Es decir, las demandas energéticas de la lactación fueron compensadas mediante un cambio en el metabolismo del nitrógeno.

Durante la movilización del tejido adiposo (lipólisis) se lleva a cabo la formación del glicerol y AGL, los cuales son metabolizados a nivel hepático. El glicerol resultante de la hidrólisis de los triglicéridos presentes en el tejido adiposo es un importante precursor

gluconeogénico, llegando a aportar hasta el 50 % de los requerimientos de glucosa en caso de hipoglucemia (Vernon, 1980). Alan (1995) describe que en el proceso inicial de la lactogénesis, las vacas lecheras requieren mayores cantidades de glucosa, aminoácidos y ácidos grasos. Sin embargo, esta demanda de nutrimentos no se puede cumplir, por lo que manifiestan un balance energético negativo y que las obliga a movilizar sus reservas corporales para cumplir con este proceso. Adicionalmente, algunos metabolitos como los AGL y 3  $\beta$ -hidroxibutirato son indispensables para coadyuvar en la síntesis de la grasa de la leche, así como en la regulación metabólica de los animales.

Con esta misma perspectiva, Canfield y Butler (1990) determinaron la asociación entre el balance energético, metabolitos y la actividad reproductiva del ganado bovino lechero, encontrando una correlación significativa entre el balance energético y los AGL ( $r = - 0.40$   $P < 0.01$ ). Así se demuestra que los AGL son una señal periférica que sirve al sistema nervioso del animal como indicador del balance energético.

La adición de grasa en la dieta del ganado potencializa el consumo de energía neta y disminuye la magnitud del balance energético negativo. Además, los lípidos también pueden servir como un precursor en la síntesis de progesterona (vía síntesis de colesterol) y de prostaglandinas (ácidos grasos araquidónico y linoléico); ambas hormonas se relacionan con la fertilidad de las vacas (Gagliostro *et al.*, 1991). En consecuencia, Oldick *et al.* (1997) al realizar infusiones de grasa en el abomaso de vacas lecheras, detectaron mayores niveles plasmáticos de AGL y de grasa en la leche. Como era de esperarse, se modificó la dinámica ovárica, tanto del cuerpo lúteo como del folículo dominante; es decir, se encontraron mayores concentraciones de progesterona y menores secreciones de estradiol por alterarse la foliculogénesis.

Por otra parte, en un estudio que tuvo como objeto caracterizar el desarrollo folicular en vacas lecheras alimentadas en el posparto temprano con diferentes niveles de grasa en la dieta (3.3, 5.2 y 7.1%; nivel bajo, moderado y alto, respectivamente) se observó que las vacas alimentadas con raciones altas en grasa presentaron folículos dominantes de mayor

diámetro, mientras que en los animales suplementados con niveles moderados de grasa las concentraciones de estradiol fueron más altas durante la primera oleada folicular posparto (Stephen y Butler, 1997).

En los ovinos, la nutrición induce cambios notables en el peso corporal, función ovárica y en la tasa de ovulación (Boukhliq *et al.*, 1996). Por consiguiente, en los machos con un plano alto de nutrición se observa un buen comportamiento en la espermatogénesis. Boukhliq *et al.* (1997) al evaluar el efecto de la glucosa, ácidos grasos y proteína sobre el crecimiento testicular y la secreción de gonadotropinas en ovinos, encontraron que la combinación de glucosa y caseína tuvo mayor efecto sobre el crecimiento testicular ( $P < 0.05$ ). De este mismo modo, la adición de ácidos grasos en la dieta causó un persistente incremento en la frecuencia de pulsos de LH. En contraste, la caseína no alteró el crecimiento testicular y la secreción de gonadotropinas. Las respuestas endocrinas y reproductivas por infusiones intravenosas de aminoácidos (triptofano, tirosina y combinaciones de tirosina y fenilalanina) han sido estudiadas por algunos investigadores en ovejas, encontrándose un efecto importante en la secreción de gonadotropinas y en la tasa de ovulación (Downing *et al.*, 1997). Los ácidos grasos parecen ser una de las señales metabólicas que vinculan los cambios en la dieta, con los cambios de los centros reproductivos del cerebro.

### **2.6.1. Antecedentes de la leptina.**

La leptina es clasificada como una proteína de 167 aminoácidos (16 kDa), sintetizada normalmente en el tejido adiposo, aunque es producida también por la placenta, el estómago y el músculo esquelético (Zhang *et al.*, 1994; Caprio *et al.*, 2001). La leptina es el producto del gen obeso (*ob*), y participa en el control de los procesos endocrinos del apetito, la termogénesis, el crecimiento (Fruhbeck *et al.*, 2000; Mostyn *et al.*, 2001) y la reproducción (Barash *et al.*, 1996). En ratones el gen *ob* está localizado en el cromosoma 6, y codifica una transcripción de 4.5 kb que se expresa principalmente en el tejido adiposo (Zhang *et al.*, 1994). El ratón *ob/ob* C57BL/GJ tiene una mutación en el gen de leptina en el codón 105, que involucra el reemplazo de una arginina por una señal de alto prematuro con



la consiguiente producción de una forma inactiva de la leptina (Brann *et al.*, 2002). Este ratón genéticamente obeso *ob/ob* exhibe hipogonadismo, infertilidad, hiperinsulinemia, hiperglucemia y función de la tiroides dañada (Dubuc, 1976). El tratamiento de los ratones *ob/ob* con leptina recombinante disminuyó el peso corporal, el porcentaje de grasa corporal, y los animales recuperaron la fertilidad (Barash *et al.*, 1996).

Por otra parte, la expresión de leptina es influenciada por el estado de los almacenes corporales de grasa (Maffei *et al.*, 1995). El tamaño del adiposito es un factor determinante en la síntesis de leptina, puesto que los adipositos más grandes contienen más leptina que los adipositos más pequeños en el mismo individuo (Hamilton *et al.*, 1995; Delavaud *et al.*, 2002). Los niveles de leptina en la sangre se correlacionan con los almacenes de grasa corporal total. Sin embargo, no se sabe si los niveles altos de triglicéridos, metabolitos de los lípidos o factores mecánicos asociados con el incremento del tamaño del adiposito influyen en la expresión de la leptina (Delavaud *et al.*, 2002). Los niveles circulantes de leptina se incrementan pocas horas después de la comida en los roedores, y después de varios días de sobrealimentación en humanos (Saladin *et al.*, 1995; Kolaczynski *et al.*, 1996), y disminuyen dentro de algunas horas después del inicio del ayuno en ambas especies. De lo anterior se sugiere que la leptina sirve como un indicador de los almacenes energéticos, pero también como un mediador del balance energético en éstas especies.

Los niveles de leptina tienen un fuerte efecto sobre la secreción de neuropéptidos Y (NPY). El NPY es un neurotransmisor cerebral producido en el núcleo arcuato actúa que como estimulador central del consumo alimenticio (Thomas *et al.*, 1999). El NPY aumenta la ingesta y disminuye la termogénesis. El principal mecanismo por el que la leptina regula el apetito es inhibiendo la síntesis y secreción del NPY (Kolaczynski *et al.*, 1996).

La expresión del gen *ob* está sujeta a una precisa regulación hormonal (Fruhbeck *et al.*, 1998). Se ha comprobado que tanto la insulina como los glucocorticoides estimulan la expresión del gen *ob*. Algunos investigadores han demostrado una correlación positiva entre las concentraciones plasmáticas de insulina y leptina (Fruhbeck y Salvador, 2000). Sin embargo, parece que la insulina no estimula la producción de leptina en forma aguda,

pero a largo plazo causa un incremento en las concentraciones tanto *in vivo* como *in vitro*. Esto sugiere que la insulina estimula la producción de leptina en forma indirecta, quizá a través de sus efectos tróficos sobre el adiposito (Ahima y Flier, 2000; Havel, 2000). También se ha observado que las concentraciones séricas de leptina y GH están inversamente correlacionadas, de forma que en sujetos con deficiencia de GH la leptina se encuentra aumentada y la administración de GH disminuye la leptinemia (Fruhbeck *et al.*, 1998). Los estrógenos aumentan la concentración de leptina, en tanto que la testosterona produce un efecto contrario (Fruhbeck *et al.*, 2000).

La exposición aguda al frío causa la supresión de la expresión del gen *ob*, pudiéndose reproducir este mismo efecto mediante la administración de noradrenalina o del agonista  $\beta$ -adrenérgico isoprenalina. Del mismo modo, los agonistas  $\beta_3$  adrenérgicos también suprimen la expresión del gen y disminuyen la concentración de leptina sérica (Trayhurn, 1996). Estos datos ponen de manifiesto un efecto supresor sobre la expresión del gen *Ob*, mismo que es mediado por el sistema nervioso simpático.

### **2.6.2. Acciones biológicas de la leptina.**

En cuanto a su farmacocinética existen dos formas de leptina; una forma rápida, con una vida media de 3 a 4 minutos en el plasma, y una más lenta con una vida media de 71 minutos. La leptina se une a múltiples proteínas plasmáticas, incluyendo una forma soluble del receptor de la leptina (Re) y a la  $\alpha$  - 2 - macroglobulina (Carretero *et al.*, 2001) y su distribución tisular muestra que a los 60 y 180 minutos el intestino contiene la mayor concentración de leptina, mientras que el hígado, riñón, estómago y el pulmón tienen cuatro veces menos. Asimismo, es menor la concentración en la piel, músculo, corazón y cerebro (Hill *et al.*, 1998).

El receptor de la leptina es un miembro de la familia de receptores de citocinas de clase I. El receptor posee un dominio extracelular de 840 aminoácidos, un dominio transmembrana de 34 aminoácidos, y un dominio intracelular variable. Se han detectado hasta 5 isoformas

distintas del receptor en función de la distinta longitud del dominio intracelular, a las que se ha denominado *OB-Ra*, *OB-Rb*, *OB-Rc*, *OB-Rd* y *OB-Re* (Tartaglia *et al.*, 1995).

En los ratones *db/db* se identificaron una mutación glutamina por treonina en el dominio intracelular (Chen *et al.*, 1996). La forma larga del receptor de la leptina (*Rb*) se ha identificado en múltiples regiones cerebrales (en el núcleo arcuato y ventromedial del hipotálamo) y también en tejidos periféricos como el hígado, el páncreas y el músculo estriado (Carretero *et al.*, 2001). En el cerebro, las regiones fundamentales en las que se ha encontrado se encuentran asociadas a la regulación y equilibrio energético. Sin embargo, en el tejido periférico parece que el receptor predominante es el tipo corto (*Ra*), que esta presenta en órganos como intestino, pulmón, y riñón (Hill *et al.*, 1998).

El receptor de la leptina carece de actividad enzimática en su dominio intracelular. En vez de ello, está ligado a miembros de la familia de las quinasas janus (*JAK*), que pertenecen a una clase de tirosin-quinasas. La unión del ligando activa la quinasa *JAK* y lleva a la fosforilación de determinadas proteínas citoplasmáticas (Brann *et al.*, 2002). Dentro de estas proteínas existen una clase de factores de transcripción citoplasmáticos llamados transductores de señal y activadores de transcripción (*STAT*). Se han identificado seis miembros de esta familia. La fosforilación de los *STAT* induce una dimerización y translocación al núcleo, lo que acaba produciendo la transcripción de determinados genes (Caprio *et al.*, 2001). En resumen, la acción de la leptina es capaz de activar los *STAT* 3, 5 y 6. Previamente descrito, el *STAT*-3 también se activa por la glicoproteína 130 (*gp130*) y el factor estimulante de colonias granulocíticas (*G-CSF*). El *STAT*-6 es también activado por la acción de interleuquina tipo 4 (*IL-4*), mientras que la activación del *STAT*-5 no se produce por ninguna otra sustancia conocida (Carretero *et al.*, 2001).

### **2.6.3. Factores fisiológicos que afectan la expresión del gen de leptina en el tejido adiposo.**

#### **Sitio anatómico**

Se ha observado un alto nivel de ARNm de leptina en el tejido adiposo perineal, un nivel moderado en el tejido adiposo subcutáneo e intermuscular y un bajo nivel en el tejido adiposo intramuscular (Kim *et al.*, 2000).

#### **Factores genéticos y nutricionales.**

En ovejas de líneas gordas es más alto el nivel de ARNm de leptina en los sitios del tejido adiposo subcutáneo o visceral que en ovejas de líneas delgadas (Chilliard *et al.*, 2001). Asimismo, el nivel de ARNm de leptina en el tejido adiposo disminuyó significativamente ( $P < 0.01$ ) durante un periodo de restricción alimenticia y aumentó en el proceso de realimentación tanto en ovinos como en bovinos (Tsuchiya *et al.*, 1998; Amstalden *et al.*, 2000).

#### **Factores hormonales.**

La inyección intravenosa de NPY incrementó el ARNm de leptina y el ARNm del receptor NPY en el tejido adiposo de la oveja (Dyer *et al.*, 1997). Aunque no se conoce el papel de NPY en el metabolismo de los tejidos periféricos, estos resultados pueden reflejar un ciclo de retroalimentación relacionado al efecto inhibitorio de la leptina sobre la secreción del NPY en el cerebro de la oveja (Henry *et al.*, 1999).

El tratamiento con hormona del crecimiento (GH) en ovejas y en bovinos en desarrollo estimuló la expresión del ARNm de la leptina y de IGF-I en el tejido adiposo, provocando al mismo tiempo un aumento de insulina en el plasma (Raymond *et al.*, 1997; Houseknecht *et al.*, 2000). Asimismo, se ha observado que la inyección de leptina *in vivo* incrementó las concentraciones plasmáticas de GH en ovejas desnutridas (Nagatani *et al.*, 2000).

Por otra parte, las complejas interacciones entre insulina y los glucocorticoides juegan un papel central en la regulación de la producción de leptina en humanos (Fried *et al.*, 2000). El ARNm de la leptina del tejido adiposo incubado *in vitro* se incrementó por la adición de insulina y/o dexametasona, mientras que estos fueron atenuados por la simultánea adición de GH (Houseknecht *et al.*, 2000). Sin embargo, la subnutrición disminuye los niveles de leptina, lo cual a su vez contribuye a incrementar el cortisol (Bornstein *et al.*, 1997). Este incremento de cortisol contribuye a las adaptaciones metabólicas para la subnutrición (movilización de proteína-gluconeogénesis) y estimula el comportamiento de realimentación. La realimentación entonces estimula la secreción de insulina, la cual en presencia de altas concentraciones de cortisol que estimula la secreción de leptina. Las altas concentraciones de leptina normalizan la cortisolemia e insulinemia hacia un nuevo equilibrio homeostático (Chilliard *et al.*, 2001). De aquí que las interacciones cortisol-insulina-leptina puedan jugar un papel importante en la dinámica de la adaptación hacia la subalimentación y la realimentación en los rumiantes.

#### **Fotoperiodo.**

La exposición de ovejas adultas ovariectomizadas de la raza Lacaune, a la longitud de la duración del día, incrementó el ARNm de leptina en el tejido adiposo perineal y la concentración plasmática de leptina independientemente del nivel de alimentación (Bocquier *et al.*, 1998). En estas ovejas se observó que el tratamiento con melatonina (un modo efectivo para imitar los días cortos) disminuyó la concentración plasmática de leptina, insulina y la adiposidad intraabdominal (Wolden-Hanson *et al.*, 2000). Sin embargo, el tratamiento con melatonina (18 mg de liberación lenta del implante por 3 meses) no cambiaron los niveles de leptina, glucosa, ácidos grasos libres y 3  $\beta$ -hidroxibutirato en la oveja, aunque las concentraciones de LH y prolactina se vieron modificadas (Chilliard *et al.*, 2001).

Son necesarios más estudios para entender mejor los mecanismos involucrados en el efecto del fotoperiodo sobre el metabolismo del tejido adiposo en la oveja, con probables interacciones de las hormonas hipotalámicas, leptina, insulina y los glucocorticoides.

#### 2.6.4. La leptina en rumiantes.

Algunos investigadores han demostrado que la leptina está involucrada en la regulación metabólica a través de la acción del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, así como en la función reproductiva (Keisler *et al.*, 1999).

En los rumiantes se han identificado receptores para leptina en el hipotálamo (Dyer *et al.*, 1997), y se ha demostrado que la leptina regula el consumo de alimento (Morrison *et al.*, 2001) e interviene en los procesos reproductivos (Nagatani *et al.*, 2000) y la termorregulación (Mostyn *et al.*, 2001) de la oveja.

La administración central de leptina en rumiantes bien alimentados disminuyó significativamente ( $P < 0.01$ ) el consumo de alimento (Morrison *et al.*, 2001). Asimismo, los niveles de consumo de energía se han correlacionado positivamente con la expresión de leptina (ARNm) en el tejido adiposo (Amstalden *et al.*, 2000). El reciente establecimiento del radioinmunoanálisis específico de leptina en rumiantes permitió demostrar que el 35 y el 17% de la variación en los niveles plasmáticos de leptina fueron explicados respectivamente por la adiposidad y el estatus nutricional en ovejas adultas (Delavaud *et al.*, 2000) y en un 37% por la condición corporal alrededor en vacas lecheras (Ehrhardt *et al.*, 2000).

Sansinaea *et al.* (2001) encontraron que un grupo de vaquillas Hereford sometidas por 30 días a restricción nutricional tuvieron una disminución significativa ( $P < 0.01$ ) en las concentraciones séricas de leptina ( $3.51 \pm 0.29$  ng/ml) en comparación a las vaquillas con alimentación adecuada, que manifestaron valores de  $6.05 \pm 0.19$  ng/ml. Amstalden *et al.* (2000) quienes evaluaron un periodo de restricción nutricional aguda (48 h) en vaquillas F<sub>1</sub> prepúberes (Brahman x Hereford) también observaron una disminución significativa ( $P < 0.01$ ) en las concentraciones circulantes de leptina, IGF-1 e insulina, así como en la frecuencia de los pulsos de LH. Similares resultados fueron detectados en ovinos con ayuno de 72 horas donde las concentraciones circulantes de leptina disminuyeron en un 30%

(Nagatani *et al.*, 2000). En estudio también se asociaron con bajos niveles de leptina con la disminución en la frecuencia de pulsos de LH. Estas evidencias señalan que la leptina actúa como una señal metabólica, y que en unión con otras hormonas pueden tener influencia sobre los procesos fisiológicos de la reproducción (Spicer, 2001).

Block *et al.* (2001) trabajando con vacas Holstein encontraron que las concentraciones plasmáticas de leptina fueron de 3.0 ng/ml para una condición corporal promedio de 3.4, mientras que Delavaud *et al.* (2002) trabajando con ganado de la raza Charoláis encontraron el doble de las concentraciones de leptina (6.6 ng/ml) para vacas de la misma condición corporal. Esto indica que existen variaciones en las concentraciones de leptina en el ganado bovino, las cuales pueden deberse a particularidades en la deposición de la grasa para cada raza.

Por su parte, Delavaud *et al.* (2000) encontraron en ovejas una correlación significativa entre el peso vivo y los niveles de leptina ( $r = 0.47$ ) y una correlación más alta entre la condición corporal y los valores de leptina ( $r = 0.72$ ;  $P < 0.01$ ). Por su parte Keisler *et al.* (1999) y Pisabarro *et al.* (1999) encontraron en una población humana niveles de leptina notablemente mayor en la población de humanos obesos vs personas normales ( $P < 0.01$ ) y existió una fuerte correlación entre leptina e índice de masa corporal ( $r = 0.57$ ) y esta asociación fue todavía superior con grasa corporal ( $r = 0.61$   $P < 0.01$ ). Recientemente, se ha encontrado una relación positiva entre las concentraciones de leptina y el tamaño del adiposito tanto en vacas gordas como delgadas (Delavaud *et al.*, 2002) y parece ser que el tamaño de los adipositos es el principal factor de regulación de las concentraciones plasmáticas de leptina en el bovino. Finalmente, a pesar de que la evaluación de la condición corporal sigue siendo un método subjetivo para evaluar la reserva corporal o el nivel de energía de los animales, proporciona los elementos prácticos que permiten tomar decisiones para mejorar el comportamiento productivo y reproductivo del hato.

Como se mencionó anteriormente, la condición corporal es un indicador práctico del estatus nutricional de los animales. En los bovinos la CC tiene una correlación positiva con los depósitos de grasa intra e intermuscular y en los tejidos abdominales (Otto *et al.*, 1991). Sin embargo, se desconoce la relación existente entre la CC y las concentraciones de leptina, así como su asociación con las concentraciones de IGF-I e insulina. Además, en el bovino existe muy poca información sobre la relación entre las concentraciones de hormonas metabólicas, el estado nutricional y la función ovárica, especialmente durante los procesos de transición hacia el anestro o hacia el inicio de la actividad reproductiva. Por estas razones se llevó a cabo la presente investigación.



## LITERATURA CITADA.

Adams, GP. Matteri LR. Kastelic PJ. Ko HC and Ginther OJ. 1992. Association between surges of follicle – stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fert.* 94 : 177 – 188.

Adashi, EY. Resnick CE. Svoboda ME and Van Wyk JJ. 1985. Somatomedin-C enhances induction of luteinizing hormone in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 116 : 2369 – 2375.

Ahima, RS and Flier JS. 2000. Leptin. *Annu. Rev. Physiol.* 62: 413 – 437.

Alan, WB. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73: 2804- 2817.

Álvarez, LJ. 1996. Efecto de la alimentación suplementaria antes y después del parto sobre la actividad ovárica, condición corporal y metabolitos sanguíneos de ovejas Tabasco y sobre el comportamiento productivo de sus crías en el trópico de México. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, México, D.F.

Amstalden, M. Garcia MR. Williams SW. Stanko RL. Nizielski SE. Morrison CD. Keisler DH and Williams GL. 2000. Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to short-term fasting in prepubertal heifers: relationships to circulating insulin and insulin-like growth factor I. *Biol. Reprod.* 63: 127 – 133.

Andersson, L. Gustafsson AH and Emanuelson U. 1991. Effect of hyperketonaemia and feeding on fertility in dairy cows. *Theriogenology* 36 : 521 – 537.

Anta, JE. Rivera RJ. Galina CS. Porras AA y Zarco QL. 1989. Análisis de la información publicada en México sobre la eficiencia reproductiva de los bovinos. II. Parámetros reproductivos. *Vet. Mex.* 20. 11-18

Bao, B and Garverick HA. 1998. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: A review. *J. Anim. Sci.* 76 : 1903 – 1921.

Bao, B. Garverick HA. Smith GW. Smith MF. Salfen BE and Youngquist RS. 1997. Changes in messenger RNA encoding LH receptor, cytochrome P450 side chain cleavage, and aromatase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles. *Biol. Reprod.* 56 : 1158 – 1168.

Barash, IA. Cheung CC. Weigle DS. Hongping R. Kabigting EB. Kuijper JL. Clifton DK and Steiner RA. 1996. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology* 137: 3144 – 3147.

Benoit, AM. Swanchara K. Schoppee P and Armstrong JD. 1996. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and IGF binding proteins: potential mediators of the influence of nutrition on ovarian function in the heifer and gilt. *Reprod. Dom. Anim.* 31 : 549 – 553.

Bergman, EN. 1977. Glucose metabolism in ruminants. In: proc. third international conference on production diseases in farm animals. Edited by van Adrichem. P.W. 25. Center for Agriculture, Wageningen, Holanda.

Bishop, DK. Wettmann RP and Spicer LJ. 1994. Body energy reserves influence the onset of luteal activity after early weaning of beef cows. *J. Anim. Sci.* 72: 2703 – 2708.

Bocquier, F. Bonnet M. Faulconnier Y. Guerre-Millo M. Martin P and Chilliard Y. 1998. Effects of photoperiod and feeding level on perirenal adipose tissue metabolic activity and leptin synthesis in the ovariectomized ewe. *Reprod. Nutr. Dev.* 38: 489 – 498.

Bolaños, JM. Forsberg M. Kindahl H. and Rodríguez-Martínez H. 1996a. Influence of body condition and restricted suckling on post-partum reproductive performance of Zebu cows (*Bos indicus*) in the humid tropics. *Reprod. Dom. Anim.* 31 : 363 – 367.

Bolaños, JM. Meneses A and Forsberg M. 1996b. Resumption of ovarian activity in zebu cows (*Bos indicus*) in the humid tropics: influence of body condition and levels of certain blood components related to nutrition. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 28 : 237 – 246.

Bornstein, SR. Uhlmann K. Haidan A. Ehrhart-Bornstein M and Scherbaum WA. 1997. Evidence for a novel peripheral action of leptin as a metabolic signal to the adrenal gland. *Diabetes* 46: 1235 – 1238.

Bossis, I. Wettemann RP. Welty SD. Vizcarra JA. Spicer LJ. and Diskin MG. 1999. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: Ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. *J. Anim. Sci.* 77 : 1536 – 1546.

Boukhliq, R. Adams NR and Martin GB. 1996. Effect of nutrition on the balance of production of ovarian and pituitary hormones in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 45 : 59 – 70.

Boukhliq, R. Martin GB. White CL. Blackberry MA and Murray PJ. 1997. Role of glucose, fatty acids and protein in regulation of testicular growth and secretion of gonadotrophin, prolactin, somatotrophin and insulin in the mature ram. *Reprod. Fert. Dev.* 9 : 515 – 524.

Bowden, DM. 1971. Non esterified fatty acids and ketone bodies in blood as indicators of nutritional status in ruminants. Review. *Can J. Anim. Sci.* 51 : 1.

Brann, WD. Wade FM. Dhandapani MK. Mahesh BV and Buchanan DC. 2002. Leptin and reproduction. *Steroids* 67: 95 – 104.

- Brooks, AN. Haynes NB. Yang K and Lamming GE. 1986. Ovarian steroid involvement in endogenous opioid modulation of LH secretion in seasonally anestrous mature ewes. *J. Reprod. Fert.* 76. 709 – 715.
- Butler, WR. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60 – 61:449–457.
- Butler, WR. Everett RW and Coppock CE. 1981. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 53 : 742 – 748.
- Canfield, RW and Butler WR. 1990. Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Dom. Anim. Endocrinol.* 7 : 323 – 330.
- Caprio, M. Fabbri E. Isidori MA. Aversa A and Fabbri A. 2001. Leptin in reproduction. Review. *Endocrinol. Metab.* 12: 65 – 72.
- Carretero, BJI. Barbancho MDL. González MAV y Dacosta GCV. 2001. Leptina: Implicaciones fisiológicas y clínicas. *An. Med. Interna* 18: 152 – 160.
- Carro, E. Senairs R. Considine RV. Casnueva F and Dieguez C. 1997. Effects of growth hormone (GH) and insulin – like growth factor – 1 on serum leptin in GH – deficient adults. *Deabetologia* 40: 3. 363 – 364.
- Carson, RS. Zhang Z. Hutchinson LA. Herington AC and Findlay JK. 1989. Growth factors in ovarian function. *J. Reprod. Fert.* 85 : 735 – 746.
- Chehab, FF. Mounzih K. Lu R and Lim ME. 1997. Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. *Science* 275. 88 – 90.
- Chen, H. Charlat O and Tartaglia LA. 1996. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell.* 84: 491 – 495.
- Cheung, CC. Thornton JE. Kuijper JL. Weigle DS. Clifton DK and Steiner RA. 1997. Leptin is a metabolic gate for the onset of puberty in the female rat. *Endocrinology* 138: 855 – 858.
- Chilliard, Y. Bonnet M. Delavaud C. Faulconnier Y. Leroux C. Djiane J and Bocquier F. 2001. Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domestic. Anim. Endocrinol.* 21: 271 – 295.
- Croxton, D and Stollard RJ. 1976. The use of condition scoring as a management aid in dairy and beef cattle. *Anim. Prod.* 22 : 146 (Abstr).

Crowe MA, Kelly P, Driancourt MA, Boland MP, and Roche JF. 1996. Effects of FSH with and without LH on serum hormone concentration and follicular responses in GnRH immunized heifers. *J. Anim. Sci.* 74- 239. (Suppl 1)

Daniel, J. A., M. G. Thomas, C. S. Hale, J. M. Simmons, and Keisler DH. 2000. Effect of cerebroventricular infusion of insulin and (or) glucose on hypothalamic expression of leptin receptor and pituitary secretion of LH in diet-restricted ewes. *Domest. Anim. Endocrinol.* 18:177-185.

De la Sota RL, Simmen FA, Diaz T and Thatcher WW. 1996. Insulin-like growth factor system in bovine firsts-wave dominant and subordinate follicles. *Biol. Reprod.* 55 : 803 – 812.

Delavaud C, Bocquier F, Chilliard Y, Keisler DH, Gertler A and Kann G. 2000. Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *J. Endocrinol.* 165: 519 – 526.

Delavaud, C., A. Ferlay, Y. Faulconnier, F. Bocquier, G. Kann, and Chilliard Y. 2002. Plasma leptin concentration in adult cattle: effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *J. Anim. Sci.* 80:1317-1328.

Domecq, JJ, Skidmore AL, Lloyd JW and Kaneene JB. 1995. Validation of body condition scores with ultrasound measurements of subcutaneous fat of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78 : 2308 – 2313.

Domínguez, MM. 1997. Efectos de la condición corporal, estado reproductivo y grupo racial sobre la población folicular y calidad de los ovocitos en vacas. Séptimo Curso Internacional de Reproducción Bovina. Academia de Investigación en Biología de la Reproducción. México 144-154.

Downing, JA, Joss J and Scaramuzzi RJ. 1997. Ovulation rate and the concentrations of LH, FSH, GH, prolactin and insulin in ewes infused with tryptophan, tyrosine or tyrosine plus phenylalanine during the luteal phase of the oestrus cycle. *Anim. Reprod. Sci.* 45 : 283 – 297.

Driancourt, MA. 1999. Crecimiento folicular en los animales domésticos (Mecanismos y Manipulación). Curso Internacional. Fisiología de la reproducción en pequeños rumiantes. Colegio de Postgraduados. México. 78 – 94.

Driancourt, MA. 1991. Follicular dynamics in shepp and cattle. *Theriogenology* 35 : 55 – 79.

Dubuc, PU. 1976. The development of obesity, hyperinsulinemia, and hyperglycemia in *ob/ob* mice. *Metabolism.* 25: 1567 – 1574.

- Dunn, T and Moos G. 1992. Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock. *J. Anim. Sci.* 70: 1580 –1593.
- Dyer, CJ. Simmons JM. Matteri RL and Keisler DH. 1997. Effects of an intravenous injection of NPY on the leptin and NPY-Y1 receptors mRNA expression in ovine adipose tissue. *Domest. Anim. Endocrinol.* 14: 325 – 333.
- Ebling FJ. Wood RI. Karsch FJ. Vannerson LA. Suittie JM. Bucholtz DC. Schall RE. and Foster OL. 1990. Metabolic interphases between growth and reproduction III. Central mechanisms controlling pulsatile luteinizing hormone secretion in the nutritionally growth-restricted female lambs. *Endocrinology* 126: 2719 –2727.
- Echternakamp, SE. Ferrel CL and Rone JD. 1982. Influence of pre-and post-partum nutrition on LH secretion in suckled postpartum beef heifers. *Theriogenology* 18 : 283 – 295.
- Edmonson, JA. Lean JJ. Weaver DL. Farver T and Webster GA. 1989. Body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72: 68 – 78.
- Edwards, JW. Cannell CR. Garrett PR. Savell WJ. Cross RH. Longnecker TM. 1989. Using ultrasound, linear measurements and live fat thickness estimates to determine the carcass composition of market lambs. *J. Anim. Sci.* 67 : 3322.
- Ehrhardt, RA. Slepatis RM. Siegal-Willott J. Van Amburgh ME. Bell AW and Boisclair YR. 2000. Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. *J. Endocrinol.* 166: 519 – 528.
- Elmqvist, KJ. Ahima SR. Flier ME. Flier SJ and Saper BC. 1997. Leptin activates neurons in ventrobasal hypothalamus and brainstem. *Endocrinology* 138: 2. 839-842.
- Enright, WJ. Spicer LJ. Prendiville DJ. Murphy MG and Campbell RM. 1994. Interaction between dietary intake and ovariectomy on concentrations of insulin-like growth factor – I, GH and LH in plasma of heifers. *Theriogenology* 41 : 1231 – 1240.
- Ferguson, JD. Galligan DT and Thomsen N. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77 : 2695 – 2703.
- Fortune, JE. 1994. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol. Reprod.* 50 : 225 – 232.
- Fried, SK. Ricci MR. Russell CD and Laferrere B. 2000. Regulation of leptin production in humans. *J. Nutr.* 130: 3127 – 3131.

Frühbeck, G and Salvador J. 2000. Relation between leptin and glucose metabolism. *Diabetología* 43: 3 – 12.

Frühbeck, G. Jeeb SA and Pretice AM. 1998. Leptin. Physiology and pathophysiology. *Clin. Physiol.* 18: 399 – 419.

Frühbeck, G. Salvador J and Díez J. 2000. Implicaciones de la leptina en la fisiopatología de las enfermedades cardiovasculares. *Arteriosclerosis* 12: 93 – 105.

Gagliostro, G. Chilliard Y and Davicco JM. 1991. Duodenal rapessed oil infusion in early and midlactacion cows. 3. Plasma hormones and mammary apparent uptake of metabolites. *J. Dairy Sci.* 74 : 1893.

Garnsworthy, PC. 1988. The effect of energy reserves at calving on performance of dairy cows. In: Nutrition and lactation in the dairy cow. Butterworths. UK.

Garnsworthy, PC and Toops J. 1982. The effect of body condition of dairy cows at calving, food intake in early lactation on blood composition of dairy cows given complete diets. *Anim. Prod.* 35: 121 – 135.

Ginther, OJ. Kastelic PJ and Knopf L. 1989. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.* 20 : 187 – 200.

Gong, JG. Baxter G. Bramley TA and Webb R. 1997. Enhancement of ovarian follicle development in heifers by treatment with recombinant bovine somatotropin : a dose-responsive study. *J. Reprod. Fert.* 110 : 91 – 97.

Gong, JG. Campbell KB. Bramley AT. Gutierrez GC. Peter RA and Webb R. 1996. Supression in the secretion of follicle – stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin – releasing hormone antagonist. *Biol. Reprod.* 55 : 68 – 74.

Grimard, B. Humblot P. Ponter AA. Mialot JP. Sauvart D and Thibier M. 1995. Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. *J. Reprod. Fert.* 104 : 173 – 179.

Gutierrez, CG. Oldham J. Bramley AT. Gong GJ. Campbell KB and Webb R. 1997. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. *J. Anim. Sci.* 75 : 1876 – 1884.

Hall, JB. Schillo KK. Hileman SM and Boling JA. 1992. Does tyrosine act as a nutritional signal mediating the effects of increased feed on luteinizing hormone patterns in growth restricted lambs? *Biol. Reprod.* 46: 573 –579.

Hamilton, BS. Paglia D. Kwan AYM and Dietel M. 1995a. Increased obese mRNA expression in omental fat cells from massively obese humans. *Nat Med.* 1: 953 – 956.

Hamilton, SH. Garverick HA. Keisler DH. Xu ZZ. Loos K and Youngquist SR. 1995. Characterization of follicle cyst dynamics and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biol. Reprod.* 53 : 890 – 898.

Hansel, W. and Convey EM. 1983. Physiology of the estrous cycle. *J. Anim. Sci.* 57: 404-423.

Havel, JP. 2000. Role of adipose tissue in body-weight regulation: mechanisms regulating leptin production and energy balance. *Procc. Nutr. Soc.* 59 : 359 – 371.

Henderson, KM. Kieboom EL. McNatty PK. Lun S and Heath DA. 1984. 125 I – HCG binding to bovine thecal tissue from healthy and atretic antral follicles. *Mol. Cell. Endocrinol.* 34 : 91 – 98.

Henry, BA. Godirig JW. Alexander WS. Tilbrook AJ. Canny BJ. Dunshea F. Rao A. Mansell A and Clarke IJ. 1999. Central administration of leptin to ovariectomized ewes inhibits food intake without affecting the neuroendocrine function. *Endocrinology* 140: 1175 – 1182.

Hernandez, ER. Resnick CE. Svoboda ME. VanWyk JJ. Payne DW and Adashi EY. 1988. Somatomedin-C/insulin-like growth factor I as an enhancer of androgen biosynthesis by cultured rat ovarian cells. *Endocrinology* 122 : 1603 – 1612.

Hernández, RE. Segura CV. Segura CJ. y Osorio AM. 2001. Intervalo entre partos, duración de la lactancia y producción de leche de un hato de doble propósito en Yucatán, México. *Agrociencia* 35: 699 – 705.

Hill, RA. Margetic S. Pegg GG and Gazzola C. 1998. Leptin: its pharmacokinetics and tissue distribution. *Int J. Obes. Rel. Met. Dis.* 22: 765 – 770.

Houseknecht, KL. Portocarrero CP. Ji S. Lemenager R and Spurlock ME. 2000. Growth hormone regulates leptin gene expression in bovine adipose tissue: correlation with adipose IGF-1 expression. *J. Endocrinol.* 164: 51 – 57.

Imakawa, K. Day ML. Zalesky DD. Clutter A. Kittok RJ. and Kinder JE. 1987. Effects of 17  $\beta$ -estradiol and diets varying in energy on secretion of luteinizing hormone in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 64 : 805 – 815.

Ireland, JJ. 1987. Control of follicular growth and development. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 34 : 39 – 54.

Jagger, JP. Peters AR. and Lamming GE. 1987. Hormone responses to low-dose GnRH treatment in post-partum beef cows. *J. Reprod. Fert.* 80 : 263 – 269.

Jolly, DP. McDougall S. Fitzpatrick LA. Macmillan KL and Entwistle KW. 1995. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 49 : 477 – 492.

Kastelic, JP. Knopf L and Ginther OJ. 1990. Effect of day prostaglandin F2 alfa treatment on secretion and development of the ovulatory follicle in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 23 : 169 – 180.

Keisler, DH. Daniel JA and Morrison CD. 1999. The role of leptin in nutritional status and reproductive function. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 54: 425 – 435.

Kennedy, GC. 1953. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc. Roy. Soc. (B)* 140 578 – 592.

Kesner, JS. Convey EM and Anderson CR. 1981. Evidence that estradiol induces preovulatory LH surge in cattle by increasing pituitary sensitivity to LHRH and then increasing LHRH release. *Endocrinology* 108 : 1386.

Kim, H. Chiy. Chung K. Kim K. Choi Y and Baik M. 2000. Differential response of obese gene expresión from fasting in bovine adipose tissues. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64: 2240 – 2242.

Kirby, CJ. Smith MF. Keisler DH and Lucy MC. 1997. Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained-release bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.* 80 : 273 – 285.

Kirby, CJ. Thatcher WW. Collier RJ. Simmen FA and Lucy MC. 1996. Effects of growth hormone and pregnancy on expression of growth hormone receptor, insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-2 and-3 genes in bovine uterus, ovary and oviduct. *Biol. Reprod.* 55 : 996 – 1002.

Kolaczynski, JW. Considine RV. Ohanesian J. Marco C. Caro JF. 1996. Responses of leptin to short-term fasting and refeeding in humans. *Diabetes* 45: 1511 – 1515.

Kurz, SG. Dyer RM. Hu Y. Wright MD and Day ML. 1990. Regulation of luteinizing hormone secretion in prepubertal heifers fed and energy deficient diet. *Biol. Reprod.* 43. 450 – 456.

Lalman, DL. Keisler DH. Williams JE. Scholljegerdes EJ and Mallet DM. 1997. Influence of postpartum weight and body condition change on duration of anestrus by undernourished suckled beef heifers. *J. Anim. Sci.* 75 : 2003 – 2008.



Lamming, GE. Peters AR. Riley GM. and Fisher MW. 1982. Endocrine regulation of postpartum function In: Karg H. Schallemburger E. Factors Influencing Fertility in the Postpartum Cow. *Current Top. Vet. Med. Anim. Sci.* 20: 148-172.

Lapierre, H. Pelletier G. Aribat T. Fournier K. Gaudreau P. Brazeau P and Petitclerc D. 1995. The effect of feed intake and growth hormone-releasing factor on lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78 : 804 – 815.

Lara, BA. 1996. Nutrición preparto y condición corporal al parto sobre el comportamiento posparto en vacas productoras de carne y sus crías. Tesis de Maestría. Depto. de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo. México.

Leeuwenberg, BR. Hudson NL. Moore Lg. Hurst PR and McNatty KP. 1996. Peripheral and ovarian IGF-I concentrations during the ovine oestrous cycle. *J. Endocrinol.* 148: 281-289.

López-Barbella, SF. Martínez-Guillen ND. De Combellas JB and Rondon-Morales Z. 1990. Effect of restricted suckling upon post-partum reproductive activity in sheep. In: Livestock Reproduction in Latin América. International Atomic Energy Agency. -Vienna, 1998, 351-362

López, GA. 1991. Efecto de la administración de naloxona y destete temporal por 48 horas a vacas de doble propósito en anestro a los 28 y 42 días posparto en el trópico. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México, D.F.

López, PM. y Rubio LM. 1998. Tecnología para la evaluación objetiva de las canales de abasto. *Vet. Mex.* 29 : 3279 – 289.

Lucy, MC. Bilby CR. Kirby CJ. Yuan W and Boyd CK. 1999. Role of growth hormone in development and maintenance of follicles and corpora lutea. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 54: 49 – 59.

Lucy, MC. Boyd CK. Koenigsfeld AT and Okamura CS. 1998. Expression on somatotropin receptor messenger ribonucleic acid in bovine tissues. *J. Dairy Sci.* 81 : 1889 – 1895.

Lucy, MC. Savio JD. Badinga L. De la Sota RL and Thatcher WW. 1992. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.* 70 : 3615 – 3626.

Lucy, MC. Staples RC. Michel MF and Thatcher WW. 1991. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74: 473-482.

Maffei, MJ. Halaas J. Ravussin E. Pratley RE and Lee GM. 1995. Leptin levels in human and rodents: Measurement of plasma leptin and *ob* mRNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat. Med.* 1: 1155 – 1161.

- McCaughey, PW. Buttler ML and Manns GJ. 1988. Effect of glucose infusion on metabolic and reproductive function in postpartum beef cows. *Can. J. Anim. Sci.* 68 : 1079 – 1087.
- McClure, JT. Nacarrow DC. and Radford MH. 1978. The effect of 2 – deoxy-D-glucose on ovarian function of cattle. *Aust. J. Biol. Sci.* 31 : 183 – 186.
- McCusker, RH. 1998. Controlling insulin-like growth factor activity and the modulation of insulin-like growth factor binding protein and receptor binding. *J. Dairy Sci.* 81 : 1790 – 1800.
- McGuire, MA. Vicini JL. Bauman DE and Veenhuizen JJ. 1992. Insulin-like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation. *J. Anim. Sci.* 70 : 2901 – 2910.
- McNeilly, AS. Picton H M. Campbell BK and Baird DT. 1991. Gonadotrophic control of follicle growth in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 43 : 177 – 186.
- Monget, P and Monniaux D. 1995. Growth factors and the control of folliculogenesis. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 49 : 321 – 333.
- Monniaux, D. Monget P. Besnard N. Huet C and Pisselet C. 1997. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. *Theriogenology* 47 : 3 – 12.
- Moor, RM. and Seamark FR. 1986. Cell signaling, permeability and microvasculatory changes during antral follicle development in mammals. *J. Dairy Sci.* 69 : 927 – 943.
- Morrison, CD. Daniel J A. Holmberg BJ. Djiane J. Raver N. Gertler A and Keisler DH. 2001. Central infusion of leptin into well-fed and undernourished ewe lambs: effects on feed intake and serum concentrations of growth hormone and luteinizing hormone. *J. Endocrinol.* 168: 317 – 324.
- Moss, GE. Parfet JR. Marvin CA. Allrich RD and Diekman MA. 1985. Pituitary concentrations of gonadotropins and receptors for GnRH in suckled beef cows at various intervals after calving. *J. Anim. Sci.* 60 : 285 – 293.
- Moses, AC. Nissley SP. Shorth PA. Rechler MM. White RM. Krirght AB and Higa OZ. 1980. Elevated levels of insulin-like growth multiplication stimulating activity infetal rat serum. *Proce Natl. Acad. Sci. (USA)* 77 : 3649.
- Mostyn, A. D. H. Keisler, R. Webb, T. Stephenson, and Symonds ME. 2001. The role of leptin in the transition from fetus to neonate. *Proc. Nutr. Soc.* 60:187–194.

Nagatani, S. Zeng Y. Keisler DH. Foster DL and Jaffe CA. 2000. Leptin regulates pulsatile luteinizing hormone and growth hormone secretion in the sheep. *Endocrinology* 141: 3965 – 3975.

Nelsen, TC. Short RE. Reynolds L. and Urick JJ. 1985. Palpated and visually assigned condition scores compared with weight, height and heart girth in Hereford and crossbred cows. *J. Anim. Sci.* 60 : 363.

Nett, TM. Cermak D. Braden T. Manns J and Niswender G. 1987. Pituitary receptors of GnRH and estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows. I Changes during the estrous cycle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 4: 123 - 132.

Nicholson, MJ. and Butterworth MH. 1986. A guide to condition scoring of zebu cattle. International Livestock Centre for Africa. Addis Abada, Ethiopia 29.

Nolan, CJ. Bull RC. Sasser RG. Ruder CA. Panlasigui PM. Schoeneman HM and Reeves JJ. 1988. Postpartum reproduction in protein restricted beef cows: effect on the hypothalamic-pituitary-ovarian axis. *J. Anim. Sci.* 66 : 3208 – 3217.

Oh, YM. Nagalla SR. Yamanaka Y. Kim HS. Wilson E. Rosenfeld RG. 1996. Synthesis and characterization of insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP)-7 recombinant human mac 25 protein specifically binds IGF-I and IGF-II. *J. Biol. Chem.* 271 : 30322 – 30325.

Oldick, BS. Staples CR. Thatcher WW and Gyawu P. 1997. Abomasal infusion of glucose and fat-effect on digestion, production, and ovarian and uterine functions of cows. *J. Dairy Sci.* 80 : 1315 – 1328.

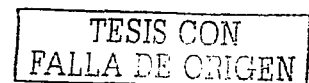
Otto, KL. Ferguson JD. Fox DG and Sniffen CJ. 1991. Relationship between body condition score and composition of ninth to eleventh rib tissue in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74 : 852 – 859.

Park, B. Whittaker AD. Miller RK and Hale DS. 1994. Predicting intramuscularly fat in beef longissimus muscle from speed of sound. *J. Anim. Sci.* 72 : 109 – 116.

Payne, JM. Rowland GJ. Manston R and Dew SM. 1973. A Statistical appraisal of the results of metabolic prolife test on 75 herds. *Brit. Vet. J.* 129 : 370 – 381.

Pisabarro, R. Irrazabal E. Recalde A. Barrios E. Arocena A. Aguirre B. García LJ y Bonifazi J. 1999. Leptina: Una hormona secretada por el tejido adiposo. Primer estudio en muestra poblacional uruguaya. *Rev. Med. Uruguay* 15: 1-12.

Peters, AR. Pimentel MG and Lamming GE. 1985. Hormone responses to exogenous GnRH pulses in post-partum dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 75 : 557 – 565.



Rahe, CH. Brown JL. Marple DN. Startin JL. Bartol FF. Mulvaney DR and Reeves JJ. 1988. Adenohypophyseal receptors for LHRH, pituitary content of gonadotropins and plasma concentrations of LH in cyclic, pregnant and postpartum beef cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* 5: 291 –298.

Randel, RD. 1990. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J. Anim. Sci.* 68 : 853 – 8620.

Rathbone, MJ. Kinder JE. Fike K. Kojima F. Clopton D. Ogle CR and Bunt CR. 2001. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 50: 277-320.

Raymond, SR. Thomas MG. Carroll JA. Matteri RL and Keisler DH. 1997. Zeranol and growth hormone treatment differentially influenced mRNA levels of the obesity protein, leptin and the GH receptor in growth wethers. *J. Anim. Sci.* 75 (Suppl. 1). 225

Rhodes, FM. Fitzpatrick LA. Entwistle KW and De'ath G. 1995. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. *J. Reprod. Fert.* 104 : 41 – 49.

Rhodes, FM. Entwistle KW and Kinder JE. 1996. Changes in ovarian function and gonadotropin secretion preceding the onset of nutritionally induced anoestrus in *Bos indicus* heifers. *Biol. Reprod.* 55 : 1437 – 1443.

Rhodes, FM. 1996. Predicting the onset of nutritional anoestrus in Brahman heifers. *Proced. New Zeal. Soc. Anim. Prod.* 56 : 378 – 380.

Richards, MW. Spitzer JC and Warner MB. 1986. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 62 : 300 – 306.

Richards, MW. Wettemann RP and Schoenemann HM. 1989. Nutritional anoestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarian activity. *J. Anim. Sci.* 67 : 1520 – 1526.

Roberts, AJ. Nugent RA. Klindt J and Jenkins TG. 1997. Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *J. Anim. Sci.* 75 : 1909 – 1917.

Roche, JF. Mackey D and Diskin MD. 2000. Reproductive management of postpartum cows. *Anim. Reprod. Sci.* 60 – 61, 703 – 712.

Ronge, H. Blum C. Clement F. Jans H. Levenberger and Binder H. 1988. Somatomedin C in dairy cows related to energy and protein supply and to milk production. *Anim. Prod.* 47: 165.

Ruíz-Cortés, ZR and Olivera-Angel M. 1999. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. *Anim. Reprod. Sci.* 54: 211 – 220.

Russel, AJ and Wright IA. 1983. The use of blood metabolites in the determination of energy status in beef cows. *Anim. Prod.* 37 : 335 – 343.

Rutter, LM. Randel RD. Schelling GT and Forrest DW. 1983. Effect of abomasal infusion of propionate on the GnRH-induced luteinizing hormone release in prepuberal heifers. *J. Anim. Sci.* 56 : 1167 – 1173.

Saladin, R. Devos P. Guerre-Millo M. Leturge A and Girard J. 1995. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 377: 527 – 529.

Sansinanea, SA. Cerone SI. Zonco I. Garcia C and Auza N. 2001. Serum leptin levels in cattle with different nutritional conditions. *Nutr. Res.* 21: 1045 – 1052.

Sasser, RG. Williams JR. Bull CR. Ruder AC and Falk GD. 1989. Postpartum reproductive performance in crude protein restricted beef cows: return to estrus and conception. *J. Anim. Sci.* 66 : 3033.

Savio, JD. Boland MP. Inés N and Roche JF. 1990. Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 88. 569 – 579.

Savio, JD. Keenan L. Boland MP and Roche JF. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle of heifers. *J. Reprod. Fert.* 83 : 663 – 671.

Schams, D. Koll R and Li CH. 1988. Insulin-like growth factor – I stimulates oxytocin and progesterone production by bovine granulosa cells in culture. *J. Endocrinol.* 116 : 97 – 100.

Schams, D. Schallenberger E. Menzer CH. Stangl J. Zottmeier K. Hoffmann B and Karg H. 1978. Profiles of LH, FSH and progesterone in postpartum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic functions. *Theriogenology* 10: 453 - 468.

Schillo, KK. 1992. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 70 : 1271 – 1283.

Schillo, KK. Hall JB and Hileman SM. 1992. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in beef heifer. *J. Anim. Sci.* 70: 3994-4005.

Selk. GE. Wettemann RP. Lusby KS. Oltjen JW. Mobley SL. Rasby RJ and Garmendia JC. 1988. Relationships among weight change, body condition and reproductive performance of range beef cows. *J. Anim. Sci.* 66 : 3153 – 3159.

Short, RE. Bellows RA. Staigmiller RB. Berardinelli JG and Custer EE. 1990. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.* 68 : 799 – 816.

Short, RE. Staigmiller RB and Bellows RA. 1988. Hormonal treatments to induce ovulation In.: 11<sup>th</sup>. International Congress Animal Reproduction and Artificial Insemination. Dublin Irlanda 5: 146 – 154.

Spicer, LJ. 2001. Leptin. A possible metabolic signal affecting reproduction. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21: 251 – 270.

Spicer, LJ and Echterkamp SE. 1995. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domest. Anim. Endocrinol.* 12 : 223 – 245.

Spicer, L.J. and Francisco CC. 1997. The adipose obese gene product, leptin: evidence of a direct inhibitory role in ovarian function. *Endocrinology* 138: 3374- 3379.

Spicer, LJ. Tucker WB and Adams GD. 1990. Insulin-Like growth factor-I in dairy cows: relationships among energy balance, body condition, ovarian activity and estrous behavior. *J. Dairy Sci.* 73 : 929 – 937.

Stagg, K. Diskin MG. Roche JF and Sreenan JM. 1995a. Association between FSH concentrations and follicle growth during normal oestrus cycles and nutritional anoestrus in heifers. *J. Reprod. Fert. Abstr.* 15 : 66.

Stagg, K. Diskin MG. Sreenan JM and Roche JF. 1995b. Follicular development in long – term anoestrous suckler beef cows fed two goals of energy postpartum. *Anim. Reprod. Sci.* 38: 49 – 61.

Steiner, R.A. Cameron JC. Mcneill TH. Clifton DK. and Bremmer WJ. 1983. Metabolic signals for the onset of puberty In: Neuroendocrine Aspects of Reproduction Edited by Norman RL 183 – 227. Academy Press New York USA.

Stephen, WB and Butler RW. 1997. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.* 56: 133 – 142.

Stumpf, M. Day L. Wolfe M. Clutter A. Stotts J. Wolfe P. Kittok R and Kiader J. 1989. Effect of estradiol on secretion of luteinizing hormone during the follicular phase of the bovine estrous cycle. *Biol. Reprod.* 40 : 91 – 97.

Sykes, AR. and Field AC. 1973. Effects of dietary deficiencies of energy, protein and calcium in the pregnant ewe. IV. Serum total protein, albumin, globulin, transferrin and plasma urea levels. *J. Agric. Sci.* 80 : 29.

Tartaglia, LA. Dembski M. Weng X. Deng N. Culpepper J. Richards GJ. 1995. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell.* 83: 1263 – 1271.

Thatcher, W. W. R. L. De la Sota, E. J. Schmitt, T.C. Diaz, L. Badinga, F. A. Simmen, C. R. Staples and Drost. M. 1996. Control and management of ovarian follicles in cattle to optimize fertility. *Reprod. Fert. Devel.* 8: 203-217.

Thayburn, P. 1996. New insights into the development to obesity: Obese genes and the leptin system. *Proc. Nutr. Soc.* 55: 783 – 791.

Thomas, MG. Gazal OS. Williams GL. Stanko RL and Keisler DH. 1999. Injection of neuropeptide Y into the third cerebroventricle differentially influences pituitary secretion of luteinizing hormone and growth hormone in ovariectomized cows. *Dom. Anim. Endocrinol.* 16: 159-169.

Tilly, JL. 1996. Apoptosis and ovarian function. *Rev. Reprod.* 1 : 162 – 172.

Tsuchiya, T. Nagao Y. Ozawa A. Matsumoto M. Sugahara K. Kubo T and Kato H. 1998. Decrease of the obese gene expression in bovine subcutaneous adipose tissue by fasting. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62: 2068 – 2069.

Vaisse, C. Halaas JL. Horvath CM. Darnell JE. Stoffel M and Friedman JM. 1996. Leptin activation of stat 3 in the hypothalamus of wild – type and ob/ob mice but not db/db mice. *Nature Genetics* 14:1 95 –97.

Vernon, RG. 1980. Lipid metabolism in the adipose tissue of ruminant animals. *Prog. Lipid. Res.* 19 : 23.

Vizcarra, AJ. Wettemann PR and Bishop KD. 1995. Relationship between puberty in heifers and the cessation of luteal activity after nutritional restriction. *J. Anim. Sci.* 61: 507-510.

Weeb, R. Garnsworthy PC. Royal M. Campbell BK. Gong JG. Gutierrez CG and Armstrong DG. 2000. The influence of nutrition on fertility in ruminants. II Congreso Internacional de Zootecnia. Porto Alegre Brasil. 51 – 71.

Webb, R. Gong JG. Law SA and Rusbridge MS. 1992. Control of ovarian function in cattle. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 45 : 141 – 156.

Webb, R. Lamming GE. Haynes NB. and Foxcroft GR. 1980. Plasma progesterone and gonadotropin concentrations and ovarian activity in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 59: 133- 143.

- Wettermann, RP and Bossis I. 1999. Energy intake regulates ovarian function in beef cattle. *Procc. Am. Soc. Anim. Sci.* 1 – 8.
- Whisnant, CS. Kiser TE. Thompson FN and Barb CR. 1986. Opioid inhibition of luteinizing hormone secretion during the postpartum period in suckled beef cowss. *J. Anim. Sci.* 63. 1445 – 1448.
- Whisnant, CC. Kiser TE. Thompson FN and Hall JB. 1985. Effect of nutrition on the LH response to calf removal and GnRH. *Theriogenology* 24 : 5. 565 – 573.
- Wildman, EE. Jones GM. Wagner EP. Bowman RL. Trout HF and Lesch NT. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production variables in high producing Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 65 : 495.
- Williams, GL. 1998. Nutritional factors and reproduction. In *Encyclopedia of Reproduction*. 3: 92 –102. Academic press.
- Williams, GL. 1990. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle. Review. *J. Anim. Sci.* 68. 831 – 852.
- Williams, GL. Gazal OS. Guzman GA and Stanko RL. 1996. Mechanisms regulating suckling- mediated anovulation in the cow. *Anim. Reprod. Sci.* 42. 289-297.
- Winger, QA. De los Rios P. Ham VKM. Armstrong DT. Hill DJ. Watson AJ. 1997. Bovine oviductal and embryonic insulin-like growth factor binding proteins. Possible regulators of embryotrophic insulin-like growth factor circuits. *Biol. Reprod.* 56 : 1415 – 1423.
- Wolden-Hanson, T. Mitton DR. McCants RL. Yellon SM. Wilkinson CW. Matsumoto AM and Rasmussen DD. 2000. Daily melatonin administration to middle-aged male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. *Endocrinology* 141: 487 – 497.
- Wright, IA and Russel AJ. 1984. Estimation in vivo of the chemical composition of the bodies of mature cows. *Anim. Prod.* 38 : 33 – 44.
- Wright, I A. Rhind SM. Smith AJ and Whyte TK. 1992. Effects of body condition and estradiol on luteinizing hormone secretion in post-partum beef cows. *Dom. Anim. Endocrinol.* 9 : 305 – 312.
- Wright, IA. Rhind SM. Whyte TK. Smith AJ. McMillen SR and Prado R. 1990a. Circulating concentrations of LH and FSH and pituitary responsiveness to GnRH in intact and ovariectomized suckled beef cows in two levels of body condition. *Anim. Prod.* 51 : 93 – 101.



Wright, PJ. Geytenbeek PE and Clarke IJ. 1990b. The influence of nutrient status of postpartum ewes on ovarian cyclicity and on the oestrous and ovulatory responses to ram introduction. *Anim. Reprod. Sci.* 23: 293 – 303.

Xu, ZZ. Garverick HA. Smith GW. Smith MF. Hamilton SA and Youngquist RS. 1995. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. *Biol. Reprod.* 53 : 951 – 957.

Yavas, Y and Walton JS. 2000. Postpartum acyclicity in suckled beef cows. A. Review. *Theriogenology* 54: 25 – 55.

Yuan, W. Bao B. Garverick HA. Youngquist RS and Lucy MC. 1998. Follicular dominance in cattle is associated with divergent patterns of ovarian gene expression for insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II, and IGF binding protein-2 in dominant and subordinate follicles. *Dom. Anim. Endocrinol.* 15 : 55 – 63.

Zarco, QL. 1993. Efectos del balance energético sobre la reproducción en la vaca lechera de alta producción. Mecanismos, Importancia y Prevención. Memorias del V Curso Internacional de Reproducción Bovina. México, D.F. 147 – 176.

Zhang, Y. Proenca R. Maffei M. Barone M. Leopold L and Friedman JM. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425 – 432.

Zurek, E. Foxcroft GR and Kennelly JJ. 1995. Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78. 1909 - 1920.

# RELACIÓN ENTRE LOS CAMBIOS DE LA CONDICIÓN CORPORAL Y LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE LEPTINA, IGF-I E INSULINA EN VAQUILLAS DE DOBLE PROPÓSITO.

León VH, Hernández CJ, Keisler DH<sup>1</sup>, y Gutiérrez CG.  
Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,  
UNAM, Ciudad Universitaria 04510, México.

<sup>1</sup>Department of Animal Science, University of Missouri, Columbia, MO 65211, USA.

## RESUMEN.

El objetivo de este estudio fue determinar la relación entre los cambios en condición corporal (CC) con las concentraciones plasmáticas de leptina, IGF-I e insulina en vaquillas. Se utilizaron 19 vaquillas de la raza Cebú x Suizo, con 24 a 30 meses de edad, peso vivo inicial de  $322 \pm 9$  kg y una CC de 3.0 (escala de 1.0 a 9.0). Las vaquillas recibieron 60% de sus requerimientos nutricionales hasta alcanzar una  $CC \leq 2.0$ . Una vez alcanzada dicha CC las vaquillas se mantuvieron así por 25 días más. Posteriormente, las vaquillas fueron alimentadas para ganancia de 1 kg por día hasta que alcanzaron la CC de 6.0. El peso vivo y la CC fueron registrados por el mismo técnico. Se colectaron muestras sanguíneas dos veces por semana en las cuales se determinaron las concentraciones de leptina e insulina a través del RIA. Las concentraciones de IGF-I fueron determinadas con el ensayo inmunoradiométrico una muestra cada dos semanas. Se encontró una correlación altamente significativa ( $P < 0.01$ ) entre las concentraciones plasmáticas de leptina y la CC ( $r = 0.75$ ), y el peso vivo ( $r = 0.71$ ;  $P < 0.01$ ). Similarmente existió una correlación positiva entre IGF-I ( $r = 0.79$ ;  $P < 0.01$ ) e insulina ( $r = 0.20$ ;  $P < 0.01$ ) con condición corporal. Las concentraciones plasmáticas de leptina descendieron durante la restricción nutricional ( $P < 0.01$ ) conforme disminuían los niveles de CC. Durante el periodo de ganancia de peso, las concentraciones de leptina incrementaron significativamente para CC 3.0 y así para cada punto de CC. El análisis de regresión manifestó cambios en el peso corporal que afectaron las concentraciones de leptina dentro de una condición corporal. Los niveles de IGF-I descendieron ( $P < 0.01$ ) al declinar la CC. En contraste, durante la etapa de ganancia de peso los niveles de IGF-I aumentaron significativamente hasta la CC 4.0 y posteriormente a pesar del aumento de la CC, los niveles de IGF-I no incrementaron ( $P > 0.05$ ). Las concentraciones de insulina no cambiaron durante el periodo de restricción nutricional ( $P > 0.05$ ). Después del cambio de dieta, se observó un aumento significativo en las concentraciones de insulina en vaquillas con CC 1.0 ( $P < 0.01$ ). Sin embargo, CC 2.0 y 3.0 no existió diferencias ( $P > 0.05$ ) siendo valores más bajos que para la CC 1.0. Los niveles de insulina aumentaron ( $P < 0.01$ ) a partir de la CC 4.0 y 6.0. Ambos IGF-I e insulina fueron correlacionados positivamente ( $r = 0.60$ ) y con leptina ( $r = 0.61$  y  $r = 0.21$ ;  $P < 0.01$ , respectivamente). Finalmente, se concluye que la leptina es un indicador dinámico de la CC en vaquillas, así como un indicador del estatus nutricional.

**Palabras claves:** IGF-I, Insulina, Leptina, Nutrición, Vaquillas de carne

**ABSTRACT:** The objective of this study was to determine the relationship among plasma concentrations of leptin, insulin, and IGF-I with dynamic changes in body condition scores (BCS) in heifers. Nineteen Zebu-Brown Swiss crossbred heifers, 24 to 30 months old, weighing  $322 \pm 9$  kg, and with an initial BCS of 3 (1 to 9 scale) were used. Heifers were fed 60% of their maintenance requirements until they reached a BCS  $\leq 2$ . Heifers were then maintained at that level for 25 d, after which they were fed to gain 1 kg of body weight daily until a BCS of 6 was reached. Heifers were weighed weekly and BCS was measured every two wk. Plasma samples were collected twice weekly and leptin and insulin were determined by RIA. An immunoradiometric assay was used to measure IGF-I from one sample every two wk. Plasma concentrations of leptin were significantly and positively correlated with BCS over the range of BCS from 1 to 6 ( $r = 0.75$ ;  $P < 0.01$ ) and with body weight ( $r = 0.71$ ;  $P < 0.01$ ). Similarly, there was a positive correlation between IGF-I ( $r = 0.79$ ;  $P < 0.01$ ) and insulin ( $r = 0.20$ ;  $P < 0.01$ ) with BCS. Plasma concentrations of leptin decreased during nutritional restriction ( $P < 0.01$ ) as BCS diminished. During weight gain, leptin concentration increased at BCS 3 and thereafter for each point change in the BCS. Regression analysis showed that changes in body weight affect leptin concentrations within a given BCS. IGF-I decreased as BCS declined ( $P < 0.01$ ). In contrast, during weight gain IGF-I increased significantly with every unit change in body condition up to BCS of 4 and plateaued thereafter. Insulin concentrations did not change during nutritional restriction between BCS 3 to 1 ( $P > 0.05$ ). However, once the diet was improved there was a large increase in insulin concentrations in heifers with BCS 1 ( $P < 0.01$ ). Among heifers in BCS 2 and 3, insulin did not differ ( $P > 0.05$ ) and was lower than in heifers in BCS 1 ( $P < 0.01$ ). Insulin increased ( $P < 0.01$ ) among heifers at BCS 4 to 6. Both IGF-I and insulin were positively correlated with each other ( $r = 0.60$ ) and with leptin ( $r = 0.61$  and  $r = 0.21$ ; respectively). It was concluded that leptin serves as a dynamic indicator of body condition in heifers, as well as an indicator of nutritional status.

**Key Words:** Beef heifers, IGF-I, Insulin, Leptin, Nutrition.

## INTRODUCCIÓN.

Los mensajeros que relacionan el estado nutricional con los procesos fisiológicos no están del todo comprendidos. Se ha propuesto que algunas hormonas y metabolitos proporcionan señales sanguíneas que indican el estado metabólico del individuo y que le permiten al organismo decidir acerca de la conveniencia de regular diversas funciones (Barash *et al.*, 1996; Butler, 2000). La hormona leptina es sintetizada en los adipositos (Zhang *et al.*, 1994; Halaas *et al.*, 1995) sus niveles sanguíneos están correlacionados con la cantidad de grasa corporal en roedores y humanos (Isidori *et al.*, 2000; Brann *et al.*, 2002). Se ha propuesto los niveles circulantes regulan el consumo de alimento y/o la movilización de depósitos de grasa, para mantener el balance energético (Ingvarsen y Boisclair, 2001). Las concentraciones séricas de leptina están positivamente correlacionadas con el estatus nutricional (Considine *et al.*, 1996; Delavaud *et al.*, 2000), así, tanto en humanos como en ratones, se ha observado que el ayuno por periodos cortos disminuye su síntesis y secreción (Ahima *et al.*, 1996) mientras la realimentación provoca un incremento en las concentraciones de esta hormona (Considine *et al.*, 1996; Havel *et al.*, 1996). En el hipotálamo de rumiantes se han identificado receptores para leptina por lo que se sugiere que esta hormona informa al sistema nervioso central sobre el estatus nutricional del animal (Dyer *et al.*, 1997), regulando el consumo de alimento (Morrison *et al.*, 2001) los procesos reproductivos (Barash *et al.*, 1996; Nagatani *et al.*, 2000) y la termorregulación (Mostyn *et al.*, 2001) en la oveja.

También se ha propuesto que el factor de crecimiento parecido a la insulina I (IGF-I) y la insulina, proporcionan señales del estado metabólico del organismo (Bosiss *et al.*, 2000) Estas hormonas están estrechamente relacionadas, ya que los niveles bajos de insulina ocasionan secreción deficiente de IGF-I (McGuirre *et al.*, 1995; Wang y Chard, 1999). Para ello en los animales desnutridos se observan concentraciones bajas tanto de IGF-I como de insulina (Beam y Butler 1998; Roche *et al.*, 2000). Sin embargo, esta relación no siempre se mantienen, ya que en animales bien alimentados las concentraciones de insulina se

incrementaron significativamente lo que no sucedió con las concentraciones de IGF-I (Gutiérrez *et al.*, 1997).

La condición corporal es un indicador práctico del estatus nutricional. En los bovinos la CC tiene una correlación positiva con los depósitos de grasa intra e intermuscular así como en los tejidos abdominales (Otto *et al.*, 1991). Sin embargo, se desconoce la relación existente entre la CC y las concentraciones de leptina, y su asociación con las concentraciones de IGF-I e insulina. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la relación entre las concentraciones plasmáticas de leptina, IGF-I e insulina y la condición corporal en vaquillas.

#### **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Se utilizaron 19 vaquillas de la raza Cebú x Suizo, con 24 a 30 meses de edad, peso vivo inicial de  $322 \pm 9$  kg y una condición corporal de 3.0 (escala de 1.0 = muy flaca y 9.0 = obeso; Richards *et al.*, 1986). Las vaquillas fueron sometidas a un programa de restricción alimenticia equivalente al 60% de sus requerimientos (4.0 kg de materia seca, 2.4 Mcal/kg de energía metabolizable y 7.6 % de PC) hasta alcanzar una condición corporal de  $\leq 2.0$  (60  $\pm$  14 días). Posteriormente las vaquillas fueron alimentadas para ganancia de 1 kg por día hasta que alcanzaron la condición corporal de 6.0 (8.2 kg de materia seca, 2.7 Mcal/kg de energía metabolizable y 10.3% de PC; NRC, 1996) (Cuadro 1). El pesaje de las vaquillas se realizó semanalmente, mientras que la condición corporal se evaluó cada dos semanas mediante la técnica descrita por Richards *et al.* (1986). Además, con base a los cambios de peso vivo se ajustaron los ingredientes de la dieta cada 15 días.

**Cuadro 1 Proporción de ingredientes (base seca) y composición química de los alimentos suministrados a las vaquillas de acuerdo al periodo alimenticio.**

	Restricción	Ganancia
	Nutricional	de Peso
<b>Ingrediente (%)</b>		
Heno de Estrella Africana ( <i>Cynodon plectostachyus</i> ).	85	48
Pasta de soya	6	12
Maíz grano	5	30
Melaza de caña	4	10
<b>Composición Química</b>		
Materia seca %	90	90
Proteína cruda %	7.6	10.3
Proteína no degradable en rumen %	1.8	2.9
Energía metabolizable M Mcal/kg	2.4	2.7
Kg de materia seca	4.0	8.2
Peso vivo materia seca %	1.2	2.2
Fibra detergente ácido %	38.6	24.6
Fibra detergente neutro %	64.2	41.9

Salas minerales: Magnaphoscal (Lab. Bayer). Ca (12.8%), P (18.43%), Mg (4.88%), Na Cl (2.81%) Mn (144 ppm), Cu (5 ppm) y Co (9.0 ppm). Microganado Occidente (Lab Vimifos, S.A. de C.V.). Ca (14.4%), P (2.69%), Mg (2.43%), Na Cl (42.7%), Fe (.45%), Cu (365 ppm), Co (13 ppm), Mn (2500 ppm), Zn (1700 ppm) y S (37.3 ppm).

### **Muestreo Sanguíneo.**

En cada muestra se obtuvieron 10 ml de sangre por punción de la vena yugular utilizando tubos al vacío conteniendo 100 µl de citrato de sodio (3.5 mg/ml) como anticoagulante. El muestreo se realizó a las 9:00 a.m. antes de suministrar el alimento. Una vez obtenidas las muestras fueron colocadas en un termo con hielo (5°C) y centrifugadas a 5000 rpm durante 10 minutos para obtener el plasma el cual se almacenó a - 20°C hasta su análisis en el laboratorio (Gutiérrez *et al.*, 1997).

### **Radioinmunoanálisis (RIA).**

Las concentraciones plasmáticas de insulina fueron determinados dos veces por semana a través del RIA en fase sólida (Coat-A-Count kit, Diagnostic Products Corp., Los Ángeles, CA). Este ensayo tuvo una sensibilidad de 0.01 ng/ml, un coeficiente de variación intraensayo de 7.38% e interensayo 10.21% (DiCostanzo *et al.*, 1999). Las concentraciones de IGF-I fueron determinadas por una muestra cada 15 días, con un ensayo inmunoradiométrico (IRMA) (DSL-2800 kit, Diagnostic Systems Laboratories Inc Houston, Texas). La curva estándar abarcó un rango de 0 a 1 000 ng/ml. El sistema fue validado con suero bovino en volúmenes de 100 a 12.5  $\mu$ l, cada suero fue analizado por triplicado de acuerdo a las especificaciones del kit. El coeficiente de variación para el control bajo fue de 9.25% y para el control alto de 15.57%. Los niveles de leptina fueron analizados por triplicadas y su análisis se llevó a cabo por RIA de acuerdo del método descrito por Delavaud *et al.* (2000) y un coeficiente variación intraensayo e interensayo menor a 10%.

### **Análisis Estadístico.**

El efecto de la condición corporal sobre las concentraciones plasmáticas de leptina, insulina e IGF-I durante el periodo de restricción nutricional y ganancia de peso se compararon a través de un análisis de varianza de mediciones repetidas. Se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson entre el peso vivo de los animales y los niveles de leptina, así como la correlación de Spearman entre condición corporal y los niveles de leptina, IGF-I e insulina.

Los cambios diarios de peso corporal de las vaquillas fueron calculados por las diferencias entre las mediciones consecutivas. Los valores fueron evaluados por una análisis de regresión de tercer orden ( $R_2 = 0.29$ ), el modelo incluye la vaquilla, día los efectos cuadráticos y cúbicos de estas variables y su la interacción con la vaquilla. Los cambios predichos en el peso corporal (CPPC) para cada animal fueron guardados para utilizarse en análisis posteriores.

La relación entre los cambios de peso y las concentraciones de leptina para cada condición corporal fueron evaluados por un análisis de regresión. Para estos análisis los valores de leptina fueron transformados logarítmicamente para corregir la heterogeneidad de la varianza. El modelo incluyó la CC como variable continua CPPC, efecto cuadrático de ambos y la interacción entre CC y el efecto cuadrático de CPPC ( $R_2 = 0.57$ ). Para todos los cálculos anteriores se usó el paquete estadístico Statistics Analysis System, versión 8.0 (Littell *et al.*, 1998).

### RESULTADOS.

El peso vivo al inicio del estudio fue de  $322 \pm 9$  kg. Después de la restricción alimenticia las vaquillas perdieron entre 15 al 18% de su peso, alcanzando la condición corporal  $\leq 2$  después de  $60 \pm 5$  días, en ese momento pesaban en promedio  $276 \pm 5.5$  kg. Se observó una correlación positiva entre el peso vivo y la condición corporal de las vaquillas ( $r = 0.83$ ;  $P < 0.01$ ) En la Figura 1, se muestran las concentraciones de leptina en animales con diferente condición corporal tanto en el periodo de restricción alimenticia como en ganancia de peso. Las concentraciones de leptina fueron significativamente diferentes ( $P < 0.01$ ) entre vaquillas con distintos niveles de CC. Las concentraciones de leptina en el periodo de restricción nutricional descendieron significativamente conforme disminuían los niveles de CC siendo  $1.53 \pm 0.05$ ,  $1.17 \pm 0.04$  y  $0.69 \pm 0.09$  ng/ml para la CC de 3.0, 2.0 y 1.0 respectivamente. Asimismo, las concentraciones de leptina en vaquillas de ganancia de peso incrementaron significativamente por cada punto de condición corporal (CC 1 =  $0.69 \pm 0.41$  ng/ml y CC 6 =  $8.22 \pm 0.13$  ng/ml). Efecto interesante, se detectaron en la CC 3.0 sobre las concentraciones de leptina dependiendo si los animales perdían ( $1.53 \pm 0.05$  ng/ml) o ganaban peso ( $2.15 \pm 0.07$  ng/ml) ( $P < 0.01$ ). Se encontró una correlación altamente significativa ( $P < 0.01$ ) entre las concentraciones plasmáticas de leptina y la CC ( $r = 0.75$ ), así como entre el peso vivo ( $r = 0.71$ ).

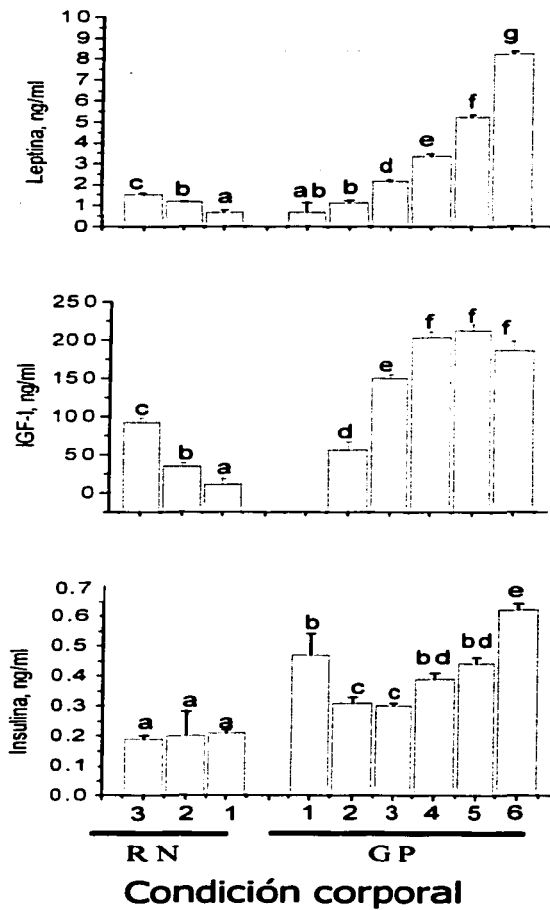
Las concentraciones plasmáticas de IGF-I se aprecian en las Figura 1. Fue evidente un descenso significativo ( $P < 0.01$ ) en las concentraciones de esta hormona al disminuir la condición corporal en la etapa de restricción alimenticia. En contraste, en la fase de



ganancia de peso los niveles de IGF-I aumentaron significativamente ( $P < 0.01$ ) entre las CC de 2.0 a 4.0 ( $56.81 \pm 9.57$ ,  $149.61 \pm 5.62$  y  $203.16 \pm 8.22$  ng/ml). Seguidamente, a pesar del aumento de la CC (5.0 y 6.0) las concentraciones de IGF-I no incrementaron ( $P > 0.05$ ). En las vaquillas de ganancia de peso no se obtuvieron valores para IGF-I en CC 1.0, debido a que las vaquillas permanecieron en este periodo menor a 15 días que fue el intervalo de muestreo para esta hormona. Se observó una alta correlación entre IGF-I y condición corporal ( $r = 0.79$ ).

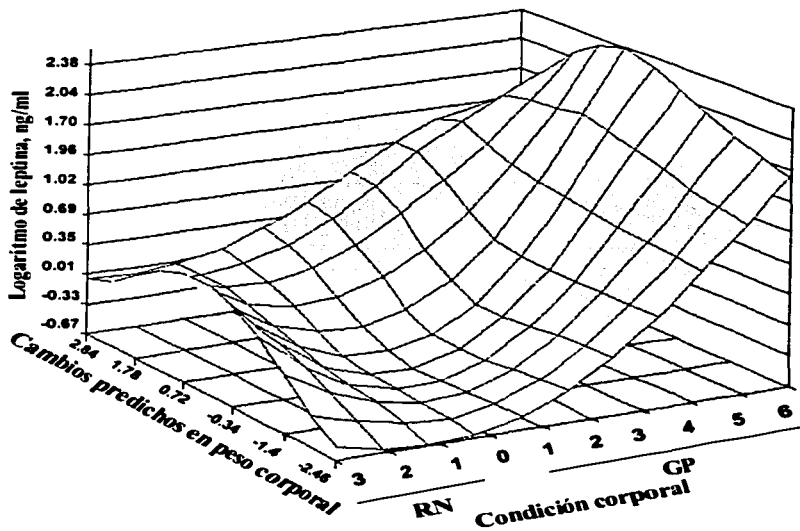
En el periodo de restricción alimenticia las concentraciones de insulina no cambiaron en las condiciones corporales de 3.0 a 1.0 ( $P > 0.05$ ). Al cambiar la dieta se observó un incremento significativo ( $P < 0.01$ ) en las concentraciones de insulina en las vaquillas con CC 1.0. Estas concentraciones descendieron posteriormente en las CC de 2.0 y 3.0 ( $P > 0.05$ ). En condición corporal de 4.0 el incremento de los niveles de insulina continuó hasta la CC de 6.0 (Figura 1). Existió una correlación entre las concentraciones de insulina y la condición corporal ( $r = 0.20$ ;  $P < 0.01$ ).

Finalmente, existió una alta correlación entre IGF-I e insulina ( $r = 0.60$ ;  $P < 0.01$ ), además, se pudieron detectar algunas asociaciones ( $P < 0.01$ ) entre los niveles plasmáticos de IGF-I y leptina ( $r = 0.61$ ) así como entre insulina y leptina ( $r = 0.21$ ;  $P < 0.01$ ).



**Figura 1.** Efecto de la condición corporal en las concentraciones plasmáticas de leptina, IGF-I e insulina en vaquillas Cebú x Suizo. RN = Restricción Nutricional, GP = Ganancia de Peso

La relación entre los cambios predichos en el peso corporal, condición corporal y las concentraciones de leptina las vaquillas durante el periodo de restricción nutricional y ganancia de peso se aprecian en la Figura 2. Se puede observar que CPPC afectan a las concentraciones de leptina dentro de cada CC. Es decir, los niveles de leptina disminuyen al reducir la CC y nuevamente aumentan los niveles de leptina cuando la CC se incrementa. Dentro de cada nivel de CC, el cambio de peso vivo tuvo un efecto significativo ( $P < 0.01$ ) aumentando la concentración de leptina conforme aumenta la ganancia de peso, observándose además un efecto cuadrático de la ganancia de peso en todos los niveles de condición corporal.



**Figura 2.** Relación entre los cambios predichos en el peso corporal, condición corporal y las concentraciones de leptina las vaquillas durante el periodo de restricción nutricional (RN) y ganancia de peso (GP).

## DISCUSIÓN.

En el presente estudio el peso vivo declinó rápidamente después del inicio de la restricción alimenticia ( $P < 0.05$ ), lo que se manifestó también como una pérdida de condición corporal, que bajo de 3.0 a un nivel  $\leq 2.0$ , manteniéndose por debajo de 2 hasta que se realizaron los cambios de régimen de alimentación. Otros autores también han descrito una rápida pérdida inicial de peso que reduce conforme continúa la restricción alimenticia en vacas y vaquillas de carne (Rhodes *et al.*, 1996; Bossis *et al.*, 2000) Estos cambios en el índice de la pérdida de peso vivo probablemente se deben a los mecanismos homeorréticos que activan la conservación de las reservas de los tejidos corporales (Barman y Currie, 1980; Herdt, 2000). La insulina es la hormona metabólica clave que incrementa el uso de la glucosa en el tejido muscular, y en el tejido adiposo estimula la lipogénesis (Herdt, 2000). Sin embargo, cuando la insulina disminuye como resultado de un bajo consumo de alimento (Hocquette *et al.*, 1998) se estimula la secreción de la hormona del crecimiento (GH) lo que modifica el gasto energético a través de la movilización de los depósitos de grasa, conservando a l mismo tiempo la proteína del tejido muscular (Houseknecht *et al.*, 1995; Hippen, 2000). En ratas se ha observado que la restricción energética conduce a una especialización regional de la función de los adipositos, aumentando la sensibilidad de la insulina para facilitar el almacenamiento de ácidos grasos y glicerol en los adipositos situados en la cavidad abdominal (Sugden *et al.*, 1999).

La inanición dispara complejas adaptaciones neurales, metabólicas, hormonales y conductuales con el propósito de mantener el abastecimiento de sustratos energéticos para ser usados por el cerebro, así mismo protegen la masa muscular delgada promoviendo de esta forma la sobrevivencia (Ahima y Flier, 2000). La disminución en las concentraciones de leptina en los animales puede ser una señal de que existe una deficiencia en el balance energético, lo que estimula el comportamiento de realimentación, la secreción de cortisol (Chilliard *et al.*, 2001; Ingvarsen y Boisclair, 2001 ) y la disminución del índice metabólico y gasto energético (Spicer, 2001; Brann *et al.*, 2002). En general el sistema nervioso simpático regula el metabolismo a través de las catecolaminas de los mamíferos

(Brockman y Laarveld, 1986) que actúan en el hígado y músculos (Himms- Hagen, 1967). Al inicio de estrés alimenticio las catecolaminas promueven rápidamente la formación del AMPc y la utilización de intermediarios energéticos como ácido láctico, triglicéridos y aminoácidos (Brockman y Laarveld, 1986). Adicionalmente, las catecolaminas incrementan la actividad de la enzima lipasa sensible a las hormonas (HSL) que promueve la liberación de ácidos grasos del tejido adiposo (Raclot *et al.*, 2001). Esta enzima es estimulada por los niveles bajos de insulina durante periodo de desnutrición de los mamíferos, mientras que niveles altos de insulina inhiben su actividad.

En el presente estudio se observó una alta correlación positiva ( $P < 0.01$ ) entre el peso vivo y los niveles de leptina ( $r = 0.71$ ) y entre las concentraciones plasmáticas de leptina y la condición corporal ( $r = 0.75$ ), por lo que la medición de las concentraciones circulantes de leptina pueden utilizarse como un indicador objetivo del estado nutricional del bovino.

En el presente estudio los valores de leptina aumentaron en forma sostenida (40%) con cada incremento en la calificación de condición corporal. Las concentraciones de leptina fueron nueve veces mayores en las vaquillas con condición corporal de 6.0 en comparación a las vaquillas de condición corporal de 1.0. Estos resultados son similares a los encontrados en ovejas, donde las concentraciones de leptina aumentaron conforme se incrementó la condición corporal (Delavaud *et al.*, 2000). Igualmente, son congruentes con los reportes de que durante el proceso de depósito de grasa en los tejidos aumenta la síntesis de leptina (Thomas *et al.*, 2002), mientras que durante la lipólisis disminuye significativamente (Kadokawa *et al.*, 2000; Sansinanea *et al.*, 2001).

Block *et al.* (2001) trabajando con vacas Holstein, encontraron que las concentraciones plasmáticas de leptina fueron de 3.0 ng/ml para una condición corporal promedio de 3.4, mientras que Delavaud *et al.* (2002), trabajando con ganado de la raza Charoláis encontraron el doble de las concentraciones de leptina (6.6 ng/ml) para vacas de la misma condición corporal. Esto indica que existen variaciones en las concentraciones de leptina en diferentes razas de ganado bovino, las cuales pueden deberse a particularidades en la

deposición de la grasa para cada raza. En efecto, en humanos y en ovinos se ha encontrado que la grasa abdominal expresa menor cantidad de ARNm para leptina que la grasa periférica o subcutánea ( Ahima y Flier, 2000; Chilliard *et al.*, 2001). Por lo tanto, se necesitan más estudios para determinar las concentraciones normales de leptina para cada raza y condición fisiológica antes de poder implementar la medición de leptina como un instrumento para el manejo nutricional del bovino.

Debido a que la cantidad de grasa en los depósitos intra e intermusculares así como en los tejidos abdominales, determina la escala de condición corporal (Otto *et al.*, 1991), se puede afirmar que la variación de las concentraciones de leptina obedece a la variación de las reservas de grasa. Recientes estudios en bovinos observaron un alto nivel de expresión de ARNm para leptina en novillos Japanase Black en contraparte a los novillos Holstein (Higashiyama *et al.*., 2003). Así, estas diferencias en el almacenamiento de grasa entre razas puede ser un reflejo en la cantidad de leptina producida.

La ausencia de cambios en las concentraciones de insulina entre las CC de 3.0 a 1.0, se debió a que los animales durante este periodo estuvieron subalimentados y posiblemente manifestaron baja disponibilidad de glucosa y ácido propiónico y como consecuencia tuvieron bajas concentraciones de insulina (Herdt, 2000). En contraste, las vaquillas de ganancia de peso presentaron un incremento en las concentraciones de insulina de dos veces mayores para la CC de 1.0. Estos resultados coinciden con lo observado por Ford y Park (2000) quienes señalan que las vaquillas que son realimentadas seguido por un periodo de restricción alimenticia tuvieron un incremento de 68% de los niveles de insulina. Este aumento de insulina es transitorio y aparece unos días después de realimentación y parece ser que representa una señal de los procesos anabólicos (Hornick *et al.*, 2000). Posteriormente, las concentraciones de insulina tuvieron un comportamiento diferente ( $P < 0.01$ ) entre las CC de 2.0, 4.0 y 6.0. En humanos se ha descrito extensamente que el aumento del tejido adiposo se asocia con resistencia a la acción de la insulina y con incremento en sus concentraciones circulantes (Poretsky *et al.*, 1999). En el presente estudio, es posible que una vez que los animales empezaron a depositar tejido adiposo

manifestaron resistencia a insulina. Evidencia de esto son los trabajos de Herdt (2000) y Kushibiki *et al.* (2001) quienes encontraron que vacas y novillos obesos presentaron hiperglicemia, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina similares a las condiciones metabólicas de diabetes mellitus tipo II. Adicionalmente, recientemente se descubrió una proteína producida por el tejido adiposo, denominada resistina (Steppan *et al.*, 2001) cuya secreción se ve incrementada con la obesidad, causando resistencia a la insulina. Esta hormona actúa de manera autocrina, activando a la proteína del receptor nuclear PPAR- $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ ), disminuyendo el consumo de glucosa en el tejido adiposo en respuesta a la insulina. La resistina podría tener también efectos en otros tejidos, como el músculo, hígado y el cerebro (Flier, 2001). Se ha descrito que humanos obesos tienden a tener resistencia a la insulina asociadas a niveles altos de resistina (Steppan y Lazar, 2002). En rumiantes no se ha descrito aún la presencia de resistina pero los datos de otras especies hacen suponer que en los rumiantes obesos hay una resistencia a la insulina provocada posiblemente por la presencia de resistina. Por lo tanto, el incremento en las concentraciones de insulina observadas en las vaquillas con alta condición corporal puede deberse a la resistencia a la insulina.

Como se esperaba, las hormonas metabólicas insulina e IGF-I aumentaron al mejorar la condición corporal de las vaquillas. Al respecto, varios autores han encontrado una correlación positiva entre los niveles de IGF-I e insulina y la condición corporal en vaquillas y vacas de carne (Bishop *et al.*, 1994; Vizcarra *et al.*, 1998). Sin embargo, al aumentar la condición corporal la tasa de incremento en las concentraciones fue diferente para insulina e IGF-I y esto puede ser debido a los mecanismos de la producción de estas hormonas. Las concentraciones plasmáticas de IGF-I aumentaron entre las escalas de condición corporal de 2 a 4 ( $P < 0.01$ ), mientras que fueron similares entre las condiciones corporales de 4 a 6 ( $P > 0.05$ ). La fuente primaria de producción de IGF-I es el hígado en respuesta a la estimulación de la GH. Sin embargo, la restricción alimenticia provoca una disminución en los niveles circulantes de IGF-I, a pesar de las altas concentraciones circulantes de GH (Yambayamba *et al.*, 1996). En el presente estudio la restricción alimenticia provocó una disminución significativa de la producción de IGF-I, que se debió

a que los niveles de insulina también estaban disminuidos. En efecto, en periodos de restricción alimenticia el hígado es menos sensible a la GH y en consecuencia los niveles de IGF-I se mantienen bajos (McGuire *et al.*, 1992; Thissen *et al.*, 1994). Sin embargo, durante la realimentación las concentraciones de IGF-I se incrementan debido a que los receptores a GH se vuelven más sensibles y además porque durante la realimentación hay un incremento en los niveles de insulina (Pao *et al.*, 1993) y esta hormona estimula la síntesis y secreción de IGF-1. Por lo tanto, insulina e IGF-I podrían actuar como censores del estado metabólico para hacer ajustes de inmediato por medio de señales químicas para regular eventos fisiológicos.

En el presente estudio se observó una correlación significativa positiva ( $P < 0.01$ ) entre los niveles plasmáticos de IGF-I y leptina, así como entre insulina y leptina. Tanto los niveles de insulina, como de IGF-1 y leptina se asociaron positivamente con un incremento del peso vivo y la CC. Friedman y Halaas (1998) observaron que las concentraciones plasmáticas de leptina tienen una alta correlación con el contenido de grasa corporal y el peso vivo en humanos. Igualmente, se ha observado una alta correlación positiva entre las concentraciones del ARNm para IGF-I y leptina en el tejido adiposo del bovino (Houseknecht *et al.*, 2000). Las complejas interacciones entre insulina, IGF-1, y leptina quizá puedan jugar un papel importante en la adaptación metabólica durante la pérdida de peso vivo y condición corporal de los rumiantes. Es posible también que los cambios en condición corporal modifiquen el metabolismo de la glucosa en el tejido adiposo resultando cambios de la secreción de insulina, IGF-I y probablemente en las concentraciones circulantes de leptina.

En conclusión, los resultados de este estudio permiten postular que las concentraciones circulantes de leptina ofrecen información objetiva del estado nutricional y es un estimador objetivo de la cantidad de reservas de grasa del bovino.



## LITERATURA CITADA

- Ahima, S. R., D. Prabakaran, C. Mantzoros, D. Qu, B. Lowell, E. Maratos-Flier, and J. S. Flier. 1996. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 382 : 250-253.
- Ahima, S. R., and J. S. Flier. 2000. Leptin. *Annu. Rev. Physiol.* 62 : 413-437.
- Barash, I. A., C. C. Cheung, D. S. Weigle, H. Ren, E. B. Kabigting, J. L. Kuijper, D. K. Clifton, and R. A. Steiner. 1996. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology* 137 : 3144-3147.
- Bauman, D.E., and W. B. Currie. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* 63 : 1514 - 1529.
- Beam, S. W., and W. R. Butler. 1998. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J. Dairy Sci.* 81: 121-131.
- Bishop, D. K., R. P. Wettemann, and L. J. Spicer. 1994. Body energy reserves influence the onset of luteal activity after early weaning of beef cows. *J. Anim. Sci.* 72 : 2703-2708.
- Block, S. S., W. R. Butler, R. A. Ehrhardt, A. W. Bell, M. E. Van Amburgh, and Y. R. Boisclair. 2001. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J. Endocrinol.* 171 : 339-348.
- Bossis, I., R. P. Wettemann, S. D. Welty, J. Vizcarra, and L. J. Spicer. 2000. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. *Biol. Reprod.* 62 : 1436-1444.
- Brann, D. W., M. F. Wade, K. M. Dhandapani, V. B. Mahesh, and C. D. Buchanan. 2002. Leptin and reproduction. *Steroids* 67 : 95-104.
- Brockman, R. P., and B. Laarveld. 1986. Hormonal regulation of metabolism in ruminants: a review. *Livest. Prod. Sci.* 14 : 313 - 334.
- Butler, W. R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60 - 61: 449-457.
- Chilliard, J., M. Bonnet, C. Delavaud, Y. Faulconnier, C. Leroux, J. Djiane, and F. Bocquier. 2001. Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21: 271-295.

Considine, R.V., M. K. Sinha, M. L. Heiman, A. Kriauciunas, T. W. Stephens, M. R. Nyce, J. P. Ohannesian, C.C. Marco, L. J. McKee, T. L. Bauer, and J. F. Caro. 1996. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N. Engl. J. Med.* 334 : 292-295.

Delavaud, C., F. Bocquier, Y. Chilliard, D. H. Keisler, A. Gertler, and G. Kann. 2000. Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *J. Endocrinol.* 165 : 519-526.

Delavaud, C., A. Ferlay, Y. Faulconnier, F. Bocquier, G. Kann, and Y. Chilliard. 2002. Plasma leptin concentration in adult cattle: effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *J. Anim. Sci.* 80 : 1317-1328.

DiCostanzo, A., J. E. Williams, and D. H. Keisler. 1999. Effects of short- or long-term infusions of acetate or propionate on luteinizing hormone, insulin, and metabolite concentrations in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 77 : 3050-3056-

Dyer, C. J., J. M. Simmons, R. L. Matteri, and D. H. Keisler. 1997. Leptin receptor mRNA is expressed in ewe anterior pituitary and adipose tissue and is differentially expressed in hypothalamic regions of well-fed and feed-restricted ewes. *Domest. Anim. Endocrinol.* 14 : 119-128.

Flier, S. J. 2001. The missing link with obesity?. *Nature* 409 : 292-293.

Friedman, M. J and L. Hallas. 1998. Leptin and the regulation on body weight in mammals. *Nature* 395 : 763- 770.

Ford, J. A and C.S. Parks. 2000. Nutritionally directed compensatory growth enhances heifer development and lactation potential. *J. Dairy Sci.* 84 : 1669-1678.

Gutierrez, C. G., J. Oldham, T. A. Bramley, J. G. Gong, B. K. Campbell, and R. Webb. 1997. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. *J. Anim. Sci.* 75 : 1876-1884.

Halaas, J. L., K. S. Gajiwala, M. Maffei, S. L. Cohen, B. T. Chait, D. Rabinowitz, R.L. Lallone, S.K. Burley, and J. M. Friedman. 1995. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269: 543-546.

Havel, P. J., S. Kasim-Karakas, W. Mueller, P. R. Johnson, R. L. Gingerich, and J. S. Stern. 1996. Relationship of plasma leptin to plasma insulin and adiposity in normal weight and overweight women: effects of dietary fat content and sustained weight loss. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81: 4406-4413.

Herd, T. H. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice. Metabolic Disorders Ruminants.* 16 : 215 – 230.

Higashiyama, Y., H. Abe, M Hayashi and K. Hodate. 2003. the comparison of plasma level and mRNA expression of leptin from Japanese black steers and Holstein steers. *Livest. Prod. Sci.* 81: 247-255.

Himms-Hagen, J. 1967. Sympathetic regulation of metabolism. *Pharmacol. Rev.* 19 : 367 – 461.

Hippen, A. R. 2000. Glucagon as a potential therapy for ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice. Metabolic Disorders Ruminants.* 16 : 267 – 282.

Hocquette, J. F., I. Ortigues-Marty, D. Pethick, P. Herpin, and X. Fernandez. 1998. Nutritional and hormonal regulation of energy metabolism in skeletal muscles of meat-producing animals. *Livest. Prod. Sci.* 56 : 115-143.

Hornick, J.L., C. Van Eenaeme, O. Gérard, I. Dufrasne and L. Istasse. 2000. Mechanisms of reduced and compensatory growth. *Domest. Anim. Endocrinol.* 19 : 121-132.

Houseknecht, K. L., C. P. Portocarrero, S. Ji, R. Lemenager and M. E. Spurlock. 2000. Growth hormone regulates leptin gene expression in bovine adipose tissue: correlation with adipose IGF-I expression. *J. Endocrinol.* 164 : 51-57.

Houseknecht, K. L., D.A. Dwyer, D.P.D Lanna, and D. E. Bauman, 1995. Effect of somatotropin on adipose tissue metabolism: ontogeny of the enhanced response to adrenergic challenge in the lactating cow. *Domest. Anim. Endocrinol.* 12 : 105 – 113.

Ingvarsen, K. L, and Y. R. Boisclair. 2001. Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21: 215–250.

Isidori A. M., F. Stollo, M. More, M. Caprio, A. Aversa, C. Moretti, G. Frajese, G. Riondino, and A. Fabbri. 2000. Leptin and aging: correlation with endocrine changes in male and female healthy adult populations of different body weights. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85 : 1954–1962.

Kadokawa, H., D. Blache, Y. Yamada, and G. B. Martin. 2000. Relationships between changes in plasma concentrations of leptin before and after parturition and the timing of first post-partum ovulation in high-producing Holstein dairy cows. *Reprod. Fert. Dev.* 12 : 405–411.

Kushibiki, S., K. Hodate, H. Shingu, Y. Ueda, M. Shinoda, Y. Mori, T. Itoh, and Y. Yokomizo. 2001. Insulin resistance induced in dairy steers by tumor necrosis factor alpha is partially reversed by 2, 4 - thiazolidinedione. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21: 25-37.

Litell RC., P.R. Henry and C.B. Ammerman. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76 : 1216 -1231.

McGuire, M. A., D. E. Bauman, D.A. Dwyer, and W. S. Cohick. 1995. Nutritional modulation of the somatotropin/insulin-like growth factor system: reponse to feed deprivation in lactating cows. *J. Nutr.* 125 : 493-502.

McGuirre, M. A., J. L. Vicini, D. E. Bauman and J. J. Veenhuizen. 1992. Insulin-like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation. *J. Anim. Sci.* 70 : 2901-2910.

Mostyn, A., D. H. Keisler, R. Webb, T. Stephenson, and M. E. Symonds. 2001. The role of leptin in the transition from fetus to neonate. *Proc. Nutr. Soc.* 60 : 187-194.

Morrison, C. D., J. A. Daniel, B. J. Holmberg, J. Djiane, N. Raver, A. Gertler, and D. H. Keisler. 2001. Central infusion of leptin into well-fed and undernourished ewe lambs: effects on feed intake and serum concentrations of growth hormone and luteinizing hormone. *J. Endocrinol.* 168 : 317-324.

Nagatani, S., Y. H. Zeng, D. H. Keisler, D. L. Foster, and C. A. Jaffe. 2000. Leptin regulates pulsatile luteinizing hormone and growth hormone secretion in the sheep. *Endocrinology* 141: 3965-3975.

National Research Council. 1996. Nutrient requirements of beef cattle. 7th edition. Washington D.C. National Academy Press.

Otto, K. L., J. D. Ferguson, D.G. Fox, and C.J. Sniffen. 1991. Relationship between body condition score and composition of ninth to eleventh rib tissue in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74 : 852-859.

Pao, C. I., P. K. Farmer, S. Begovic, B. C. Villafuerte, G. Wu, D. G. Robertson, and L. S. Phillips. 1993. Regulation of insulin -like growth factor-1 (IGF-I) and IGF- binding protein 1 gene transcription by hormones and provision of amino acids in rat hepatocytes. *Mol. Endocrinol.* 7 : 1561- 1568.

Poretsky, L., N. A. Cataldo, Z. Rosenwaks, and L. C. Giudice. 1999. The insulin- related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocrine Reviews.* 20 : 535-582.

Raclot, T., C. Holm, and D. Langin. 2001. A role for hormone-sensitive lipase in the selective mobilization of adipose tissue fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* 1532 : 88 - 96.

Richards, M. W., J. C. Spitzer, and M. B. Warner. 1986. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 62 : 300–306.

Rhodes F. M., K. W. Entwistle, and J. E. Kinder. 1996. Changes in ovarian function and gonadotropin secretion preceding the onset of nutritionally induced anestrus in *Bos indicus* heifers. *Biol. Reprod.* 55 : 1437 – 1443.

Roche, J. F., D. Mackey, and M. D. Diskin. 2000. Reproductive management of postpartum cows. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61: 703–712.

Sansinanea, A. S., S. I. Cerone, I. Zonco, C. Garcia, and N. Auza. 2001. Serum leptin levels in cattle with different nutritional conditions. *Nutr. Res.* 21 : 1045-1052.

Spicer, L. J. 2001. Leptin: a possible metabolic signal affecting reproduction. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21: 251-270.

Steppan , M. C., S. T. Bailely, S. Bhat, E. J. Brown, R. R. Banerjee, C. M. Wright, H. R. Patel, R. S. Ahima and M.A. Lazar. 2001. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 409 : 309-312.

Steppan, M.C., and M . A. Lazar. 2002. Resistin and obesity- associated insulin resistance. *Endocrinol. Metab.* 13 : 18-23.

Sugden, M. C., R. M. Grimshaw, and M. J. Holness. 1999. Caloric restriction leads to regional specialization of adipocyte function in the rat. *Biochim. Biophys. Acta* 1437 : 202 – 213.

Thissen, J.P., J. M. Ketelslegers, and L. E. Underwood. 1994. Nutritional regulation of the insulin – like growth factors. *Endocr. Rev.* 15 : 80-101.

Thomas, M. G., R. M. Enns, D. M. Hallford, D. H. Keisler, B. S. Obeidat, C. D. Morrison, J. A. Hernandez, W. D. Bryant, R. Flores, R. Lopez, and L. Narro. 2002. Relationships of metabolic hormones and serum glucose to growth and reproductive development in performance-tested Angus, Brangus, and Brahman bulls. *J. Anim. Sci.* 80 : 757–767.

Vizcarra, J. A., R. P. Wettemann, J. C. Spitzer, and D. G. Morrison. 1998. Body condition at parturition and postpartum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin, and nonesterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows. *J. Anim. Sci.* 76 : 927-936.

Wang, H. S., and T. Chard. 1999. IGFs and IGF-binding proteins in the regulation of human ovarian and endometrial function. *J. Endocrinol.* 161 : 1-13

Yambayamba, E. S., M. A. Price, and G. R. Foxcroft. 1996. Hormonal status, metabolic changes, and resting metabolic rate in beef heifers undergoing compensatory growth. *J. Anim. Sci.* 74 : 57-69.

Zhang, Y., R. Proenca, M. Maffei, M. Barone, L. Leopold, and J. M. Friedman. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372 : 425-432.

# RELACIÓN TEMPORAL DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE LEPTINA, IGF-I E INSULINA DURANTE LA TRANSICIÓN AL ANESTRO Y A LA CICLICIDAD EN VAQUILLAS CEBÚ X SUIZO.

León VH, Hernández CJ, Keisler DH<sup>1</sup>, Gutiérrez CG  
FMVZ UNAM, <sup>1</sup>Universidad de Missouri, Columbia, MO 65211.

## RESUMEN.

El objetivo de este estudio fue conocer la relación temporal de las concentraciones plasmáticas de leptina, IGF-I e insulina durante la transición al anestro y a la ciclicidad en vaquillas Cebú x Suizo. Se utilizaron 19 vaquillas de 24 a 30 meses de edad y una condición corporal (CC) de 3.0 (1.0 = muy flaca y 9.0 = obesa). Las vaquillas estaban ciclando y fueron alimentadas con 60% de sus requerimientos nutricionales hasta provocar el anestro. Posteriormente, fueron divididas aleatoriamente en dos grupos. Anestro (n = 9), se les mantuvo con la misma ración alimenticia para permanecer en condición corporal de  $\leq 2.0$ , mientras que el grupo de ganancia de peso (n = 10) fueron alimentadas para ganancia de peso de 1 kg/día hasta que alcanzaron CC de 6.0. Se utilizó diariamente ultrasonografía transrectal para evaluar la dinámica folicular, clasificándose los folículos según el diámetro en pequeños (< 4 mm), medianos (4 a 8 mm) y grandes (> 8 mm). Se colectaron muestras sanguíneas dos veces por semana en las cuales se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona, leptina, insulina e IGF-I. El estudio fue en las siguientes etapas fisiológicas. Restricción nutricional (RN), fue definido como el intervalo desde el inicio del estudio hasta iniciar el periodo de transición al anestro. Transición al anestro (TA) se consideró desde la última evidencia de ovulación y formación del cuerpo lúteo hasta la luteólisis y desarrollo de un folículo anovulatorio. Anestro (A) se definió como falla en la ovulación y ausencia de estro. La transición a la ciclicidad (TC) fue el periodo de 21 días previos a la primera ovulación. Ciclicidad (C) manifestaciones de ciclos estrales regulares. El peso inicial de las vaquillas fue de  $322 \pm 9$  kg. y el inicio del anestro fue observado a los  $60 \pm 5$  días y con una pérdida de 15 a 18% de su peso vivo inicial. El reinicio de la actividad ovárica en las vaquillas fue a los  $47 \pm 7.09$  días después del proceso de realimentación. Las vaquillas en RN tuvieron niveles de leptina ( $1.34 \pm 0.21$  ng/ml) similares (P > 0.05) a las vaquillas en TA ( $1.12 \pm 0.19$  ng/ml) y A ( $1.21 \pm 0.14$  ng/ml). Mientras que los animales TC y C mostraron valores de leptina mayores ( $2.12 \pm 0.25$  ng/ml y  $3.64 \pm 0.16$  ng/ml, respectivamente) (P < 0.01). Se observaron valores diferentes al contrastar las concentraciones de leptina de cada vaquilla en la etapa de A ( $1.12 \pm 0.05$  ng/ml) con el día en que ocurrió la primera ovulación ( $2.92 \pm 0.50$  ng/ml) (P < 0.05). En el periodo de RN, TA y A las concentraciones de IGF-I e insulina fueron similares (P > 0.05). Las vaquillas en TC y C exhibieron mayores concentraciones (P < 0.01) de IGF-I e insulina en ( $128 \pm 13.6$ ;  $0.26 \pm 0.04$  ng/ml y  $165 \pm 11.6$  y  $0.36 \pm 0.03$  respectivamente). Se detectaron correlaciones (P < 0.01) entre leptina e IGF-I (r = 0.61), entre insulina y leptina (r = 0.21), y entre insulina e IGF-I (r = 0.60). Se detectaron valores superiores del diámetro mayor e índice de crecimiento del folículo dominante (P < 0.01) en el periodo de RN en

comparación a TA y A. Estas dos últimas presentaron un menor índice de crecimiento ( $0.70 \pm 0.10$  y  $0.66 \pm 0.07$  mm/día respectivamente), en comparación a TC ( $1.1 \pm 0.07$  mm/día) y C ( $1.1 \pm 0.04$  mm/día). El promedio de los folículos pequeños y medianos en TA ( $9.9 \pm 0.70$  y  $3.0 \pm 0.61$ ) y A ( $10.3 \pm 0.04$  y  $3.75 \pm 0.43$ ) fue inferior ( $P < 0.01$ ) en comparación a RN ( $11.7 \pm 0.52$  y  $4.7 \pm 0.45$ ) TC ( $11 \pm 0.49$  y  $7.3 \pm 0.43$ ) C ( $11.1 \pm 0.27$  y  $7.5 \pm 0.24$  respectivamente). Se concluye que el inicio de la ciclicidad es precedido por un aumento significativo en el peso vivo, condición corporal y en las secreciones de leptina, insulina e IGF-I, lo cual se asocia con un incremento del reclutamiento y crecimiento folicular.

**Palabras claves:** Anestro, IGF-I, Insulina, Leptina, Vaquillas.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



**PLASMA CONCENTRATIONS OF INSULIN, IGF-I, AND LEPTIN AND THEIR TEMPORAL RELATIONSHIP WITH REPRODUCTIVE STATUS IN HEIFERS.**  
**ABSTRACT.**

The objective of this study was to determine the temporal relationship between reproductive status and plasma concentrations of insulin, IGF-I, and leptin in heifers. Nineteen beef heifers that were exhibiting normal oestrous cycles and that were in low body condition score (BCS =3; scale 1 to 9) were selected for study. Heifers were then fed 60% of their nutritional requirements to provoke further body weight loss until the onset of anoestrus. Thereafter, ten heifers were fed to achieve a body weight gain of 1 kg per day until they reached a BCS of 6, whilst the rest remained in anoestrus. Follicular dynamics were monitored daily throughout the study via rectal ultrasonography. Follicles were classified according to their diameter as small (<4 mm), medium (4-8 mm), or large (>8 mm). Plasma samples were collected twice weekly throughout the study to assess peripheral concentrations of progesterone, insulin, IGF-I, and leptin. Reproductive status was classified as follows: Nutritional restriction (NR), was defined as the interval from the start of the study to the start of the transition to anoestrus (TA). Transition to anoestrus (TA) was defined as the interval encompassing the from last ovulation until luteolysis and the formation of a novulatory follicle at which point the heifers were considered to be anoestrus (A). Subsequently, transition to cyclicity (TC), was defined as the 21-day interval that preceded the first ovulation of a normal oestrous cycle. Cyclicity (C) was the interval encompassing normal oestrous cycles following refeeding. The initial body weight of the heifers was  $322 \pm 9$  kg and the onset of anoestrus was observed  $60 \pm 5$  days after the initiation of nutritional restriction when heifers had lost between 15 to 18% of their original body weight. Upon refeeding, heifers started cycling  $47 \pm 7.09$  days after weight gain began. Leptin levels did not differ among heifers that were nutritionally restricted, anoestrus, or transitioning to anoestrus. Among TC and C heifers leptin levels were significantly elevated. A similar pattern was observed for plasma concentrations of insulin and IGF-I. It was observed that the diameter (mm) and growth rate (mm/day) of the dominant follicle recruitment decreased ( $P < 0.05$ ) during the periods of TA ( $8.5 \pm 0.4$  and  $0.7 \pm 0.1$ ) and A ( $9.5 \pm 0.3$  and  $0.7 \pm 0.7$ ) compared to nutritional restriction ( $10.3 \pm 0.3$  and  $0.9 \pm 0.07$ ), transition to cyclicity ( $11.5 \pm 0.3$  and  $1.1 \pm 0.07$ ) and cyclicity ( $11.7 \pm 0.1$  and  $1.1 \pm 0.04$ ). It is concluded that the onset of cyclicity is preceded by a period of increased secretion of leptin, insulin, and IGF-I whereby the recruitment and growth of ovarian follicles increase.

**Key Words: Anestrous, Beef Heifers, IGF-I, Insulin, Leptin.**

## INTRODUCCIÓN.

La asociación del estado nutricional con la función reproductiva es mediada por una serie de señales sanguíneas que reflejan el estado metabólico del animal y que actúan simultáneamente a varios niveles del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas para iniciar la función reproductiva. En bovinos se ha observado que las concentraciones periféricas de IGF-I están positivamente asociados con el inicio de la pubertad y con el intervalo del parto a la primera ovulación (Zurek *et al.*, 1995; Thatcher *et al.*, 1996). Por otra parte, las concentraciones elevadas de insulina se relacionan con una ovulación más temprana en el posparto de la vaca lechera (Lucy *et al.*, 1991). Asimismo, en ovejas mantenidas en restricción nutricional la infusión central de insulina causó un incremento en las concentraciones séricas de LH (Daniel *et al.*, 2000).

Recientemente se ha encontrado que la leptina también esta involucrada en el control de diversos procesos reproductivos. Tanto en humanos como en ratones se ha postulado que la leptina brinda una señal metabólica al sistema reproductivo que le indica que las reservas corporales de grasa son adecuadas para el inicio y mantenimiento de la actividad reproductiva (Barash *et al.*, 1996; Carro *et al.*, 1997), actuando entonces como el "lipostato" propuesto originalmente por Kennedy en 1953. En estas especies se ha observado que el ayuno por periodos cortos disminuye la síntesis y secreción de leptina y los niveles circulantes de LH (Ahima *et al.*, 1996). Asimismo, los ratones carentes de leptina (ob/ob) son infértiles e hipogonadotróficos y la administración de esta hormona restablece la secreción de las gonadotropinas y la fertilidad (Barash *et al.*, 1996). Además, el tratamiento con leptina adelantó la pubertad en ratones normales (Chehab *et al.*, 1997) y en ratas (Cheung *et al.*, 1997). En bovinos existe escasa evidencia de la relación de los niveles sanguíneos de leptina con el control de la función reproductiva. En algunos estudios se ha mostrado una correlación positiva entre sus niveles séricos y el inicio de la actividad ovárica posparto (Kadokawa *et al.*, 2000).

En vacas y vaquillas la restricción nutricional desencadena la pérdida de peso vivo y condición corporal, así como una disminución de la actividad lútea y cese de los ciclos estrales (Jolly *et al.*, 1995; Webb *et al.*, 2000). Se ha observado que las fluctuaciones en la dieta provocan modificaciones en la liberación de pulsos de la hormona luteinizante (LH) en vacas y vaquillas (Imakawa *et al.*, 1987; Schillo *et al.*, 1992). Asimismo, Kurz *et al.* (1990) detectaron mayor frecuencia de pulsos de LH en vaquillas alimentadas con un nivel alto de energía (19.2 Mcal de EM), que en aquellas alimentadas con un nivel bajo de energía (6.8 Mcal de EM).

Existen muy pocos estudios en bovinos que relacionen las concentraciones de leptina, IGF-I e insulina con el estado nutricional y la función ovárica de los animales. Aunque se ha demostrado el papel de estas hormonas como mensajeros del estado nutricional, se desconocen los cambios durante procesos como la transición al anestro o el inicio de la ciclicidad. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue conocer la relación temporal de las concentraciones plasmáticas de leptina, IGF-I e insulina durante la transición al anestro y a la ciclicidad en vaquillas productoras de carne.

### **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Se utilizaron 19 vaquillas ciclando de la raza Cebú x Suizo, con 24 a 30 meses de edad, peso vivo inicial de  $322 \pm 9$  kg y una condición corporal de 3.0 (1.0 = muy flaca y 9.0 = obesa, escala para el ganado bovino de carne Richards *et al.*, 1986). Después de un periodo de adaptación y de comprobar que las vaquillas estuvieran ciclando regularmente, fueron sometidas a un programa de restricción alimenticia consistente en 4.0 kg de materia seca (MS), 2.4 Mcal/kg de energía metabolizable (EM) y 7.6% de proteína cruda (PC) hasta provocar el anestro. Una vez que las vaquillas dejaron de ciclar se continuó la restricción alimenticia por 25 días más. Posteriormente, las vaquillas fueron divididas aleatoriamente en dos grupos. El grupo anestro ( $n = 9$ ), se les mantuvo con la misma ración alimenticia para permanecer con una condición corporal de  $\leq 2.0$  y en anestro durante todo el estudio, mientras que el grupo de ganancia de peso vivo ( $n = 10$ ) fueron alimentadas para ganancia

de 1 kg por día hasta que alcanzaron la condición corporal de 6.0 (8.2 kg de MS, 2.7 Mcal/kg de EM y 10.3% de PC; NRC, 1996) (Cuadro 1). Además, se les proporcionó agua y una mezcla de sales minerales *ad libitum* y se registró la condición corporal y peso vivo cada semana (Figura 1).

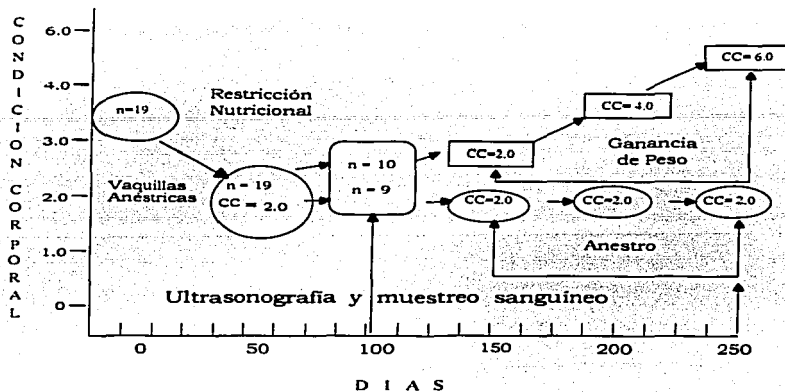


Figura 1. Representación esquemática del diseño del experimento. Se utilizaron 19 vaquillas ciclando sometidas a un programa de restricción nutricional para inducción del anestro. Posteriormente se dividieron en dos grupos: dieta para permanecer en anestro (n = 9) y el grupo de ganancia de peso vivo (n = 10).  
CC= Condición corporal

**Cuadro 1 Proporción de ingredientes (base seca) y composición química de los alimentos suministrados a las vaquillas de acuerdo al periodo alimenticio.**

	Anestro	Ganancia de Peso
<b>Ingrediente (%)</b>		
Heno de Estrella Africana (Cynodon plectostachyus)	85	48
Pasta de soya	6	12
Maíz grano	5	30
Melaza de caña	4	10
<b>Composición Química</b>		
Materia seca %	90	90
Proteína cruda %	7.6	10.3
Proteína no degradable en rumen %	1.8	2.9
Energía Metabolizable Mcal/kg	2.4	2.7
Kg de materia seca	4.0	8.2
Peso vivo material seca %	1.2	2.2
Fibra detergente ácido %	38.6	24.6
Fibra detergente neutro %	64.2	41.9

Sales minerales: Magnaphoscal (Lab. Bayer), Ca (12.8%), P (18.43%), Mg (4.88%), Na Cl (2.81%) Nín (144 ppm), Cu (5 ppm) y Co (9.0 ppm), Microganado Occidente (Lab. Vimifos, S.A. de C.V.), Ca (14.4%), P (2.69%), Mg (2.43%), Na Cl (42.7%), Fe (.45%), Cu (365 ppm), Co (13 ppm), Mn (2500 ppm), Zn (1700 ppm) y S (37.3 ppm).

### **Muestreo Sanguíneo.**

Durante todo el estudio se colectaron muestras de sangre dos veces por semana en las cuales se determinaron las concentraciones de progesterona, insulina y leptina y para los niveles plasmáticos de IGF-I fue una muestra cada dos semanas. En cada muestra se obtuvieron 10 ml de sangre por punción de la vena yugular, utilizando tubos al vacío conteniendo 100  $\mu$ l de citrato de sodio (3.5 mg/ml) como anticoagulante. El muestreo se realizó a las 9:00 a.m. antes de suministrar el alimento. Una vez obtenidas las muestras fueron colocadas en un termo con hielo (5 °C) y centrifugadas a 1,500 g durante 10 minutos obteniendo el plasma, el cual se almacenó a - 20°C hasta su análisis (Gutiérrez *et al.*, 1997 b).

### **Ultrasonografía.**

Los ovarios de las vaquillas fueron evaluados diariamente desde el inicio de programa de restricción nutricional hasta que el grupo de ganancia de peso alcanzó la condición corporal predeterminada de 6.0 La evaluación se llevo a cabo con ultrasonografía transrectal (transductor de arreglo lineal de 7.5 Mhz, Aloka-500, Co; Ltd. Japan). Los folículos y el cuerpo lúteo fueron localizados, registrándose su posición y tamaño. El diámetro de los folículos fue determinado utilizando los marcadores que tiene para este fin el equipo, tomando el promedio del diámetro longitudinal y transversal (Pierson y Ginther, 1988). Los folículos fueron clasificados con base a su diámetro en folículos pequeños (< 4 mm), medianos (4 a 8 mm) y grandes (> 8 mm) (Gutiérrez *et al.*, 1997 b). La ultrasonografía fue grabada por medio de video para su análisis retrospectivo.

### **Definiciones Fisiológicas.**

**Ovulación.** La ovulación fue determinada por la desaparición súbita del folículo dominante de un día a otro en la imagen ultrasonográfica, seguida por la formación en su lugar de un cuerpo hemorrágico y un cuerpo lúteo que coincidió con un incremento en las concentraciones de progesterona mayor a 1 ng/ml (Lucy *et al.*, 1991; Calderón *et al.*, 1998). Los cuerpos lúteos fueron identificados con el equipo de ultrasonografía, y su duración funcional fue determinada por las concentraciones de progesterona plasmática. Se

consideró un cuerpo lúteo funcional cuando las concentraciones de progesterona fueron superiores a 1 ng/ml por lo menos durante 10 días consecutivos (Calderón *et al.*, 1998).

El día de la ovulación fue definido como día 0 del ciclo estral y la duración del ciclo estral se consideró como el intervalo entre dos ovulaciones sucesivas (Murphy *et al.*, 1990). El periodo de transición hacia el anestro (TA) se consideró desde la última evidencia de ovulación y formación subsiguiente del cuerpo lúteo hasta la luteólisis y desarrollo de un folículo dominante anovulatorio. La fase del anestro (A) se definió como falla en la ovulación del folículo dominante y formación del cuerpo lúteo, además de la ausencia del estro (Yavas y Walton, 2000). La etapa de transición hacia la ciclicidad (TC) fue de 21 días previos a la primera ovulación posanestro. Finalmente, el periodo de ciclicidad (C) fue considerado como la manifestación regular de las fases foliculares y lúteas. Se consideraron como ciclos estrales normales a aquellos que tuvieran una duración de 17 a 24 días, mientras que el ciclo corto, fue definido como el ciclo ovárico menor de 17 días (Stagg *et al.*, 1995).

**Folículo dominante (mm).** Se clasificó como un folículo dominante a aquel folículo > 8 mm de diámetro en ausencia de algún otro folículo del mismo diámetro, además de inhibición evidente del crecimiento de folículos menores (reclutamiento) (Gutiérrez *et al.*, 1997b).

**Persistencia folicular (días).** Se definió como el número de días en que el folículo dominante mantuvo dominancia, es decir, desde el surgimiento del folículo hasta el reclutamiento de un conjunto de folículos de la siguiente oleada (Gutiérrez *et al.*, 1997b). Este parámetro fue calculado en la primera oleada.

**Índice de crecimiento folicular (mm/día).** Este parámetro fue calculado tomando en consideración el diámetro mayor alcanzado por el folículo dominante menos el diámetro del día de su detección, dividido entre el número de días transcurridos entre estos dos sucesos (Lucy *et al.*, 1991). Este parámetro fue calculado en la primera oleada.

**Diámetro del folículo ovulatorio (mm).** Se consideró como el diámetro del folículo ovulatorio a aquel que fue observado el día antes de su desaparición súbita y formación subsiguiente de un cuerpo hemorrágico y un cuerpo lúteo.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Número de folículos pequeños. Folículos menores de 4 mm observados en la actividad ovárica. Número de folículos medianos. Folículos de diámetro de 4 a 8 mm observados en la actividad ovárica.

Número de oleadas foliculares por ciclo. Se determinó el número de oleadas a través de las gráficas cronológicas comprendiendo la fase de reclutamiento, selección y dominancia folicular (Lucy *et al.*, 1991). En el periodo de anestro se determinó el número de oleadas en un periodo de 20 días (Opsomer, 1999).

#### **Radioinmunoanálisis (RIA)**

Las concentraciones de progesterona se analizaron por medio del RIA en fase sólida (Púlido *et al.*, 1991) utilizando un kit comercial (Coat-A-Count, Diagnostic Products Corp.). La sensibilidad del análisis fue 0.01 ng/ml y un coeficiente de variación intraensayo e interensayo 8.3 y 9.3% respectivamente. La determinación de los niveles sanguíneos de insulina se realizó por RIA en fase sólida (Coat-A-Count kit, Diagnostic Products Corp., Los Ángeles, CA). Este ensayo tuvo una sensibilidad de 0.01 ng/ml y un coeficiente de variación intraensayo de 7.3% e interensayo 10.2% (DiCostanzo *et al.*, 1999). Las concentraciones de IGF-I fueron determinadas con un ensayo inmunoradiométrico (IRMA) (DSL-2800 kit, Diagnostic Systems Laboratories Inc Houston Texas). La curva estándar abarcó un rango de 0 a 1000 ng/ml. El sistema fue validado con suero bovino en volúmenes de 100 a 12.5 µl, cada suero fue analizado por triplicado de acuerdo a la especificaciones del kit. El coeficiente de variación para el control bajo es de 9.25% y para el control alto de 15.57%. Los niveles de leptina fueron analizados por muestras triplicadas y su análisis se llevó a cabo por RIA de acuerdo al método descrito por Delavaud *et al.* (2000) y con coeficientes de variación intraensayo e interensayo menor a 10%.

#### **Análisis Estadístico.**

El número de folículos pequeños y medianos, el diámetro del folículo dominante, la persistencia del folículo dominante, el índice del crecimiento folicular de la primera oleada y el diámetro mayor del folículo ovulatorio de las vaquillas en diferentes estados reproductivos fue evaluado por análisis de varianza para mediciones repetidas incluyendo



como variables independientes: el grupo, el estado fisiológico, el tiempo (día) y su interacción. Las concentraciones de leptina, IGF-I e insulina se compararon entre los diferentes estados reproductivos (restricción nutricional, transición hacia el anestro, anestro, transición a la ciclicidad y ciclicidad. Para todos los cálculos anteriores se usó el paquete estadístico Statistics Analysis System, versión 8.0 (Littell *et al.*, 1998).

## **RESULTADOS.**

### **Actividad Cíclica**

Al inicio del programa de restricción nutricional todas las vaquillas se encontraban ciclando. El cesé de la ciclicidad ocurrió  $60 \pm 5$  días después iniciada la restricción, cuando las vaquillas perdieron entre 15 a 18% de su peso vivo inicial. A partir de este momento, y durante el resto del estudio las vaquillas mantenidas en restricción alimenticia continuaron con fallas en la ovulación y sin formación del cuerpo lúteo, alcanzando un peso vivo final del estudio de  $315 \pm 5.3$  kg. Sin embargo, esto no ocurrió en todos los casos, en virtud que dos vaquillas continuaron ciclando después de perder entre el 20 y 24% de su peso vivo. Por su parte, las vaquillas del grupo de ganancia de peso vivo reiniciaron la actividad ovárica a los  $47 \pm 7.09$  días posteriores al programa de realimentación, cuando tenían un peso vivo de  $337 \pm 9.7$  kg con una ganancia diaria de peso  $1.3 \pm 0.06$  kg alcanzando un peso vivo final del trabajo de  $476 \pm 11$  kg. La primera ovulación posanestro ocurrió sin manifestación de estro, y fue seguido por un ciclo corto de  $7.1 \pm 0.40$  días y a partir de este momento se regularizó la ciclicidad, teniendo los ciclos promedio una duración de  $20.5 \pm 1.5$  días.

### **Dinámica folicular por estado reproductivo.**

En el Cuadro 2, se pueden observar los resultados de la dinámica folicular de acuerdo al estado reproductivo (RN, TA, A, TC y C). El diámetro mayor del folículo y el índice de crecimiento del folículo dominante fueron mayores ( $P < 0.01$ ) durante el periodo de RN en

comparación con las etapas de TA y A. Estos parámetros fueron calculados de la primera oleada folicular.

El índice de crecimiento del folículo dominante para las etapas de TC ( $1.1 \pm 0.07$  mm/día) y C ( $1.1 \pm 0.04$  mm/día) fue mayor que el observado para las vaquillas en la etapa de TA y en la fase de A ( $0.70 \pm 0.10$  y  $0.66 \pm 0.07$  mm/día respectivamente) ( $P < 0.01$ ). El número de folículos pequeños y medianos en los estados reproductivos de TA y A fue inferior ( $P < 0.01$ ) en comparación con las etapas de RN y TC y C. Finalmente, una vez que se establecieron los ciclos estrales normales (C), el diámetro del folículo ovulatorio, como del folículo dominante y su persistencia aumentaron significativamente ( $P < 0.01$ ), en comparación a las otras etapas reproductivas.

**Cuadro 2. Efectos de los estatus reproductivo en la dinámica folicular en vaquillas Cebú x Suizo**

Parámetro	RN	TA	A	TC	C
Número de vaquillas	19	19	19	10	10
Diámetro del folículo ovulatorio (mm)	$11.6 \pm 0.37^b$	$8.75 \pm 0.50^c$	---	$12.25 \pm 0.35^{ab}$	$12.9 \pm 0.19^a$
Diámetro del primer folículo dominante (mm)*	$10.2 \pm 0.31^b$	$8.5 \pm 0.42^c$	$9.5 \pm 0.30^c$	$11.5 \pm 0.30^{ab}$	$11.7 \pm 0.16^a$
Número de oleadas	$2.0 \pm 0.08^a$	$2.0 \pm 0.11^a$	$2.3 \pm 0.08^a$	$2.2 \pm 0.08^a$	$2.1 \pm 0.04^a$
Persistencia del primer folículo dominante (días)*	$7.2 \pm 0.49^b$	$5.25 \pm 0.66^c$	$7.37 \pm 0.47^b$	$7.0 \pm 0.47^b$	$8.5 \pm 0.26^a$
Índice de crecimiento del folículo dominante (mm/día) *	$0.93 \pm 0.07^c$	$0.70 \pm 0.10^b$	$.66 \pm 0.07^b$	$1.1 \pm 0.07^{ac}$	$1.1 \pm 0.04^a$
Número de folículos pequeños. (Día, 1,2)*	$11.7 \pm 0.52^b$	$9.0 \pm 0.70^a$	$10.3 \pm 0.04^a$	$11 \pm 0.49^b$	$11.1 \pm 0.27^b$
Número de folículos medianos. (Día, 3,4) *	$4.7 \pm 0.45^b$	$3.0 \pm 0.61^b$	$3.75 \pm 0.43^b$	$7.3 \pm 0.43^a$	$7.5 \pm 0.24^a$

Valores, que no comparten por lo menos una literal en el mismo renglón difieren significativamente ( $P < 0.01$ ).

RN= Restricción nutricional, TA= Transición hacia el anestro, A= Anestro, TC= Transición hacia la ciclicidad y C= Ciclicidad.

\* = Estos parámetros son de la primera oleada folicular del ciclo estral.

### Concentraciones plasmáticas de leptina.

Al inicio del estudio las concentraciones de leptina eran de  $1.79 \pm 0.24$  ng/ml. Con la restricción nutricional de leptina bajaron a  $1.21 \pm 0.14$  ng/ml ( $P < 0.05$ ). A partir del día 110 las vaquillas fueron divididas, observándose un incremento en las concentraciones de leptina en las vaquillas realimentadas en comparación a los animales que permanecieron en restricción nutricional durante todo el estudio ( $P < 0.01$ ) (Figura, 2)

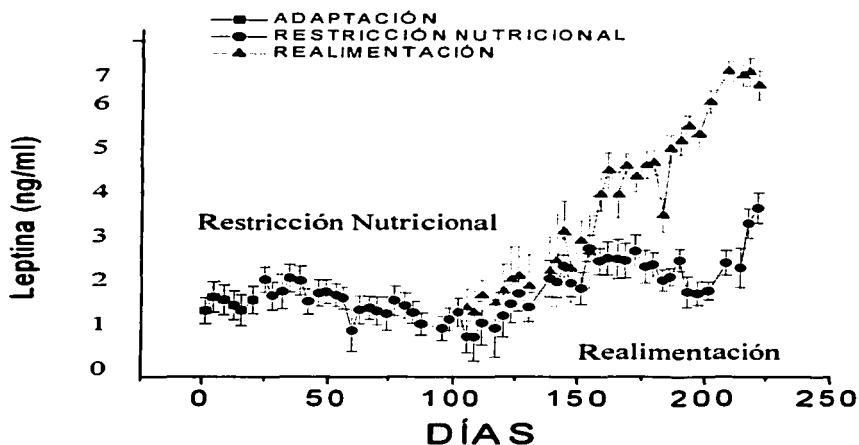
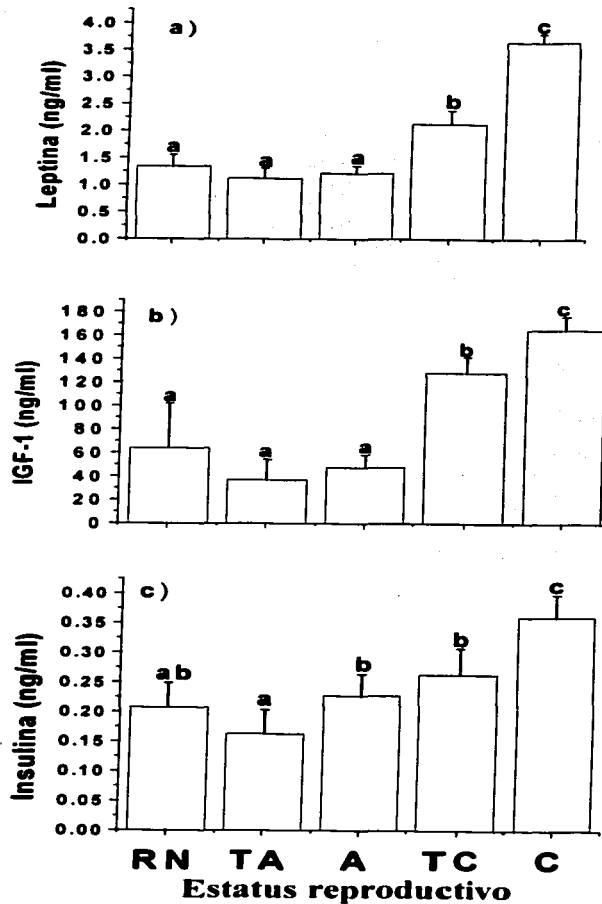


Figura 2. Concentraciones plasmáticas de leptina en vaquillas durante la restricción nutricional y la realimentación.

Las concentraciones promedio de leptina no difirieron ( $P > 0.05$ ) durante las etapas de RN ( $1.34 \pm 0.21$  ng/ml), TA ( $1.12 \pm 0.19$  ng/ml) y A ( $1.21 \pm 0.14$  ng/ml). En las vaquillas realimentadas incrementaron las concentraciones de leptina en forma progresiva, manifestando valores mayores de leptina durante TC ( $2.12 \pm 0.25$  ng/ml) y C ( $3.64 \pm 0.16$  ng/ml) ( $P < 0.01$ ) (Figura 3).

### **IGF-I e Insulina**

Durante el periodo de RN, las vaquillas manifestaron concentraciones plasmáticas de IGF-I e insulina de  $64 \pm 38.2$  y  $0.21 \pm 0.04$  ng/ml respectivamente, resultados que fueron similares ( $P > 0.05$ ) a los encontrados en las etapas de TA ( $37 \pm 17.5$  y  $0.16 \pm 0.04$  ng/ml) y A ( $48 \pm 10.9$  y  $0.23 \pm 0.03$  ng/ml). En contraste, cuando las vaquillas se encontraban en TC y C tuvieron mayores concentraciones de IGF-I e insulina ( $P < 0.05$ ) (Figura 3 b,c).



**Figura 3.** Concentraciones plasmáticas de leptina, IGF-I e insulina en vaquillas en Restricción nutricional (RN), Transición al anestro (TA), Anestro (A), Transición a la ciclicidad (TC), Ciclicidad (C).

El reinicio de la actividad ovárica en las vaquillas del grupo de ciclicidad fue a los  $47 \pm 7.09$  días después del proceso de realimentación. En éste grupo se contrastaron las concentraciones plasmáticas de leptina durante el periodo de anestro contra aquella observada en el día de la primera ovulación encontrándose diferencias ( $P < 0.01$ ) entre ambos procesos. Para cuando se presentó la primera ovulación los valores de leptina fueron muy superiores a los observados durante el anestro. En todos los casos este valor fue mayor a 1.5 ng/ml de leptina.

## DISCUSIÓN.

En el presente estudio la restricción alimenticia provocó la disminución de peso vivo, bajas concentraciones de leptina y el cese de los ciclos estrales. Estos cambios fisiológicos son similares a los observados por varios autores quienes han demostrado que en vacas y en vaquillas de razas carne en condiciones de subalimentación a largo plazo se desencadena el anestro acompañado de una pérdida de peso vivo inicial del 18 a 24 % (Rhodes *et al.*, 1996; Bossis *et al.*, 1999).

También la restricción nutricional de las vaquillas afectó significativamente ( $P < 0.01$ ) la dinámica folicular desencadenando las etapas de transición hacia el anestro y el anestro propiamente dicho que manifiestan un menor índice de crecimiento y persistencia folicular y el diámetro del folículo dominante fue menor en comparación con ellas cuando se encontraban en la transición a la ciclicidad y ciclando. Estas evidencias coinciden con lo observado por Bossis *et al.* (1999) quienes detectaron en vaquillas de carne sometidas a un déficit nutricional una disminución en el diámetro máximo del folículo ovulatorio y en el índice de crecimiento del folículo dominante analizado durante dos ciclos estrales antes del periodo anovulatorio. En otro estudio más reciente, estos mismos autores encontraron una disminución lineal en la persistencia, diámetro máximo del folículo dominante y ovulatorio en vaquillas alimentadas con un bajo nivel nutricional (10.3 Mcal/kg de EM) en comparación a las vaquillas con alto nivel nutricional (25.9 Mcal/kg de EM) (Bossis *et al.*, 2000). La reducción nutricional en vaquillas cíclicas (Murphy *et al.*, 1991) y prepúberes (Bergfeld *et al.*, 1994) también provocó una disminución en el diámetro del folículo dominante. Rhodes *et al.* (1995) señalan que por cada 10 kg de descenso en el peso vivo de las vaquillas de la raza Brahman subalimentadas e inducidas al anestro el diámetro del folículo ovulatorio disminuía  $0.31 \pm 0.006$  mm. La disminución en el crecimiento de los folículos dominantes puede ser debido a una disminución en la frecuencia de los pulsos de LH. Se ha observado que los folículos dominantes desarrollan receptores de LH en las células de granulosa y que cambian la dependencia gonadotrófica de FSH a LH (Campbell *et al.*, 1995; Rao, 2001) En este estudio, no se evaluó LH; sin embargo, esta bien

establecido que la disminución en el aporte de nutrientes resulta una disminución en la frecuencias de pulsos de LH (Kurz et al., 1990).

En el presente estudio también se demostró que el aumento del peso vivo, provocado por la realimentación estuvo asociado con mayor secreción de leptina, insulina e IGF-I resultando finalmente el reinicio de la actividad ovárica. Por lo que las diferencias en el desarrollo folicular pueden obedecer al efecto de estas hormonas ya que además del mensaje que proporcionan a nivel cerebral, también tienen efectos a nivel ovárico. Existen algunos estudios en bovinos que relacionan a la IGF-I con la diferenciación de las células de la granulosa y la esteroidogénesis, selección y maduración del folículo dominante (Zurek et al., 1995; Yelich et al., 1996). Por otra parte, se requieren las concentraciones fisiológicas de insulina son requeridas para la esteroidogénesis normal (Bossis et al., 1999). Se conoce que las células de la granulosa tienen receptores a esta hormona, y en condiciones *in vitro* la insulina estimula su proliferación y la esteroidogénesis en los bovinos (Gutiérrez et al., 1997a). Además, se ha asociado un incremento en los niveles de insulina con un número mayor de folículos pequeños en vaquillas después de un periodo de sobrealimentación (flushing) (Gutiérrez et al., 1997b).

En bovinos no se conoce algún efecto *in vivo* de la leptina a nivel ovárico; sin embargo, *in vitro* se han encontrado receptores de leptina en las células de la granulosa y la teca, y se han relacionado con la funcionalidad del ovario (Duggal et al., 2000; Spicer, 2001). También se han observado niveles elevados de leptina antes del inicio de la pubertad en niños y en ratas (Chehab et al., 1997; Palmert et al., 1998). Estos datos fortalecen la hipótesis de que la leptina sirve como señal permisivo para el principio de la edad reproductiva.

En el presente estudio las concentraciones de leptina fueron aproximadamente tres veces menores en las vaquillas en condiciones de restricción nutricional en comparación a las vaquillas de ganancia de peso. Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Morrison et al. (2001) quienes demostraron en ovejas que las concentraciones séricas de leptina



cambian con base al estatus nutricional. También, Delavaud *et al.* (2000) señalan que la variación en las concentraciones de leptina en ovejas se debe principalmente al estatus nutricional. En otro estudio reciente, se observó que la restricción nutricional aguda (48 h) en vaquillas prepúberes disminuyó significativamente tanto la expresión del gene como los niveles circulantes de leptina (Amstalden *et al.*, 2000). Estas evidencias son similares a los resultados obtenidos en ratones y en ratas (Carro *et al.*, 1997), donde se considera que la hormona leptina juega un papel importante que enlaza el balance energético con algunas actividades fisiológicas de los animales. Los resultados de la presente investigación confirman que las concentraciones circulantes de leptina, son una señal metabólica del estatus nutricional en los bovinos.

El conocimiento del papel de la leptina en el control de la reproducción es limitado. Sin embargo, existe evidencia que señala a la leptina como una probable señal que enlaza la actividad reproductiva una vez que se alcanzan las concentraciones mínimas. En roedores ha sido posible adelantar el inicio de la pubertad con un peso vivo menor cuando se realiza infusión central de leptina a ratones prepúberes (Chehab *et al.*, 1997). Se ha observado que la leptina tiene un papel permisivo en la secreción de gonadotropinas, así en la oveja la infusión cerebral de esta hormona aumenta la secreción de LH (Henry *et al.*, 2001). Asimismo, la restricción nutricional aguda en bovinos provoca una disminución marcada en la expresión del ARNm de leptina en el tejido adiposo y una disminución de las concentraciones circulantes de esta hormona (Amstalden *et al.*, 2000). En este estudio fue evidente un asociación del nivel nutricional con las concentraciones de leptina, así como una relación estrecha entre esta hormona y el inicio de la ciclicidad, lo cual coincide con los resultados de los estudios antes mencionados. Además, el valor de leptina para cada vaquilla en el día en que sucedió la primera ovulación fue significativamente mayor al valor observado en ese animal durante el anestro. El mecanismo por el cual la leptina regula la secreción de gonadotropinas no es claro pero existe evidencia en ovejas con buen nivel nutricional, que señalan que estas tienen un número mayor de receptores a leptina nivel hipotalámico (Dyer *et al.*, 1997).

Las concentraciones plasmáticas de leptina, IGF-I e insulina mostraron cambios significativos que coincidieron con la transición a la ciclicidad y ciclicidad. Así, fue evidente un incremento significativo de los niveles sanguíneos de estas hormonas previo a la ocurrencia de la primera ovulación, después de haber permanecido en anestro. Esta información es congruente con lo propuesto por algunos autores acerca del papel que desempeñan estas hormonas como mensajeros del estado metabólico a nivel cerebral, lo cual le permitiría al animal decidir acerca de la conveniencia de reproducirse (Beam y Butler 1998; Butler, 2000). El IGF-I y la insulina son las hormonas que han sido más estudiadas como enlace del estado metabólico y el control de la reproducción. En estudios realizados por Bishop *et al.* (1994) y Richards *et al.* (1995) se observó que la restricción nutricional en vacas estuvo asociado con una reducción significativa de las concentraciones séricas de IGF-I y con el cese de los ciclos estrales. Por su parte, las concentraciones plasmáticas de IGFBP<sub>2</sub>, se incrementan en el ganado bovino cuando manifiestan anestro nutricional (Vandehaar *et al.*, 1995), y esto provoca una menor biodisponibilidad de IGF-1. La importancia de estas proteínas de enlace (IGFBP) radica en que inhiben la respuesta a la esteroidogénesis por las células de la teca y granulosa (Spicer y Chamberlain 1999), y como consecuencia la actividad ovárica. Asimismo, en la vaca se ha observado una correlación negativa entre las concentraciones de insulina y el intervalo a la primera ovulación (Carstairs *et al.*, 1980). Por otra parte, en la oveja en restricción nutricional, la infusión central de insulina provoca un incremento en la frecuencia de secreción de LH (Daniel *et al.*, 2000).

En el presente estudio se observó un incremento en las concentraciones de insulina en las vaquillas que estaban ciclando. Estos hallazgos son similares a los reportados por Gutiérrez *et al.* (1997b) quienes observaron que al mejorar sustancialmente el régimen alimenticio en vaquillas se incrementaron los niveles de insulina que fueron asociados positivamente con el incremento del número de folículos pequeños. También Mc Cann y Hansel (1986) encontraron que en vaquillas que se mantuvieron en ayuno entre el día 8 y 16 del ciclo estral se produjo una disminución en las concentraciones de glucosa, insulina y LH.

mientras que Carstairs *et al.* (1980) encontraron una correlación negativa entre las concentraciones de insulina y el intervalo a la primera ovulación.

La hormona del crecimiento, IGF-1 e insulina están fisiológicamente interrelacionadas y responden a los cambios nutricionales (Bishop *et al.*, 1994; Amstalden *et al.*, 2000) y han sido propuestos como mediadores entre la nutrición y la reproducción. Las concentraciones de IGF-1 e insulina se incrementan significativamente al mejorar el régimen alimenticio, mientras que las concentraciones de GH disminuyen notablemente (Roche *et al.*, 2000).

En el presente estudio se observó una estrecha correlación entre las concentraciones periféricas de IGF-I, insulina y leptina. Se conoce que las concentraciones sanguíneas de estas hormonas son dependientes del nivel nutricional y además existe entre ellas una relación funcional ya que la insulina estimula la síntesis de receptores a GH en hígado para que esta hormona provoque la síntesis de IGF-I, y también puede estar promoviendo la síntesis de leptina en el tejido adiposo, ya que se ha demostrado que la insulina estimula la síntesis del RNAm para leptina (Havel, 2000). Por otra parte, en bovinos se ha observado una correlación positiva entre la expresión del RNAm de IGF-I y leptina en el tejido adiposo (Houseknecht *et al.*, 2000).

De acuerdo a los resultados de nuestro trabajo se puede proponer un mecanismo que regula la suspensión y reinicio de la ciclicidad dependiente de la nutrición. Por un lado fue evidente que durante la restricción nutricional y la transición al anestro las concentraciones de leptina, IGF-I e insulina mostraron una disminución discreta pero suficiente para proporcionar el mensaje de suspensión de los ciclos estrales, lo cual se reflejó en las características del desarrollo de los folículos. Estos mostraron menor índice de crecimiento, y el folículo dominante fue de menor diámetro y la ovulación se suspendió. Posteriormente, una vez que se modificó el nivel nutricional se observó un incremento notable de las concentraciones de leptina, IGF-I e insulina, las cuales se asociaron con un incremento en el número de folículos pequeños y medianos y un aumento en el índice de crecimiento y un diámetro mayor del folículo dominante, el cual finalmente terminó su maduración y ovuló.

Cabe señalar que estas hormonas además de proporcionar el mensaje a nivel cerebral para la suspensión y reinicio de la ciclicidad, también pueden estar participando en la regulación de la función ovárica a nivel local.

Resulta particularmente interesante que las concentraciones de leptina, IGF-I e insulina durante el periodo de RN, TA y A mostraron concentraciones menores; en contraste, con los niveles alcanzados después de la realimentación, los cuales fueron linealmente ascendentes con diferencias significativas con relación al anestro. Estas observaciones permiten especular que para que el animal suspenda su ciclicidad es más importante un cambio en la dirección de los niveles de estas hormonas que sus mismas concentraciones, mientras que esta situación sería diferente durante el inicio de la ciclicidad en el cual tal vez sería más importante un aumento de las concentraciones que solo el cambio de dirección.

Se concluye que el inicio de la ciclicidad es precedido por un aumento significativo en las secreciones de leptina, insulina e IGF-I, lo cual se asocia con un incremento del reclutamiento y crecimiento folicular.

## LITERATURA CITADA.

- Ahima, SR., D. Prabakaran, C. Mantzoros, D. Qu, B. Lowell, M.E. Flier, and J.S. Flier. 1996. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 382.: 18, 250 – 253.
- Amstalden, M., M. R. Garcia, S. W. Williams, R. L. Stanko Nizielkise. C. D. Morrison, D. H. Keisler, and G.L. Williams. 2000. Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to short-term fasting in prepubertal heifers: Relationships to circulating insulin and insulin- like growth factor I. *Biol. Reprod.* 63 :127 – 133.
- Barash, IA., C. C. Cheung, D. S. Weigle, E. B. Hongping, J. L. Kurjper, D. K. Clifton, and R.A. Steiner. 1996. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology* 137: 7. 3144-3147.
- Beam, SW. and W. R. Butler. 1998. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J. Dairy Sci.* 81:121-131.
- Bergfeld, EG., F. N. Kojima, A. S. Cupp, M. E. Wehrman, K. E. Peters, Garcia Winder M, and J.E. Kinder. 1994. Ovarian follicular development in prepubertad heifers is influenced by level of dietary energy intake. *Biol. Reprod.* 51: 1051 - 1057.
- Bishop, DK., R. P. Wetmann, and L. J. Spicer. 1994. Body energy reserves influences the onset of luteal activity after early weaning of beef cows. *J. Anim. Sci.* 72: 2703 – 2708.
- Bossis, I., R. P. Wettemann, S. D. Welty, J. A. Vizcarra, L. J. Spicer, and M. G. Diskin. 1999. Nutritionally induced anovulation in beef heifers. Ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. *J. Anim. Sci.* 77: 1536-1546.
- Bossis, I., R. P. Wettemann, S. D. Welty, J. Vizcarra, and L. J. Spicer. 2000. Nutritionally induced anovulation in beef heifers. Ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. *Biol. Reprod.* 62: 1436-1444.
- Butler, W. R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60 – 61: 449 – 457.
- Calderón, RR., A. Villa-Godoy y L. J. Lagunas. 1998. Frecuencia y origen de las elevaciones transitorias de progesterona en vaquillas Cebú x Suizo Pardo prepúberes en condiciones tropicales. *Téc. Pec. Méx.* 36: 11-13.
- Campbell, BK., R. J. Scaramuzi, and R. Webb. 1995. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 49: 335-350.

Carro, E., L. Pinilla, L. M. Seoane, R. V. Considine, E. Aguilar, F. F. Casanueva, and C. Dieguez. 1997. Influence of endogenous leptin tone on the estrous cycle and luteinizing hormone pulsatility in female rats. *Neuroendocrinology* 66: 375 – 377.

Carstairs, JA., D. A. Morrow, and R. S. Emery. 1980. Postpartum reproductive function of dairy cows as influenced by energy and phosphorous status. *J. Anim. Sci.* 51 : 5. 1122 – 1130.

Chehab, FF., K. Mounzih, R. Lu, and M. E. Lim. 1997. Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. *Science* 275 : 88 – 90.

Cheung, CC., J. E. Thornton, J. L. Kuijper, D. S. Weigle, D. K. Clifton, and R.A. Steiner. 1997. Leptin is a metabolic gate for the onset of puberty in the female rat. *Endocrinology* 138 : 855 – 858.

Daniel, J. A., M. G. Thomas, C. S. Hale, J. M. Simmons, and D. H. Keisler. 2000. Effect of cerebroventricular infusion of insulin and (or) glucose on hypothalamic expression of leptin receptor and pituitary secretion of LH in diet-restricted ewes. *Domest. Anim. Endocrinol.* 18 : 177 – 185.

Delavaud, C., F. Bocquier, Y. Chilliard, D. H. Keisler, A. Gertler, and G. Kann. 2000. Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *J. Endocrinol.* 165 : 519 – 526.

DiCostanzo, A., J. E. Williams, and D. H. Keisler. 1999. Effects of short- or long – term infusions of acetate or propionate on luteinizing hormone, insulin, and metabolite concentrations in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 77 : 3050-3056.

Duggal, SP., H. K. VanDer Hoek, R. C. Milner, K. N. Ryan, T. D. Armstrong, A. D. Magoffin, and J. R. Norman. 2000. The in Vivo and in vitro effects of exogenous leptin on ovulation in the rat. *Endocrinology.* 141 : 6 1971-1976.

Dyer, C. J., J. M. Simmons, R. L. Matteri, and D. H. Keisler. 1997. Leptin receptor mRNA is expressed in ewe anterior pituitary and adipose tissue and is differentially expressed in hypothalamic regions of well-fed and feed-restricted ewes. *Domest. Anim. Endocrinol.* 14 : 119 - 128.

Gutierrez, CG., K. B. Campbell, and R. Webb. 1997a. Development of a long-term bovine granulosa cell culture system: Induction and maintenance of estradiol production, response to follicle-stimulating hormone, and morphological characteristics. *Biol. Reprod.* 56 : 608 – 616.

Gutierrez, CG., J. Oldham, A. T. Bramley, G. J. Gong, K. B. Campbell, and R. Webb. 1997b. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. *J. Anim. Sci.* 75 : 7. 1876 – 1884.

Havel, J. P. 2000. Role of adipose tissue in body-weight regulation: mechanisms regulating leptin production and energy balance. *Procc. Nutr. Soc.* 59 : 359 – 371.

Henry, B. A., J. W. Goding, A. J. Tilbrook, F. R. Dunshea, and I. J. Clarke. 2001. Intracerebroventricular infusion of leptin elevates the secretion of luteinising hormone without affecting food intake in long-term food restricted sheep, but increases growth hormone irrespective of body weight. *J. Endocrinol.* 168 : 67-77.

Houseknecht, K.L., C. P. Portocarrero, S. Ji., R. Lemenager, and M. E. Spurlock. 2000. Growth hormone regulates leptin gene expression in bovine adipose tissue: correlation with adipose IGF-I expression. *J. Endocrinol.* 164 : 51-57.

Imakawa, K. L. M. Day, D. D. Zalesky, A. Clufter, R. Kitfokoj, and E. J. Kinder 1987. Effects of 17  $\beta$  estradiol and diets varying in energy on secretion of luteinizing hormone in beef. *J. Anim. Sci.* 64 : 805 – 817.

Jolly, DP., S. McDougall, A. L. Fitzpatrick, L. K. Macmillan, and W. K. Entwistle. 1995. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *J. Reprod. Fert. Supp.* 49 : 477 – 492.

Kadokawa, H., D. Blache, Y. Yamada, and G. B. Martin. 2000. Relationships between changes in plasma concentrations of leptin before and after parturition and the timing of first post-partum ovulation in high-producing Holstein dairy cows. *Reprod. Fert. Dev.* 12 : 405 - 411.

Kennedy GC. 1953. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Procc. Roy. Soc. (B)* 140 : 578 – 592.

Kurz, SG., R. M. Dyer, Y. Hu, M. D. Wright, and M. L. Day. 1990. Regulation of luteinizing hormone secretion in prepubertal heifers fed and energy deficient diet. *Biol. Reprod.* 43: 450 – 456.

Litell, RC., P. R. Henry, and C. B. Ammerman. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76 : 1216 – 1231.

Lucy, MC., R. C. Staples, M. F. Michel, and W.W. Thatcher. 1991. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74 : 473-482.

- McCann, JP. and W. Hansel. 1986. Relationships between insulin and metabolism and pituitary-ovarian functions in fasted heifers. *Biol. Reprod.* 34 : 630 – 641.
- Morrison, CD., J. A. Daniel, B. J. Holmberg, J. Djiane, N. Raver, A. Gertler, and D. H. Keisler. 2001. Central infusion of leptin into well-fed and undernourished ewe lambs: effects on feed intake and serum concentrations of growth hormone and luteinizing hormone. *J. Endocrinol.* 168 : 317 – 324.
- Murphy, MG., M. P. Boland, and J. F. Roche. 1990. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in postpartum beef suckled cows. *J. Reprod. Fert.* 90 : 523 - 533.
- Murphy, MG., W. J. Enright, M. A. Crowe, K. McConnell, L.J. Spicer, M. P. Boland, and J. F. Roche. 1991. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers. *J. Reprod. Fert.* 92 : 333 - 338.
- National Research Council. 1996. Nutrient requirements of beef cattle. 7th edition. Washington D.C. National Academy Press.
- Opsomer, G. 1999. Anoestrus postpartum in high yielding dairy cows: A field study. Faculteit Diergeneeskundige. PhD Universiteit Gent.
- Palmert, MR., S. Radovick, and P.A. Boepple. 1998. Leptin levels in children with central precocious puberty. *J. Clin Endocrinol. Metab.* 83: 2260 – 2265.
- Pierson, RA., and O. J. Ginther 1988. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology* 28 : 94 - 100.
- Pulido, A., L. Zarco, C. Galina, C. Murcia, G. Flores, and E. Posadas. 1991. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology* 35 : 965 - 975.
- Rao, CV. 2001. Multiple novel roles of luteinizing hormone. *Fertility and Sterility* 76 : 6. 1097-1100.
- Rhodes, FM., W. K. Entwistle, and E. J. Kinder. 1996. Changes in ovarian function and gonadotropin secretion preceding the ovarian of nutritionally induced anestrus in *Bos indicus* heifers. *Biol. Reprod.* 55 : 1437 – 1443.
- Rhodes, FM., L.A. Fitzpatrick, W.K. Entwistle, and G. Death. 1995. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. *J. Reprod. Fert.* 104 : 41 - 49.



Richards, MW., J. C. Spitzer, and M. B. Warner. 1986. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 62 : 300 – 306.

Richards, MW., L. J. Spicer, and R. P. Wettemann. 1995. Influence of diet ambient temperature on bovine serum insulin-like growth factor-I and thyroxine: relationships with non-esterified fatty acids, glucose, insulin, luteinizing hormone and progesterone. *Anim. Reprod. Sci.* 37 : 267 – 279.

Roche, JF., D. Mackey, and D. M. Diskin. 2000. Reproductive management of postpartum cows. *Anim. Reprod. Sci.* 60 – 61: 703 – 712.

Schillo, KK., J. B. Hall, and S. M. Hileman. 1992. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in beef heifer. *J. Anim. Sci.* 70: 3994 - 4005.

Spicer, LJ. 2001. Leptin. A possible metabolic signal affecting reproduction. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21: 251 – 270.

Spicer, L J. and C. S. Chamberlain. 1999. Insulin-like growth factor binding protein-3: Its biological effect on bovine granulose cells. *Domest. Anim. Endocrinol.* 16: 19 – 29.

Stagg, K., G. M. Diskin, M. J. Sreenan, and J. F. Roche. 1995. Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. *Anim. Reprod. Sci.* 38 : 49 – 61.

Thatcher, WW., R. L. De la Sota, E. J. Schmitt, T.C. Diaz, L. Badinga, F. A. Simmen, C. R. Staples, and M. Drost. 1996. Control and management of ovarian follicles in cattle to optimize fertility. *Reprod. Fert. Dev.* 8 : 203 - 217.

Vandehaar, JM., K. B. Sharma, and L. R. Fogwell. 1995. Effect of dietary energy restriction on the expression of insulin – like growth factor – 1 in liver and corpus luteum of heifers. *J. Dairy Sci.* 78 : 832 – 841.

Webb, R., P. C. Garnsworthy, M. Royal, B. K. Campbell, J. G. Gong, C. G. Gutierrez, and D.G. Armstrong. 2000. The influence of nutrition on fertility in ruminants. II Congreso Internacional de Zootecnia. Porto Alegre Brasil 51-71.

Williams, GL. 1989. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. *J. Anim. Sci.* 67 : 785- 793.

Yavas, Y. and J.S. Walton. 2000. Postpartum aciclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology.* 54 : 25 – 55.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Yelich, J.V., R. P. Wettemann, T. T. Marston, and L. J. Spicer. 1996. Luteinizing hormone, growth hormone, insulin-like growth factor. 1, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. *Domest. Anim. Endocrinol.* 13 : 325 - 338.

Zurek, E., G. R. Foxcroft, and J. J. Kennelly. 1995. Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78 : 1909 - 1920.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN