

01674

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



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

**Efecto de la dieta y el amamantamiento
sobre las concentraciones séricas de leptina
y hormona del crecimiento en vacas de
doble propósito, y su relación con el
consumo voluntario, la producción y el
anestro posparto**

TESIS

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

PRESENTA

ADRIANA REBECA VERDUZCO GÓMEZ

TUTOR:

ALEJANDRO VILLA GODOY

COMITÉ TUTORAL:

**EUGENIO VILLAGÓMEZ AMEZCUA
NAZARIO PESCADOR SALAS**

MÉXICO D.F.

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

DEDICATORIAS

A mi madre y amiga Rebeca Gómez Morán por estar siempre a mi lado, dándome la fuerza necesaria para enfrentar nuevos retos. Recuerda que tenemos grandes planes.

A mi padre Juan Manuel Verduzco García por su apoyo incondicional en este camino.

A mi hermano Salvador Verduzco Gómez por ser mi compañero de aventuras.

A mi sobrina Renata Verduzco Cabrera por ser mi amiga incondicional y recordarme que uno puede ser niño toda la vida.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: Adriana Rebeca Verduzco Gómez
FECHA: 05/11/2004
FIRMA: [Firma]

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Eugenio Villagómez, por haber confiado en mí para la realización de este trabajo y haberme apoyado incondicionalmente durante la realización del mismo.

Al Dr. Alejandro Villa Godoy por haberme brindado su apoyo en los momentos difíciles casi sin conocerme.

Al Dr. Mario Cárdenas León, del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) por haberme apoyado en la fase de laboratorio y ser un gran ser humano.

Al Dr. Javier Flores Covarrubias por su amabilidad y buena disposición.

A la Dra. Ivette Rubio, al Dr. Manuel Corro y al Dr. Galina por haber sido vitales en mi formación como investigadora y ser mis amigos.

A Paty, Conchita, Esperanza, Gerardo, Miguel y en especial a Rabindranath, por haberme brindado su amistad y haberme hecho sentir como en casa en el INCMNSZ.

A mis compañeros de la maestría: Agustín, Paulo, Nico, Simone, Iván, Horte, Martín, Paulina, Eli, César y Esperanza por haber compartido momentos inolvidables.

A mis amigas Rocío, Karla, Paula Cárdenas, Soledad, Susana Rojas, Arlette, Elena y a mis amigos Jaime y Víctor, por estar siempre conmigo a pesar de la distancia.

A mi jurado: el Dr. Nazario Pescador, el Dr. Carlos Vásquez y el Dr. Joel Hernández, por sus atinadas correcciones y su buena disposición en la revisión del presente trabajo.

LISTA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
I. INTRODUCCIÓN GENERAL	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	8
2.1. ANESTRO POSPARTO	8
2.1.1. Involución Uterina	8
2.1.2. Actividad Ovárica Posparto	9
2.2. Efecto del amamantamiento sobre el reinicio de la actividad ovárica	11
2.2.1. Opioides Endógenos	12
2.3. Lactancia y Balance Energético Negativo	13
2.4. Nutrición-Reproducción	16
2.5. Metabolitos sanguíneos y hormonas metabólicas	17
2.5.1. Ácidos grasos no esterificados (AGNE)	17
2.5.2. Insulina	19
2.5.3. Nitrógeno Ureico Sérico	19
2.5.4. Glucosa	20
2.5.5. Hormonas tiroideas	21
2.5.6. Hormona del Crecimiento (HC)	22
2.5.7. Factor de crecimiento parecido a la insulina IGF-1 y hormona del crecimiento (HC)	24
2.5.8. Leptina	27
2.5.8.1. Antecedentes de la leptina	27
2.5.8.2. Acciones biológicas de la leptina	28
2.5.8.3. Leptina-consumo alimenticio-homeostasis energética	29

2.5.8.4. Leptina y su relación con la lactancia	33
2.5.8.5. Leptina y reproducción	34
2.5.8.6. Leptina-Hormona del crecimiento	36
III. LITERATURA CITADA	38
IV. Efecto de la dieta y el amamantamiento sobre las concentraciones séricas de leptina y hormona de crecimiento en vacas de doble propósito, y su relación con el consumo voluntario, la producción y el anestro posparto	55
INTRODUCCIÓN	56
MATERIAL Y MÉTODOS	58
RESULTADOS	63
DISCUSIÓN	65
CONCLUSIONES	77
LITERATURA CITADA	79
ANEXO 1	100

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO	Pág.
Cuadro 1. Análisis de varianza del efecto de la dieta y el amamantamiento sobre la concentración de leptina en vacas de doble propósito durante el anestro posparto.	90
Cuadro 2. Análisis de varianza del efecto de la dieta y el amamantamiento sobre la concentración de la hormona del crecimiento en vacas de doble propósito durante el anestro posparto.	91
Cuadro 3. Efecto del amamantamiento y la suplementación energética sobre las concentraciones séricas de leptina (ng/ml).	92
Cuadro 4. Efecto del amamantamiento y la suplementación energética sobre las concentraciones séricas de HC (ng/ml).	93
Cuadro 5. Coeficientes de correlación de Pearson de la concentración de leptina con variables productivas y reproductivas.	94
Cuadro 6. Coeficientes de correlación de Pearson de la concentración de la HC con variables productivas y reproductivas.	95
FIGURAS	
Figura 1.- Concentración de leptina y condición corporal en los grupos NS-A y NS-NA, durante todo el período experimental.	96
Figura 2.- Concentración de leptina y condición corporal en los grupos S-A y S-NA, durante todo el período experimental.	97
Figura 3.- Concentración de HC y condición corporal en los grupos NS-A y NS-NA, durante las primeras 15 semanas posparto.	98
Figura 4.- Concentración de HC y condición corporal en los grupos S-A y S-NA, durante las primeras 15 semanas posparto.	99

RESUMEN

Efecto de la dieta y el amamantamiento sobre la concentración sérica de leptina y hormona de crecimiento en vacas doble propósito, y su relación con el consumo voluntario, la producción y el anestro posparto

Con el objeto de evaluar el efecto de la suplementación energética (SE) y el amamantamiento (A) sobre la leptina y la hormona de crecimiento (HC) en vacas doble propósito en anestro posparto (A-PP), 38 vacas recién paridas fueron asignadas al azar en un arreglo factorial 2X2, cuyos factores fueron: a) dieta (D: Pasto o Pasto más suplementación energética[SE] con 1.77 Mcal/Kg/d de ENI) y b) A por 7 h/d (con becerro o sin becerro). Se colectó suero c/5 d, desde el primer día posparto hasta el fin del A-PP. La leptina se cuantificó mediante un RIA comercial y la HC mediante uno de doble anticuerpo. El experimento fue dividido en tres periodos siendo: 0-30, 31-60 y 61-90 días PP. Para cada uno de los periodos se realizó un ANDEVA para medidas repetidas por el método GLM de SAS donde los efectos principales fueron la D, el A, la interacción (AXD) y la muestra (c/5 d). Asimismo se revisó la asociación de leptina y HC con variables productivas y reproductivas; el criterio de diferencia fue $P < .05$. En todas las vacas la leptina sérica permaneció baja durante el PP temprano y aumentó a medida que la lactancia progresó y se asoció positivamente con el consumo de MS, la condición corporal (CC) al parto y negativamente con los días a presentación del primer folículo grande, cuerpo lúteo (CL) y estro. Se observó un valor pico de leptina previo al del primer CL en todos los animales. La SE disminuyó la HC durante todo el PP y se asoció negativamente con consumo de ENI, BE, CC, proteína en leche, tamaño folicular y número de oleadas foliculares; y positivamente con días a presentación del primer folículo grande, CL y estro. AXD disminuyó la leptina y en contraste aumentó la HC en vacas sin SE. Por lo tanto, la leptina responde más a mecanismos de regulación homeorrética para promover el consumo de energía, destinado a la producción látea, que a cambios en la adiposidad y una vez resueltas las carencias de energía, ejerce una acción permisiva para el reinicio de la actividad ovárica PP. En vacas que consumen pasto sin SE durante la lactancia, la HC promueve una intensa movilización de reservas grasas y proteicas, lo cual deriva en un agotamiento relativo de las mismas que impide mantener la concentración de proteína en leche. Además, las asociaciones de HC con eventos reproductivos indican que a medida que las vacas dejan de depender de sus reservas corporales para mantener la lactación, se van presentado los eventos reproductivos que anteceden a la primera ovulación posparto.

Palabras Clave: Anestro, balance energético, leptina, hormona de crecimiento.

ABSTRACT

Effect of diet and suckling in dual purpose cows on plasma leptin and growth hormone concentrations and its relation to dry matter intake, milk yield and anestrus postpartum

The aim of this study was to evaluate the effect of diet (D) and suckling (S) on serum leptin and growth hormone (GH) in dual purpose cows in anestrus postpartum (APP). Thirty eight cows were allocated to 4 groups according to diet (grass or grass plus energy supplementation (ES)) and suckling 7h/d (with calf or not). Serum plasma was collected every five days from calving to the end of APP. Leptin and GH, were measured by RIA. The experiment was divided in three periods: 0-30, 31-60, 61-90 days PP. Data were analyzed by ANOVA using the general linear model (GLM) procedures; the principal effects were the diet, suckling, diet and suckling interaction (DxS) and the sample. Furthermore we evaluated the association between leptin and growth hormone on productive and reproductive variables. The criterion of difference was $P < .05$. Serum leptin concentrations were low during the early periparturient period and increased during the progress of lactation. Leptin was positively correlated with body score condition at parturition (BSCP), dry matter intake (DMI) and negatively with time to first large follicle, corpus luteum (CL) and estrus. Leptin concentrations were high up to a few days before on CL pp in all groups. The energy supplementation decreased the GH levels during all the postpartum periods. Moreover GH was correlated negatively with energy intake, EB, BSC, milk protein, follicular size, number of follicular waves and positively with first large follicle, CL and estrus.

The DxS, decreased leptin levels and increased GH concentrations in cows without energy supplementation. These data provide strong evidence that leptin was close related with mechanisms of homeorhetic regulation in order to promote energy intake related with milk production and not with changes in adiposity. Although when the energy requirements were covered, leptin had a permissive action in the recovery of ovarian activity pp. In those cows that consumed grass without energy supplementation, growth hormone promoted a high rate of fat mobilization. This fact resulted in a relative depletion of those stores and prevented the protein concentrations in milk. Finally the association between GH and reproductive events indicate that when cows don't use anymore the fat stores for lactation, the reproductive events take place.

Key Words: Anestrus, energy balance, leptin, growth hormone

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

México, produce anualmente un promedio de 1, 467, 574 ton de carne bovina, siendo Veracruz el estado con mayor producción de carne (14.47% de la producción total) (SAGARPA, 2002). Los esquemas de producción bovina en estas regiones se basan en la producción de carne y leche, los cuales son denominados de “doble propósito”. El ganado predominante en el trópico es de tipo cebuino (***Bos indicus***), o cruza de éste con ganado europeo (***Bos taurus***) debido a la gran adaptabilidad del primero a las condiciones climáticas extremas y a su mejor aprovechamiento de los pastos tropicales. Sin embargo, en los sistemas de doble propósito, las vacas además de ser ordeñadas, crían al becerro hasta el destete. Debido a tal dualidad productiva, el período posparto se caracteriza por intervalos de anestro posparto aún más largos que los observados en el ganado productor de carne (Escobar y col., 1984; Rosete y col., 1993) El anestro en estos animales se manifiesta por largos intervalos parto-primer servicio y parto-concepción, superiores a los 120 y 170 días respectivamente; y en consecuencia el intervalo entre partos es superior a 450 días (Anta y col., 1989; Galina y col., 1989). Los factores predominantes que intervienen en el reinicio de la actividad ovárica posparto son el amamantamiento y la nutrición.

Se ha observado que después del parto las vacas sufren un intenso déficit energético, acompañado por una gran síntesis láctea y depresión del apetito, lo cual es conocido como balance energético negativo (BEN). (Butler y col., 2000; Block y col., 2001). Durante este periodo las vacas experimentan cambios en su metabolismo energético, debido a que la actividad metabólica en la glándula mamaria incrementa al doble los requerimientos energéticos. Un prolongado déficit energético se desarrolla porque el consumo voluntario es insuficiente para poder cubrir los requerimientos energéticos. (Bell, 1995; Vernon y Pond, 1997). Como consecuencia se llevan a cabo marcadas alteraciones en la repartición de nutrimentos y del metabolismo del animal; tal como es una rápida movilización de las reservas lipídicas y proteicas a favor de la producción láctea (Bauman y Currie,

1980). La severidad y duración del balance energético negativo esta principalmente relacionada con el consumo de materia seca y el incremento de éste durante la lactancia, lo cual a su vez también esta relacionado con la condición corporal presente al momento del parto (Villa-Godoy y col., 1988). Existen evidencias de que la condición corporal al parto (Osoro y col., 1992; Wrigth y col., 1992) y los cambios de peso y de condición corporal durante el período posparto, afectan tanto la duración del anestro como la tasa de concepción, particularmente en vacas productoras de carne y de doble propósito (Rutter y col., 1984; Rakestraw y col., 1986; Villagómez, 2000).

Cuando las explotaciones ganaderas de zonas tropicales dependen exclusivamente de los pastos nativos o mejorados existen marcadas deficiencias nutricionales en los animales durante ciertas épocas del año, observándose bajos consumos de energía y proteína por el alto contenido de fibra en los forrajes, y deficiencia de minerales (Poppi y Mc Lennan, 1995). Esta situación trae como consecuencia que al parto las vacas de estas regiones que dependen exclusivamente de pastos se encuentren en una pobre condición corporal, agravando el déficit energético que se presenta durante el inicio de la lactación. (Corro, 1992; García, 1997; Villagómez, 2000). Se ha observado que la baja disponibilidad de energía durante el BEN posparto no solamente suprime la secreción pulsátil de hormona luteinizante (LH), sino que también reduce la respuesta ovárica a la estimulación por la LH (Butler, 2000). De igual manera, la reducción en el consumo de alimento en novillas y vacas pre- o posparto, provoca una disminución en el diámetro folicular; debido a que una reducción de energía en la dieta está asociada a una disminución en la secreción pulsátil de LH en estos animales (Murphy y col., 1991; Bergfeld y col., 1994). Rhodes y col.(1995) observaron que en vacas ciclando sujetas a un anestro nutricional, el diámetro folicular y el de los cuerpos lúteos se ve disminuido para luego incrementarse de nuevo al corregir la deficiencia.

La leptina tiene un papel importante en la regulación del consumo alimenticio y el peso corporal, y se ha establecido que circula en el plasma en proporción con la

adiposidad corporal (Maffei y col., 1995; Chan y Mantozoros, 2001; Smith y col., 2001). La leptina es una proteína de 167 aminoácidos expresada en su mayoría en tejido adiposo, pero también en estómago, ovario, placenta y glándula mamaria. En estudios en ovinos y bovinos se ha observado que una restricción alimenticia prolongada, los niveles circulantes de leptina disminuyen (Blache y col., 2000; Ehrhardt y col., 2000; Ingvarsen y Boisclair, 2001; León, 2004). Algunos estudios hechos en borregos y roedores, muestran que la leptina tiene efecto sobre la secreción de la HC, (Mercer y col., 1996; Williams y col., 1999; McMahon y col., 2001). Los efectos recíprocos de la HC para estimular o inhibir la expresión de leptina, dependen del balance energético y del consumo alimenticio del animal (Houseknecht y Portocarrero, 1998). Aparte de los efectos en el metabolismo energético y el apetito, se ha observado que la leptina se encuentra íntimamente involucrada en la regulación de la función reproductiva. Resultados de investigación sugieren que los efectos en la reproducción, incluyendo el desarrollo embrionario y la fisiología placentaria, están relacionados con la regulación homeostática de la leptina (Conway y Jacobs, 1997). Asimismo, se ha demostrado que la leptina es necesaria para la maduración del eje reproductivo, debido a que en ratones ob/ob se observó que la aplicación exógena de leptina restaura la pubertad y la fertilidad (Smith y col., 2001). En el ganado bovino se ha reportado que aquellas hembras que se encuentran en una pobre condición corporal tienen un pobre desempeño reproductivo, en comparación con las que presentan una condición corporal aceptable (Selk y col., 1988). Por lo tanto, debido que los niveles de leptina están en proporción de la grasa corporal, se ha especulado que la leptina puede actuar como una señal que le indique al sistema reproductor que existen suficientes reservas corporales para poder soportar exitosamente una concepción y gestación.

Por otro lado, el papel que juega la hormona del crecimiento (HC) en los procesos homeorréticos asociados a los ajustes a prioridades metabólicas como son la gestación y la lactancia, son ampliamente conocidos (Bauman y Curie, 1980). Sin embargo, también existe evidencia experimental de que la HC está involucrada en

la función reproductiva. De tal manera, Advis y col. (1981) demostraron que una reducción en la concentración sérica de HC retardó el inicio de la pubertad en ratas, lo cual fue mediado en parte por el decremento en el número de receptores ováricos a LH. Simpson y col. (1991) al inmunizar activamente contra el factor liberador de HC, retardaron el inicio de la pubertad en vaquillas. En el caso de animales adultos ciclando, el tratamiento con HC recombinante indujo un incremento en la progesterona circulante durante los dos ciclos estrales subsecuentes al tratamiento (Shemm y col., 1990; Gallo y Block, 1991). En los estudios antes mencionados se propuso que las acciones de la HC son mediadas por el IGF-1. Se ha sugerido que el IGF-1 puede ser un mediador potencial del estado energético de las vacas sobre la actividad ovárica (Ronge y col., 1988), ya que existen evidencias de que dicho factor juega una papel importante en la esteroidogénesis (Adashi y col., 1985); además se ha observado una reducción en la concentración sérica de IGF en respuesta a una restricción nutricional (Rutter y col., 1989).

La presencia del becerro, la frecuencia y longitud del amamantamiento, tienen un efecto directo sobre el reinicio de la actividad ovárica bovina (Bastidas y col., 1984). En el caso de los sistemas de doble propósito, se emplean distintos esquemas para controlar el amamantamiento y aún así la duración del anestro posparto se prolonga de 126 a 375 días (Rosete y col., 1993; Villa-Godoy y Arreguín, 1993). Se ha postulado que el déficit energético acentúa el efecto negativo del amamantamiento sobre el comportamiento reproductivo posparto (Williams y col., 1990; Browning y col., 1994).

En los sistemas de doble propósito existe escasa o nula información acerca de los ajustes metabólicos y endocrinos donde participan la leptina y la hormona del crecimiento durante la lactación temprana, particularmente en vacas que amamantan y son ordeñadas. Por lo tanto los objetivos del presente estudio fueron:

- ❖ Evaluar el efecto de la suplementación energética y el amamantamiento, sobre la concentración sérica de leptina en vacas doble propósito en anestro posparto.
- ❖ Evaluar el efecto de la suplementación energética y el amamantamiento, sobre la concentración sérica de hormona del crecimiento bovina, en vacas doble propósito en anestro posparto.
- ❖ Establecer las asociaciones entre leptina y hormona del crecimiento bovina como posibles mediadores de los efectos de la dieta y el amamantamiento, en vacas doble propósito en anestro posparto.
- ❖ Determinar las asociaciones entre leptina y las variables corporales, de producción, endocrinológicas y reproductivas.
- ❖ Determinar las asociaciones entre hormona del crecimiento bovina y las variables corporales, de producción, endocrinológicas y reproductivas, en vacas de doble propósito en anestro posparto.
- ❖ Determinar las asociaciones entre leptina y hormona del crecimiento bovina, en vacas doble propósito en anestro posparto.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANESTRO POSPARTO

El largo periodo de inactividad ovárica posparto o anestro representa una de los principales pérdidas económicas en la industria pecuaria así como un gran obstáculo en la mejora de la eficiencia reproductiva de los bovinos en regiones tropicales (Fallas, 1987). Malven (1984) define el periodo posparto, como el período requerido para la recuperación funcional del eje hipotálamo–hipófisis–ovario-uterino, después del parto y la lactancia. El período posparto (puerperio), se caracteriza por una involución uterina y un reinicio de las funciones ováricas con la finalidad de preparar al animal para una nueva gestación (Kindahl y col., 1999). La duración del anestro posparto esta influenciada por el amamantamiento, el estado nutricional del animal, época de parto, edad y muchos otros factores.

2.1.1. Involución Uterina

El tiempo requerido para que los órganos genitales regresen a la normalidad, esta influenciado por la raza, factores de manejo, en los cuales podemos incluir el régimen alimenticio y factores ambientales. Asimismo otros factores como cambios hormonales o enfermedades periparturientas como distocia, mastitis, endometritis, etc., pueden influenciar el tiempo de recuperación. El proceso de involución es muy diferente entre especies y está estrechamente relacionado con el tipo de placentación. El proceso de involución uterina en la vaca es de los más complejos, debido a que el tipo de placentación es cotiledonaria. El proceso de involución uterina consta de tres procesos sobrepuestos: contracción muscular peristáltica, pérdida de tejido y reparación de tejidos. Al parto las concentraciones de oxitocina y prostaglandinas F2 α se incrementan drásticamente. Así mismo el estímulo táctil del becerro en la región inguinal de la vaca durante el amamantamiento junto con la estimulación táctil de la glándula mamaria por sí

misma, induce la liberación de oxitocina, la cual provoca la eyección de la leche y estimula la liberación de prostaglandinas $F2\alpha$ en el endometrio uterino. Las concentraciones de prostaglandinas $F2\alpha$ declinan gradualmente a concentraciones basales, conforme pasa el tiempo, después de varias semanas posparto. La involución uterina depende ampliamente de la magnitud y duración de la liberación de prostaglandinas $F2\alpha$. Elier y col. (1984), observaron que al aplicar exógenamente prostaglandina $F2\alpha$, se mejoraba la motilidad uterina y por ende la involución uterina. Algunos autores señalan que la involución uterina puede llevarse a cabo aún en ausencia de prostaglandinas $F2\alpha$ (Guilbault y col., 1988). En promedio el periodo de involución uterina es de tres semanas en ganado lechero y de 35 a 60 días o más en ganado de carne (Kindahl y col., 1999).

2.1.2. Actividad Ovárica Posparto

Existen factores limitantes en el desarrollo folicular y la ovulación posparto para poder establecer una nueva gestación. La gestación tardía y los primeros días posparto se caracterizan por una supresión en la secreción de gonadotropinas y por una reducción de la actividad ovárica (Williams y col., 1996).

Durante la gestación tardía el eje hipotalámico-hipofisiario, se encuentra bajo una retroalimentación negativa de los esteroides, estrógenos y progesterona, producidos en los ovarios y la placenta. Esto trae como resultado una acumulación de la hormona folículo estimulante (FSH) en la hipófisis anterior, una supresión de la liberación de la FSH, un agotamiento de las reservas de LH en la hipófisis anterior y consecuentemente una supresión de la actividad folicular ovárica (Crowe y col., 1998). Existe un decremento en el tamaño del folículo dominante, siendo menor de 8 mm a los 9 meses de gestación y menor de 6 mm durante los primeros meses posparto, aumentando conforme pasa el tiempo posparto (Ruiz-Cortes y Olivera, 1994; Ginther y col., 1996).

Debido a la destrucción del cuerpo lúteo al parto, las concentraciones circulantes de progesterona descienden abruptamente. Así mismo, tras la eliminación de las

membranas fetales al parto, las concentraciones circulantes de 17β -estradiol son muy bajas, debido a que en su mayoría los folículos grandes están ausentes al parto. Las concentraciones circulantes de 17β -estradiol secretadas durante el desarrollo folicular se incrementan después del día 9 posparto, con fluctuaciones debido al crecimiento y regresión de los folículos dominantes (Yavas y Walton, 2000).

Las concentraciones de FSH en la circulación se elevan rápidamente después del parto; las pulsaciones de FSH se desarrollan alrededor del día 4 posparto y permanecen constantes con fluctuaciones equivalentes a las de las vacas ciclando. Dicho cambio en la secreción de FSH resulta en un reclutamiento folicular y en la aparición de folículos dominantes, cerca del día 7-10 posparto en vacas lechera, 10 a 15 días en ganado de carne y 26 a 78 días en vacas cebú (Savio y col., 1990ab; Stagg y col., 1995ab; Ruiz-Cortes y Olivera, 1999). La secreción de FSH requiere de una estimulación mínima de GnRH, y su liberación es plenamente controlada por la retroalimentación negativa producto de esteroides ováricos y péptidos. Debido a que la secreción de GnRH no se bloquea completamente, algunos autores sugieren que la reanudación de los pulsos de FSH, es producto de pulsos iniciales de baja frecuencia de GnRH; mientras que la reanudación de los pulsos de LH posparto, se lleva a cabo más tarde, cuando la frecuencia de los pulsos de GnRH se incrementa. (Yavas y Walton, 2000)

En vacas ciclando el incremento en las concentraciones circulantes de 17β -estradiol, está positivamente relacionado con la liberación a nivel hipotálmico de GnRH, la cual a su vez tiene una acción de estimulación a nivel hipofisiario sobre la liberación de LH. Durante el anestro posparto temprano esta relación positiva se ve afectada, debido a que el hipotálamo modifica su sensibilidad hacia los estrógenos, como sucede en animales prepúberes. Bajo estas circunstancias el estradiol tiene una retroalimentación negativa o un efecto inhibitorio sobre la secreción de GnRH, lo cual a su vez se traduce en un bloqueo o disminución de la secreción de LH (Wiltbank y col., 2002). Para romper con dicha retroalimentación negativa y pueda producirse de nuevo una ovulación es necesario que los

estrógenos provenientes de un folículo dominante se eleven hasta cierto nivel, el cual pueda finalmente ejercer una retroalimentación positiva a nivel hipotalámico que permita incrementar los pulsos de GnRH y por lo tanto desencadenar un pico preovulatorio capaz de provocar la ovulación. La recuperación del patrón pulsátil en ganado de carne ocurre alrededor del día 25 a 32 posparto, provocando un incremento gradual en las concentraciones medias circulantes de LH, para finalmente desencadenar un pico preovulatorio con un subsiguiente ovulación (Yavas y Walton, 2000).

Sin duda la nutrición y el amamantamiento son factores, que juegan un papel importante en este proceso y que pueden retardar el reinicio de la actividad ovárica, los cuales serán discutidos más adelante.

2.2. EFECTO DEL AMAMANTAMIENTO SOBRE EL REINICIO DE LA ACTIVIDAD OVÁRICA

Algunos estudios han demostrado que el amamantamiento al igual que la nutrición, son factores importantes que intervienen en el reinicio de la actividad ovárica posparto. La presencia del becerro, la frecuencia y longitud del amamantamiento, como método de crianza retrasan la manifestación del estro posparto (Bastidas y col., 1984).

El amamantamiento en el período posparto tardío, suprime la liberación pulsátil de la LH en la adenohipófisis, después de que se ha restaurado las reservas de LH en la adenohipófisis, inhibiendo las descargas de GnRH a nivel hipotalámico. El destete definitivo o parcial (48 a 96 horas) y el amamantamiento restringido (1 o 2 veces al día), en el periodo posparto tardío, incrementan la frecuencia pulsátil de LH, así como las concentraciones de receptores foliculares para LH y FSH; seguida de una ovulación días más tarde (Walters y col., 1982; Griffith y Williams, 1996; Stagg y col., 1998). Así mismo, se ha observado que cuando se restringe el amamantamiento o disminuye el tiempo de éste, se logra una reducción del

período abierto y por ende un incremento en la manifestación de celo (Escobar y col., 1984).

Algunos estudios señalan que el amamantamiento suprime la secreción pulsátil de LH a través de la estimulación táctil (señales somatosensoras) de la ubre o de la teta por el becerro (Short y col., 1972; Williams y col., 1987). Griffith y Williams (1996), encontraron que la visión y la olfacción de la cría, durante el amamantamiento suprimen la liberación de pulsos de LH. Asimismo otros estudios, con denervación de la glándula mamaria, estimulación manual de tetas, mastectomía, becerros con bozal, amamantamiento restringido o aislamiento del becerro, indican que la presencia física del becerro modula el efecto inhibitorio del amamantamiento sobre el reinicio de la actividad ovárica posparto. Después del día 30 posparto en el ganado lechero, el centro generador de pulsos se vuelve menos sensitivo al efecto negativo del 17- β estradiol (Yavas y Walto., 2000).

2.2.1. Opioides Endógenos

Los péptidos opioides endógenos son producidos en el hipotálamo y en la hipófisis anterior, perteneciendo a esta clasificación, las endorfinas, encefalinas, dinorfinas. Sin duda las β -endorfinas son los péptidos opioides más potentes. Se ha sugerido que dichos péptidos inhiben la liberación de GnRH, actuando directamente sobre las neuronas productoras de dicha hormona a nivel hipotalámico, asimismo también se les ha asociado con una inhibición en la liberación de LH en la hipófisis anterior (Chao y col., 1986; MacDonald y col., 1990; Leshin y col., 1991).

Las concentraciones circulantes de β -endorfinas, están relacionadas negativamente con las concentraciones circulantes de LH desde el parto hasta la primera ovulación posparto, y positivamente relacionadas con el intervalo posparto en ganado lechero (Yavas y Walto, 2000).

La percepción inguinal del becerro durante el amamantamiento, provoca la liberación de péptidos endógenos en hipotálamo, los cuales aunados a la retroalimentación negativa del 17- β estradiol secretado por los folículos en

desarrollo, actúan sobre el centro generador de pulsos (oscilador neuronal ubicado en el núcleo arcuato), disminuyendo las pulsaciones de GnRH y por ende la frecuencia en los pulsos de LH en hipófisis (Yavas y Walto, 2000).

Los opiodes endógenos también se han asociado al incremento de consumo alimenticio, en respuesta a otras hormonas lactacionales (Butler y Smith, 1989).

2.3. LACTANCIA Y BALANCE ENERGÉTICO NEGATIVO

La lactación es un estado fisiológico natural que le sigue al parto y se caracteriza por numerosas alteraciones en la madre, las cuales le permiten adaptarse a las demandas que le exige dicho estado. Estas adaptaciones incluyen un cese en la ciclicidad reproductiva, un incremento en el consumo de comida y agua, inducción del comportamiento materno y un incremento en los niveles séricos de oxitocina y prolactina (Ingvarsen y Andersen, 2000). La lactación es también un estado que se caracteriza por un balance energético negativo (BEN), acompañado de un incremento en los requerimientos energéticos, enfocado a la producción de leche y una supresión de la función reproductiva (Smith y Grove, 2002). A medida que transcurre el parto el consumo de materia seca se incrementa de 4 a 6 veces con la finalidad de cubrir la alta demanda nutricional encaminada hacia la producción láctea (Roche y col., 2000). Sin embargo, se ha observado que después del parto las vacas sufren un intenso déficit energético, acompañado por una gran síntesis láctea y depresión del apetito que da lugar al BEN (Butler WR, 2000; Block y col., 2001). El déficit energético se desarrolla porque el consumo voluntario es insuficiente para poder cubrir los requerimientos energéticos de una producción láctea pico, por lo que hay movilización de lípidos, provenientes del tejido graso (reservas corporales) (Bell AW, 1995; Vernon y Pond, 1997). Por lo tanto, durante este período las vacas experimentan cambios en su metabolismo energético, debido a que como se mencionó antes, la actividad metabólica en la glándula mamaria incrementa al doble los requerimientos energéticos.

La severidad y duración del balance energético negativo está principalmente relacionado con el consumo de materia seca y el incremento de éste durante la lactancia, lo cual a su vez también está relacionado con la condición corporal presente al momento del parto. Se sabe que el BEN durante las primeras tres o cuatro semanas está altamente correlacionado con los días a primera ovulación. De igual forma se sabe que en ganado lechero, el BEN comienza pocos días después del parto y por lo regular alcanza su nivel máximo (nadir) cerca de las dos semanas posteriores a este (Villa-Godoy y col., 1988; Butler y Smith, 1989).

Cuando las explotaciones ganaderas dependen exclusivamente de los pastos nativos o mejorados existen marcadas deficiencias nutricionales en los animales durante ciertas épocas del año, observándose bajos consumos de energía y proteína por el alto contenido de fibra en los forrajes, y deficiencia de minerales. Esta situación trae como consecuencia que durante el posparto las vacas usen sus reservas corporales para cubrir dichas deficiencias (energía, proteína y minerales) (Corro MMD, 1992; García BCM, 1997)(Ver cuadro 1). Tamminga y col. (1997), observaron que en vacas lecheras durante la lactancia temprana, la movilización de grasa y proteína al día, es de .56 Kg. y de 0.04 Kg. respectivamente.

Función fisiológica	Cambios metabólicos	Tejidos involucrados
Síntesis láctea	↑ consumo y uso de nutrientes ↑ Capacidad sintética ↑ Flujo sanguíneo	Tejido mamario
Metabolismo lípidos	↑ Lipólisis ↓ Lipogénesis ↑ Uso de lípidos como energética	Tejido adiposo
Metabolismo glucosa	↑ Gluconeogénesis ↑ Glicogenolisis	Higado
	↓ Uso de glucosa	Tejidos corporales en general
Metabolismo proteínas	↑ Movilización de reservas proteicas ↑ Absorción	Músculo y otros tejidos corporales Intestino y riñón
Metabolismo minerales	↑ Movilización	Hueso
Consumo	↑ Consumo alimenticio	Sistema Nervioso Central
Digestión	↑ Hipertrofia del tracto digestivo ↑ Capacidad de absorción de nutrientes	Tracto digestivo

Cuadro 1.- Cambios metabólicos asociados con la lactogénesis en rumiantes (Bauman y Currie, 1980; Ingvastén y Andersen, 2000).

Se ha observado que la baja disponibilidad de energía durante el BEN no solamente suprime la secreción pulsátil de LH sino que también reduce la respuesta ovárica a la estimulación por la LH (Butler WR, 2000). La reducción en los pulsos de LH, no permite que el crecimiento folicular continúe hasta un tamaño preovulatorio capaz de producir cantidades suficientes de 17- β estradiol, para desencadenar la liberación de GnRH y consecuentemente de LH.

El retorno a un balance energético positivo (BEP), provoca un incremento en la secreción pulsátil de LH, incrementando la tasa máxima del folículo dominante y un subsiguiente incremento de la producción de estradiol folicular (Butler WR., 2000).

2.4. NUTRICIÓN-REPRODUCCIÓN

La nutrición es el principal factor que afecta la eficiencia reproductiva en la vaca. Una reducción moderada o crónica en la dieta, resulta en una disminución gradual en la tasa de crecimiento de folículos dominantes, así como el diámetro y la persistencia de éstos. Tanto en ganado lechero como de producción de carne, es difícil establecer con claridad los efectos específicos del consumo alimenticio sobre la reproducción, debido a que existen efectos confundidos, tal es el caso del nivel de producción láctea en ganado lechero y el vínculo madre-cría, el cual tiene un fuerte efecto negativo sobre el intervalo posparto en el ganado de carne (Diskin y col., 2003).

Stagg y col. (1995b), compararon el patrón de crecimiento folicular en vacas de carne amamantando, alimentadas con una dieta alta o baja en energía y observaron que el número de oleadas foliculares antes de la primera ovulación fue mayor en aquellos animales alimentados con baja energía que aquellos que fueron alimentados con una dieta alta en energía. Asimismo, Rhodes y col. (1995) observaron que en vacas ciclando sometidas a un anestro nutricional, el diámetro folicular y el de los cuerpos lúteos disminuyó, para luego incrementarse con una adecuada realimentación.

Una reducción de energía pre y pos parto en la dieta está asociada a una disminución en la secreción pulsátil de LH en vaquillas y vacas, lo cual puede deberse a que una energía insuficiente durante el período posparto incrementa la sensibilidad del hipotálamo a la retroalimentación negativa del 17- β -estradiol folicular (Murphy y col., 1991; Bergfeld y col., 1994; Bossis y col., 1999). La disminución en los pulsos de LH y la aparición del anestro, ocurren rápidamente, después de que considerables cantidades de reservas grasas son catabolizadas. Otros autores trabajando con vacas de producción de carne posparto y en vaquillas, observaron que el inicio del anestro, producto de una restricción alimenticia crónica o fisiológica (anestro posparto) ocurre frecuentemente cuando los animales pierden en promedio de 22 a 24% de su peso inicial corporal

(Richards y col., 1989; Rhodes y col., 1995; Bossis y col., 1999; Stagg, 2000). Existe evidencia de que la condición corporal al parto en vacas de carne es un efecto determinante en la duración del anestro posparto; aquellas vacas que paren con una pobre condición corporal, presentan intervalos posparto más grandes que aquéllas que paren con buena condición corporal (Sinclair y col., 2002). Por lo tanto, la nutrición preparto se ve reflejada en la condición corporal al parto, la cual es determinante en el reinicio de la actividad ovárica. Por otro lado, se ha observado, que la nutrición posparto, es más crítica para el desarrollo y diámetro de folículos dominantes (Rhodes y col., 1995; Diskin y col., 2003).

Existe evidencia de que el amamantamiento, la lactancia, hormonas metabólicas y ciertos metabolitos, pueden jugar un papel importante como mediadores de los efectos del consumo alimenticio y el balance energético en la actividad ovárica posparto de la vaca.

2.5. METABOLITOS SANGUÍNEOS Y HORMONAS METABÓLICAS

Algunas hormonas metabólicas y metabolitos sanguíneos, se encuentran involucrados en adaptaciones metabólicas a situaciones de desafío y pueden servir como mediadores de la función reproductiva, transportando información del estado nutricional del animal a nivel hipotálamo-hipofisiario o a nivel periférico (gónadas). La medición de estas hormonas y metabolitos sanguíneos, puede ser una herramienta útil para determinar el estado nutricional de la vaca; sobre todo para detectar el grado de movilización de tejido adiposo y catabolismo proteico, durante un estado de estrés nutricional, tal como es el caso del anestro posparto.

2.5.1. Ácidos grasos no esterificados (AGNE)

Los AGNE, comienzan a incrementarse de 2 a 3 semanas antes del parto en ganado lechero y alcanzan su máxima concentración durante las primeras semanas posparto. Estos cambios reflejan el enorme incremento en los

requerimientos de glucosa y nutrientes que demanda la lactación. Lo anterior se logra mediante la remoción de reservas grasas, para ser utilizadas como fuente energética. Algunas hormonas lipolíticas activan a la lipasa sensible a hormonas, la cual cataliza la hidrólisis de triacilglicerol a glicerol y ácidos grasos. Entonces, los AGNE se liberan hacia la sangre y se unen físicamente a la albúmina plasmática para ser transportados al corazón, músculo esquelético, hígado y otros tejidos para su oxidación o conversión en otros lípidos. En vacas periparturientas, cerca de la mitad de los AGNE que son liberados al torrente sanguíneo son oxidados e incorporados como triglicéridos en la glándula mamaria (Bell, 1995).

Durante el periodo posparto temprano, existe una relación negativa entre las concentraciones plasmáticas de AGNE y el consumo voluntario de materia seca en el ganado. Los AGNE, el glicerol y los cuerpos cetónicos, actúan como señales potenciales en la regulación del consumo alimenticio y pueden jugar un rol importante en la depresión del consumo alimenticio durante las primeras semanas posparto (Butler WR, 2000; Ingvarsen y Andersen, 2000). En ratas y borregos adultos, la infusión continua de ácidos grasos de cadena larga causa hipofagia (Carpenter y Grossman, 1983; Vandermeerschen-Doizé y Paquay, 1984). Se ha sugerido que la oxidación de ácido grasos en cerebro e hígado puede funcionar como una señal en la regulación del consumo alimenticio (Ingvarsen y Andersen, 2000).

Canfield y Butler (1990) y Villagómez (2000), trabajando con vacas de leche y de doble propósito respectivamente, estudiaron la relación entre el balance energético con algunos metabolitos; así como la actividad reproductiva, encontrando que existe una correlación significativa entre el balance energético de la vaca y los AGNE. Lo anterior nos indica que los AGNE pueden funcionar como indicadores metabólicos del balance energético del animal.

2.5.2. Insulina

La insulina es una hormona peptídica, similar al IGF (Factor de crecimiento parecido a la insulina) y es secretada en páncreas en respuesta a una concentración circulante alta de glucosa.

Esta hormona tiene influencia sobre el metabolismo intracelular, modulando la actividad y localización de enzimas; así como la expresión génica. La glucosa induce a la insulina para que se forme glicerol, incrementando de esta forma el consumo de glucosa por la mayoría de los tejidos, pero no del tejido neuronal o hepático, inhibiendo la lipólisis y gluconeogénesis y estimulando la acumulación lipídica. También se sabe que la insulina está involucrada en el transporte de aminoácidos, la síntesis proteica y en la estimulación de la esteogénesis en las células foliculares y lúteas (Spicer y Echterkamp, 1995; Poff y col., 1998). Las acciones de la insulina bajo diversos niveles de glucosa son antagonizadas por el glucagón, la adrenalina, glucocorticoides y hormona de crecimiento.

Existe evidencia de que la restricción alimenticia, así como el balance energético negativo, puede reducir las concentraciones circulantes de insulina (Vizcarra y col., 1998; Mackey y col., 2000; Sinclair y col., 2002; Villagómez, 2000).

Sinclair y col. (2002), observaron en vacas productoras de carne en anestro posparto, que aquellas que mostraban concentración baja de insulina, eran incapaces de ovular un folículo dominante, como respuesta a un amamantamiento restringido en comparación con aquellas vacas que presentaron concentración alta de insulina., independientemente de las pulsaciones de LH. De igual forma, algunos estudios sugieren que la insulina puede tener un efecto directo a nivel ovárico (Stewart y col., 1995).

2.5.3. Nitrógeno Ureico Sérico

Como se mencionó anteriormente, al inicio de la lactación las vacas lecheras se encuentran generalmente en un balance energético negativo y sufren de un

desbalance nitrogenado, por lo que las vacas movilizan sus reservas corporales como tejido graso y masa muscular proteica, con la finalidad de sostener la lactancia (Roche y col., 2000; Smith y Grove, 2002). En ruminantes se sabe que las concentraciones de nitrógeno ureico en sangre, reflejan la eficiencia del animal en la utilización de proteína cruda en la dieta. La urea es un residuo del metabolismo tisular y de la degradación de proteína cruda en el rumen. El exceso de urea es rápidamente eliminado a través de los fluidos corporales, incluyendo la leche. El nitrógeno ureico en leche, refleja el nitrógeno ureico en sangre y muchos estudios han demostrado que existe una buena correlación entre estos dos parámetros (Broderick and Clayton, 1997). La evaluación de nitrógeno ureico en leche y sangre de forma individual o en un hato, sirve como indicador de la proporción en la dieta de energía-proteína (Hof y col., 1997). Estudios hechos en borregos bajo una restricción de alimento, agua o sometidos al estrés del transporte, demostraron que las concentraciones de NUS se elevaban al final del periodo de restricción y disminuían cuando cesó la restricción y o el estrés (Cole y Hutcheson, 1985; Cole y col., 1993).

2.5.4. Glucosa

Los niveles de glucosa se incrementan durante las últimas semanas posparto y caen abruptamente al posparto, alcanzando su nivel más bajo durante las primeras semanas de la lactación. Durante el período posparto la glucosa es utilizada principalmente para la síntesis lactosa y glicerol en glándula mamaria. Debido a que la glucosa es almacenada en pequeñas cantidades, el incremento de la glucosa sanguínea se da principalmente por un aumento en el consumo alimenticio y (o) la gluconeogénesis a partir de reservas corporales grasas y proteicas (Ingvarsten y Andersen, 2000). En vacas lecheras altas productoras, se ha observado que presentan bajas concentraciones de glucosa durante la lactación (Harrison y col., 1990; Gutiérrez y col., 1999; Jonsson y col., 1999; Snijders y col., 2001). Además, diversos estudios en vacas lecheras indican que

existe una relación inversa entre las concentraciones circulantes de glucosa y el consumo energético (Yelich y col., 1996). Por otro lado se señala que la disponibilidad de glucosa puede ser una señal metabólica que provea información a nivel hipotálamico, afectando la secreción de GnRH (Foster y Nagatani, 1999).

2.5.5. Hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas, juegan un papel importante en la diferenciación, crecimiento y funcionamiento de tejidos, con mayor efecto en el metabolismo y el consumo de oxígeno. La tiroxina (3,5,3',5'-tetraiodotironina ó T₄) y en menores cantidades, pero más potente la triyodotironina (3,5,3'-triyodotironina ó T₃) son liberadas de la tiroides, bajo la influencia de la hormona estimuladora de hormonas tiroideas hipofisaria, la cual a su vez es controlada por la hormona liberadora de tiotropina hipotalámica. La T₄ es la prohormona y es importante en el transporte y la regulación de la retroalimentación negativa de las hormonas tiroideas mientras que la T₃ es la hormona activa en células blanco; existe una forma inactiva, la T₃ reversa, la cual es parte de la vía de degradación. La T₃, estimula la trascricpción de mRNA, resultando en síntesis proteica y efectos anabólicos; también incrementa el consumo de O₂ a nivel celular (tasa metabólica). Entre otros efectos las hormonas tiroideas están involucradas en incremento de la temperatura, la pérdida de peso, cambios en la concentración de glucosa, catabolismo del colesterol, estimulación del crecimiento y en la maduración. Se sabe, que las hormonas tiroideas juegan un factor importante en el reinicio de la actividad ovárica posparto, pero el status nutricional del animal y el estrés ambiental pueden afectar la función de estas (Veerkamp y col., 2003). Así por ejemplo, en vacas lecheras las altas concentraciones de T₃ y T₄, estuvieron asociadas a un reinicio de la actividad ovárica posparto más rápido, que aquéllas que presentaron concentraciones bajas (Reist y col., 2003). Se ha observado que las hormonas tiroideas, tienen un efecto estimulante sobre las células de la granulosa y de la teca en bovinos (Spicer y col., 2001). En vacas de sistemas de doble propósito

mantenidas en clima tropical cuyas producciones lácteas son relativamente bajas, también se ha observado que las hormonas tiroideas y el cociente de éstas presentan coeficientes de correlación altos con variables relacionadas al desarrollo folicular y al comportamiento reproductivo (Villagómez, 2000). En estas vacas se estudiaron las asociaciones entre el consumo voluntario y la producción láctea con variables metabólicas así como reproductivas y los resultados sugirieron que las hormonas tiroideas y los AGNE actúan como mediadores putativos entre los efectos atribuibles a los cambios en el balance energético, el amamantamiento y (o) sus interacciones sobre la reproducción (Villagómez, 2000).

2.5.6. HORMONA DEL CRECIMIENTO (HC)

La HC es una hormona proteica de 191 aminoácidos en bovinos y ovinos, y es sintetizada en células somatotropas en la hipófisis anterior. Esta hormona es regulada por dos hormonas, la hormona liberadora de la hormona del crecimiento, de efecto estimulante y la somatostatina (SS) de efecto inhibitorio; ambas hormonas son sintetizadas a nivel hipotálamico. También se ha observado que la hormona liberadora de tirotrópina tiene un efecto estimulante sobre la secreción de la hormona del crecimiento en bovinos, ya sea antes o después de la ingestión del alimento (McMahon y col., 2001). Algunos estudios en bovinos y ovinos han encontrado receptores para HC en las neuronas productoras del neuropéptido Y (NPY), el cual es un potente estimulador del apetito a nivel hipotálamico, lo que sugiere que la HC forma parte en la regulación del neuropéptido. (McMahon y col., 2001). La HC también es producida en gónadas y tejido mamario, lo cual indica que posee acciones autocrinas y paracrinas fuera de la hipófisis, independientemente de sus acciones endocrinas a nivel hipofisiario (Hull y Harvey, 2000).

Los efectos de la HC pueden ser clasificados en somatogénicos y metabólicos. Los efectos somatogénicos son aquellos en que la HC estimula la proliferación celular y se encuentran mediados por el IGF-1 como se discutirá mas adelante. La

mayoría de los efectos metabólicos son producidos por una acción directa de la HC en una gran variedad de tejidos y sobre el metabolismo de toda clase de nutrimentos como son proteínas, carbohidratos, lípidos y minerales (Cuadro 2). Esta serie de cambios coordinados en el metabolismo de los tejidos, altera la repartición de nutrimentos y juega un papel importante en el incremento del crecimiento o durante la producción láctea.

Tejido	Proceso afectado fisiológicamente
Músculo esquelético (crecimiento)	<ul style="list-style-type: none"> ↑Incremento proteico ↑Síntesis proteica ↑Toma de aminoácidos y glucosa
Hueso (crecimiento)	<ul style="list-style-type: none"> ↑Eficiencia parcial en la utilización de aminoácidos ↑Incremento mineral paralelo al crecimiento de tejido ↑Síntesis láctea con composición normal
Tejido mamario (lactación)	<ul style="list-style-type: none"> ↑Toma de nutrientes usados para síntesis láctea ↑Actividad de células secretorias ↑Mantenimiento de células secretoria ↑Flujo sanguíneo consistente con el cambio en síntesis láctea ↓Toma y oxidación de glucosa ↓Síntesis de lípidos en balance energético positivamente
Tejido adiposo	<ul style="list-style-type: none"> ↑Lipólisis basal en balance energético negativo ↓Estimulación de insulina en el metabolismo de glucosa y la síntesis lipídica. ↓Habilidad de insulina para estimular lipogénesis ↑Habilidad de insulina para inhibir lipólisis
Hígado	<ul style="list-style-type: none"> ↑Habilidad de catecolaminas para estimular lipólisis ↑Producción de glucosa
Intestino	<ul style="list-style-type: none"> ↓Habilidad de insulina para inhibir la gluconeogénesis ↑Absorción de calcio y fósforo requerido para leche (lactación) o hueso (crecimiento) ↑Habilidad de la vitamina D3 1,25 para estimular la unión de calcio a proteínas
Efectos sistémicos	<ul style="list-style-type: none"> ↑Unión de calcio a proteínas ↑IGF-1 y IGFBP-3 circulantes ↓IGFBP-2 circulante ↓Oxidación de aminoácidos y nitrógeno ureico en sangre ↓Oxidación de glucosa ↑Oxidación de AGNE en balance energético negativo ↑Respuesta inmunológica

CUADRO 2. Efectos biológicos de la hormona del crecimiento en animales durante la lactación y el crecimiento. ↑,Incremento;↓,disminución; IGF-1, factor de crecimiento parecido a la insulina; IGFBP, proteínas unidoras de factores de crecimiento parecido a la insulina; NEFA, ácidos grasos no esterificados. (Bauman DE., 1992;Etherton and Bauman., 1998)

La HC ha tenido gran importancia en la industria pecuaria debido a que se ha asociado a el crecimiento rápido, menor deposición de grasa y a una mayor eficiencia en la producción láctea. En rumiantes, algunas de las adaptaciones claves en la lactancia temprana para poder cubrir los altos requerimientos energéticos, pueden ser un aumento en la secreción de HC con la finalidad de remover las reservas en músculo esquelético y en tejido adiposo para cubrir sus requerimientos (Ahima y col., 1996; Kamohara y col., 1997; Vernon y Pond, 1997; Mounzihk y col., 1998; Moschos y col., 2002). Asimismo se ha observado que cuando la HC disminuye, se favorece la síntesis de lípidos.

La HC no es considerada de manera clásica como una hormona reproductiva; sin embargo, algunos estudios indican que juega un papel en la función reproductiva. La HC se requiere para la diferenciación y maduración sexual en la pubertad y participa en la esteroidogénesis gonadal, la gametogénesis y la ovulación (Chase y col., 1998). Asimismo la HC participa en la nutrición y el crecimiento fetal, así como en el desarrollo de la glándula mamaria y en la lactación. Wather y col. (1995), observaron un incremento en los esteroides ováricos después de la administración *in vivo* de la HC. La acción de la HC sobre la secreción de LH y FSH, puede tener una acción directa o indirecta mediada a través de la producción local de factor de IGF-1. Asimismo, la HC estimula la síntesis y secreción del IGF-1, el cual tiene un efecto inhibitorio sobre la secreción de HC en los somatotropos, lo cual sugiere que el IGF-1 puede jugar un papel importante en la regulación de la HC. Sin embargo los mecanismos mediante los cuales la HC estimula el desarrollo folicular parece ser específico de cada especie.

2.5.7. FACTOR DE CRECIMIENTO PARECIDO A LA INSULINA IGF-1 Y HORMONA DEL CRECIMIENTO (HC)

Los factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGFs), son polipéptidos con similitud estructural y funcional con la insulina que regulan el crecimiento y la diferenciación celular. El IGF-1 es un mediador producido en su mayoría en el

hígado, pero también es producido en otros tejidos y su liberación está parcialmente mediada por la HC. El factor de crecimiento parecido a la insulina tipo 2 (IGF-2) es similar estructuralmente y funcionalmente al IGF-1, pero menos potente y la hormona de crecimiento no regula su secreción (Moses y col., 1985).

En el animal, el tejido con mayor número de receptores para hormona de crecimiento es el hígado, número que excede por mucho al observado en los tejidos reproductivos. Los receptores para HC en hígado estimulan una serie de cambios metabólicos en ganado lechero. Aunado a los cambios en el metabolismo dentro del hígado, la HC tiene un efecto sobre la síntesis y secreción de IGF-1, así como de proteínas acarreadoras y proteínas ligadoras del mismo (Edens y Talamantes, 1998). Una teoría endocrina postula que algunos efectos de la HC, tal como los ejercidos sobre el crecimiento y la reproducción, son parcialmente mediados por la liberación de IGF-1 hepático. Una vez liberado del hígado, el IGF-1 viaja vía sanguínea y actúa en diversos tejidos, incluyendo aquellos del tracto reproductivo. (Lucy MC, 2000).

Las concentraciones sanguíneas de HC y IGF-1 sufren cambios dinámicos durante el período posparto en vacas lecheras. Antes del parto, las concentraciones circulantes de HC son bajas, mientras que los IGF-1s son altos; al parto y al inicio de la lactación, las concentraciones de HC se incrementan y los niveles de IGF-1 disminuyen, lo cual persiste por numerosas semanas posparto (Spicer y col., 1990; Cohick, 1998). Una baja en los niveles sanguíneos de glucosa e insulina en ganado posparto, están asociados con el decremento de IGF-1. A medida que la lactación progresa las concentraciones de HC declinan gradualmente y las concentraciones de insulina y IGF-1 se incrementan gradualmente (Vicini y col., 1991; Grummer, 1995).

El balance energético negativo que ocurre en el período posparto temprano, al parecer juega un papel importante, debido a que el estado nutricional del animal (consumo de energía y proteína para cubrir requerimientos), controla parcialmente la síntesis y secreción de IGF-1. El incremento en HC después del parto en vacas, puede ser secundario a una caída en los niveles de IGF-1, debido a que el IGF-1

tiene un efecto directo inhibitorio de retroalimentación negativa en la secreción de HC y aquellos animales con bajos niveles de IGF-1 presentan como respuesta altas concentraciones de HC (Gluckman y col., 1987; Thissen y col., 1994).

Las concentraciones plasmáticas de IGF-1, están asociadas positivamente con la CC y el consumo alimenticio (Houseknecht y col., 1988; Yelich y col., 1996). En estudios con restricción alimenticia o situaciones de desnutrición en bovinos, se ha observado que las concentraciones de IGF-1 y las proteínas ligadoras de IGFs decrecen linealmente, desde el principio de la restricción, hasta alcanzar el anestro, para luego restablecerse gradualmente al 50% cuando son realimentadas hasta el reinicio de la función ovárica; indicando que el reinicio de la función ovárica es parcialmente mediado por el IGF-1 (Webb y col., 1999; Bossis y col., 2000; Stagg y col., 2000; León, 2003).

Asimismo bajas concentraciones de IGF-1, están asociadas con un mayor intervalo posparto (Rutter y col., 1989; Nugent y col., 1993; Roberts y col. 1997) y un retraso a la pubertad en ganado de carne (Granger, 1989). Las concentraciones sanguíneas de IGF-1 están correlacionadas con el IGF-1 en fluido folicular, debido a que la mayoría de éste proviene de la sangre. La nutrición induce cambios en la secreción de IGF-1 en hígado, lo cual a su vez tiene un efecto directo en ovario por las acciones endocrinas del IGF-1 sobre el mismo. En vacas lecheras posparto, existe una asociación entre el IGF-1 y la ovulación, pero los mecanismos de acción mediante los cuales el IGF-1 afecta la función reproductiva, aún no son claros. El IGF-1 y las gonadotropinas tienen una acción sinérgica sobre el crecimiento y la diferenciación folicular. El crecimiento folicular y la esteroidogénesis en ganado posparto se correlacionan con la alta secreción de LH, así como con altas concentraciones circulantes de IGF-1 (Lucy, 2000).

Se sabe que el incremento en la síntesis proteica de IGF-1, estimula directamente la proliferación o la capacidad esteroidogénica en células de la teca y células de la granulosa (Spicer y col., 1993; Spicer y Stewart, 1996), lo cual a su vez podría actuar a nivel hipotalámico sobre la liberación de GnRH y ésta a su vez sobre las pulsaciones de LH (Hashizume y col., 2002). De la misma manera, la disminución

en la concentración de proteínas ligadoras, como consecuencia de una pobre nutrición, limita la disponibilidad de las IGFs en las células blanco, en el folículo y a su vez limita su habilidad sinérgica con las gonadotropinas hipofisarias para estimular la proliferación celular y la esteroidogénesis.

2.5.8. LEPTINA

2.5.8.1. Antecedentes de la leptina

El descubrimiento de la leptina data de hace 50 años, donde se sugería que el consumo de alimento está regulado por la grasa corporal. En ese momento se sugirió que cierta área del hipotálamo era sensible a cambios de temperatura ocasionados por el consumo alimenticio y que hormonas metabólicas controlaban el consumo alimenticio. Estudios hechos en animales de laboratorio, llevaron a la conclusión, de que la regulación del apetito y las de las reservas energéticas corporales almacenadas en forma de grasa, estaban estrechamente ligadas a un factor circulante en el suero que podía actuar a nivel hipotálmico. El ratón diabético (db/db) y el ratón obeso (ob/ob) fueron modelos ampliamente utilizados para el estudio de la obesidad y demostraron la importancia de la leptina en la regulación del apetito, metabolismo y composición corporal. Tanto los db/db ó los ob/ob son resultado de una simple mutación genética, los primeros de una ausencia completa de la proteína y los segundos de una ausencia total de receptores de leptina. Ambos ratones presentaban hiperfagia, hiperglicemia, hiperinsulinemia y obesidad. Los tratamientos con leptina exógena en ratones ob/ob disminuían el peso corporal y el porcentaje de grasa corporal. Asimismo, dichos tratamientos corregían la infertilidad, hiperinsulinemia e hiperglicemia (Brann y col., 2002). Tales resultados permitieron pensar que la leptina juega un papel importante en la función reproductiva.

En 1994, el gen para la proteína leptina fue clonado y secuenciado en ratón y en el humano (Maffei y col., 1995). Este grupo de investigadores demostró que el gen de la obesidad que codifica a la leptina, bajo condiciones normales, da lugar a una

proteína de 167 aminoácidos, que es idéntica en un 84% entre los humanos y los ratones. Una mutación en el codon 105 fue encontrada en el gen del ratón ob/ob, el cual produce una molécula biológicamente inactiva e incompleta en estos animales. En animales normales el gen es expresado primordialmente en tejido adiposo blanco. En humanos, en la mayoría de los estudios del gen ob que codifica para leptina en personas obesas fueron raros los casos observados de mutaciones en los receptores de leptina.

El gen de leptina ha sido clonado y secuenciado en diversas especies animales domésticos, incluyendo a cerdos, bovinos, ovinos y gallinas, y se piensa que la leptina puede jugar un papel importante tanto en la nutrición como en la reproducción de los animales domésticos.

2.5.8.2. Acciones biológicas de la leptina

La leptina es una proteína de 167 aminoácidos producto del gen ob, el cual pertenece a la familia de la citoquinina, y que circula como un péptido de 16 000 Dalton. (Hossner, 1998; Chan y Mantzoros, 2001). Es expresada en su mayoría en tejido adiposo, pero también en estómago, ovario, placenta y glándula mamaria. Como otras hormonas la leptina es secretada de manera pulsátil con un significativo ritmo circadiano (Sinha y col., 1996; Licinio y col., 1997). La leptina ejerce su efecto a través de receptores específicos a leptina (una isoforma larga y numerosas isoformas cortas), los cuales pertenecen a la familia de las citoquininas de clase 1 y se encuentran ampliamente distribuidas por todos los tejidos. La forma del receptor largo (Ob-Rb) incluye un largo dominio intracelular envuelto en la activación de la señal de la quinasa de Janus (JAK), transductores y activadores de la vía JAK-STAT. La forma corta (Ob-Ra) tiene un control intracelular corto (31 aminoácidos), capaz de activar la vía de la quinasa de la proteína activadora mitógena (MAP). El Ob-Rb es el receptor predominante dentro del cerebro, particularmente dentro del hipotálamo en regiones como la dorsomedial, la ventromedial, la paraventricular y el núcleo arcuato, las cuales han sido implicadas

en la regulación del apetito y del peso corporal. Por otro lado, el Ob-Ra es encontrado principalmente en tejidos periféricos como el hígado, pulmón, páncreas, riñón, gónadas y músculo esquelético; lo cual demuestra que la leptina tiene un papel que se extiende más allá de su función como factor de saciedad. Sin embargo algunos estudios han demostrado que el receptor Ob-Ra también se encuentra presente en el plexo coroideo y capilares neuronales, los cuales están involucrados en el transporte de leptina entre la sangre y el fluido cerebroespinal, a través de la barrera hematoencefálica. Se ha reportado la presencia de otro receptor, el Ob-Re, carente de dominio transmembranal y citoplasmático, el cual es soluble y funciona como proteína ligadora de leptina circulante (Hossner, 1998; Smith y col., 2001; Brann, 2002). Las isoformas de receptores de leptina y su patrón de expresión no han sido estudiadas de manera extensa en rumiantes, pero existe evidencia experimental que concuerda con los hallazgos hechos en roedores. En borregos se demostró la unión de leptina en el núcleo arcuato, dorsomedial y ventromedial a nivel hipotálamico (Dyer y col., 1997). Asimismo, en esta especie y utilizando autoradiografía con leptina marcada con yodo 125, ésta fue detectada en el hipocampo, corteza cerebral, área preóptica, plexo coroideo y dentro del hipotálamo en el núcleo paraventricular y núcleo arcuato (Williams y col., 1999). Por lo tanto, los hallazgos confirman que la leptina tiene un papel importante en la regulación del consumo alimenticio y la homeostasis energética, debido a que recientemente se demostró que en el núcleo arcuato se generan ritmos de periodos largos en el consumo alimenticio voluntario, peso corporal y balance energético en borregos (Lincoln y col., 2001).

2.5.8.3. Leptina-consumo alimenticio-homeostasis energética

La leptina es una proteína expresada en su mayor parte en el tejido adiposo y se ha establecido que circula en el plasma en proporción con la adiposidad corporal (Maffei y col., 1995; Chan y Mantozoros, 2001; Smith y col., 2001). Lo anterior ha permitido generar la teoría de que la leptina actúa como un adipostato, señal

humoral que transporta información relacionada con las reservas de energía (Houseknecht y Portocarrero, 1998). En rumiantes la leptina se secreta de manera pulsátil, ya que en borregas no lactando y no gestantes al medir la misma con un RIA comercial multiespecies, los pulsos fueron detectados 4.8 veces /día con una amplitud media de 0.67 ng/ml y una longitud promedio de pulso de 1:13 horas (Blache y col., 2000; Tokuda y col., 2000).

Las concentraciones de leptina pueden modificarse en respuesta al consumo calórico y puede deprimir el apetito, incrementar la tasa metabólica, regular la ganancia de peso y controlar la deposición de grasa corporal. Se sabe que el hipotálamo juega un papel central en la regulación del consumo voluntario y la homeostasis energética. Lesiones en el área ventromedial hipotalámica causan hiperfagia y obesidad extrema, mientras que cuando se lesionan las regiones laterales del hipotálamo se provoca inanición y muerte causada por desnutrición (Ingvarsen y Boisclair, 2001). Por lo anterior, se llegó a la conclusión de que la región ventromedial del hipotálamo contiene el centro de la saciedad y que la región hipotalámica lateral contiene el centro del consumo voluntario. En mamíferos, el hecho de mantener un peso corporal y un porcentaje de grasa corporal constante, indica la capacidad de los mismos en la organización del gasto y del consumo energético. Kennedy y col. (1966) propuso la teoría lipostática, en la cual se postula que la señal derivada de la adiposidad mantiene las reservas energéticas y presumiblemente es clave en la regulación del consumo alimenticio y el gasto energético. En el cerebro el consumo y la homeostasis energética son regulados a través de una red de neuropéptidos orexigénicos (efecto anabólico) y anorexigénicos (efecto catabólico). Los péptidos orexigénicos incluyen al neuropéptido Y (NPY), proteína relacionada agouti (AgRP), hormona concentrada de melanina (HCM), galanina y orexinas; mientras que los péptidos anorexigénicos incluyen a la hormona liberadora de corticotropina (HCR), hormona estimuladora de α -melanocito (He α M), reguladores de transcripción de cocaína y anfetamina (CART) (Ingvarsen y Boisclair, 2001; Smith y Grove, 2002).

La leptina regula la síntesis y liberación de estas dos clases de neuropéptidos, ya que numerosos estudios han localizado receptores de leptina en las neuronas de regiones productoras de estos neurotransmisores. Sin duda el neuropéptido sobre el cual la leptina tiene un efecto determinante y que ha sido más estudiado es el NPY. Algunos estudios sugieren que la leptina ejerce su acción a nivel hipotálmico a través del NPY. Algunos estudios hechos en borregos y roedores, muestran que la leptina tiene efecto sobre la secreción de la HC, a través del NPY a nivel hipotálmico mediante la estimulación de la hormona liberadora de la HC o de la inhibición de la somatostatina, (Mercer y col., 1996; Williams y col., 1999; McMahon y col., 2001), ya que se ha observado que la administración intracerebral del NPY estimula la secreción de la HC en bovinos y ovinos (McMahon y col., 1999; Thomas y col., 1999). El NPY es un neurotransmisor cerebral, el cual es producido en los cuerpos celulares y terminales nerviosos de muchas áreas del cerebro, como son el núcleo arcuato y el núcleo dorsomedial, regiones involucradas en la regulación del consumo alimenticio y el balance energético. La aplicación exógena de NPY induce un marcado aumento en el consumo voluntario de los animales observándose, generalmente, un incremento en la ganancia de peso (Ingvarsen y Boisclair, 2001). Asimismo, la administración intracerebroventricular de leptina reduce la expresión del NPY así como su síntesis en el hipotálamo (Ingvarsen y Boisclair, 2001).

Las concentraciones sanguíneas de leptina, pueden variar debido a factores intrínsecos en el sistema endocrino, así como por la cantidad de proteínas transportadoras específicas y su forma de secreción; lo anterior puede verse afectado por cambios en la dieta, en el tejido adiposo y por cambios en el flujo de nutrientes debidos a prioridades metabólicas, asociadas con la gestación, la lactancia e infecciones (Ingvarsen y Boisclair, 2001).

En roedores y humanos la leptina circula tanto de forma libre como en complejos de alto peso molecular. En ratas, más del 88% de la leptina en sangre puede estar unida a los complejos moleculares; mientras que en humanos se observa sólo en fracciones de alrededor de un 24%. Las fracciones de leptina circulante de forma

unida es mayor en individuos delgados que en obesos (Houseknecht y col., 1996; Sinha y col., 1996; Diamond y col., 1997; Hill y col., 1998). La unión de leptina a proteínas transportadoras es con la finalidad de protegerla contra la degradación proteolítica y de esta forma prolongar su vida media. La isoforma soluble del receptor Ob-Re unida a leptina y circulante en plasma representa la fracción más grande de leptina circulante y con una vida media de 25 minutos en humanos; la vida media de esta hormona en especies animales de granja no han sido determinadas del todo.

Se sabe que las concentraciones de leptina modulan el comportamiento alimenticio, por lo que sus concentraciones sanguíneas se asocian de manera positiva con las reservas corporales en roedores y humanos (Ingvarsen y Andersen, 2000). Así, la ganancia de peso en humanos se ha asociado a un incremento en las concentraciones basales de leptina superior a un 300%. Los niveles plasmáticos de leptina caen drásticamente (aproximadamente 70%) con una restricción alimenticia corta (24 horas). De igual forma en estudios con ovinos y bovinos se ha observado que una larga restricción alimenticia, disminuye los niveles circulantes de leptina (Blache y col., 2000; Ehrhardt y col., 2000; Ingvarsen y Boisclair, 2001; León y col., 2004).

La reducción de leptina en plasma durante un ayuno de 24 horas puede prevenirse, manteniendo una glucemia normal, sugiriendo que la insulina, la glucosa y el IGF-1 son importantes reguladores en la producción de leptina (Boden y col., 1996; Kolaczynski y col., 1996). La expresión genética de la leptina está asociada a cambios hormonales (insulina, glucocorticoides, estrógenos y prolactina), a factores de crecimiento y citoquinas, así como al estado nutricional (Spicer y col., 1992; Yu y col., 1997; Chan y Mantozoros, 2001; Brann y col., 2002). Existen correlaciones significativas entre las concentraciones sanguíneas de leptina, insulina, hormona de crecimiento, glucosa y ácidos grasos no esterificados, que pueden actuar co-regulando el balance energético (Block y col., 2001).

Si bien la leptina puede modular la adiposidad por medio de cambios en el apetito y el gasto energético, existe evidencia de que puede actuar directamente sobre el adiposito. Receptores largos de leptina han sido localizados en adipositos de roedores. Estudios en esta especie sugieren que la leptina puede tener efectos lipolíticos en los adipositos así como en sus líneas celulares (Vernon y col., 2001); sin embargo en rumiantes se tiene poca información al respecto.

2.5.8.4. Leptina y su relación con la lactancia

La lactación es un estado fisiológico natural que sigue al parto y que se caracteriza por varias alteraciones en la madre, con la finalidad de permitirle adaptarse a las altas demandas que involucra esta condición. Estas adaptaciones incluyen, entre otras: un cese en la ciclicidad reproductiva, un incremento en el consumo alimenticio y agua, inducción del comportamiento materno, un incremento en suero de los niveles de oxitocina y prolactina. La leptina puede ser importante en la regulación nutricional materna y adaptaciones metabólicas de nutrimentos parcialmente durante el proceso del consumo energético durante la gestación y la lactancia (McCann y col., 1986)

Block y col., (2001) midieron las concentraciones de leptina antes y después del parto en vacas Holstein lactando y sin lactar, encontrando que éstas tuvieron una reducción del 50% después del parto, y permanecieron bajas durante gran parte de la lactancia, hasta que inició una recuperación de el balance energético. El mismo grupo de investigadores observó que las vacas sin lactar se recuperaron mas rápido del déficit energético en la lactancia temprana en comparación de las vacas lactantes, duplicando las primeras sus concentraciones de leptina. La principal causa en la disminución en los niveles de leptina durante la lactancia, es la alta demanda metabólica encaminada a la producción láctea, ya que al parecer, en roedores el amamantamiento por si mismo no provoca cambios en las concentraciones de leptina (Brogan y col., 1999; Woodside y col., 2000). La eliminación del alto costo energético que significa la lactancia, evitando la

secreción láctea provoca un incremento en la leptina plasmática y en los niveles de insulina; así como un incremento en la adiposidad (Block y col., 2001). La disminución en los niveles de leptina después del parto es favorable durante la fase temprana de la lactancia, debido a que se piensa que favorece el consumo alimenticio y disminuye el gasto energético en funciones no vitales tal como la reproducción.

El déficit energético durante la lactancia temprana reduce la síntesis de leptina en el tejido adiposo y se sugiere que ésta juega un papel importante junto con la insulina, hormona del crecimiento y otras sustancias metabólicas encargadas de mediar los efectos observados del balance energético negativo, durante la lactancia temprana. De tal manera, se ha observado que las concentraciones sanguíneas de leptina se asocian de forma positiva con las de insulina y glucosa y negativamente con las de hormona del crecimiento y ácidos grasos no esterificados (Zhou y col., 1997; Block y col., 2001).

Por otro lado, en estudios realizados en ovejas gestantes se ha observado la existencia de receptores de leptina en las células epiteliales de glándula mamaria, indicando que la leptina puede tener un papel fundamental en la proliferación y diferenciación de estas células, pero requieren más estudios para determinar el efecto de la leptina sobre la glándula mamaria (Vernon y col., 2001).

2.5.8.5. Leptina y reproducción

Aparte de los efectos en el metabolismo energético y el apetito, la leptina se encuentra íntimamente involucrada en la regulación de la función reproductiva. Resultados de investigación sugieren que los efectos en la reproducción, incluyendo el desarrollo embrionario y la fisiología placentaria, pueden estar estrechamente relacionados con la regulación homeostática de la leptina (Conway y Jacobs, 1997). Se ha demostrado que la leptina es necesaria para la maduración del eje reproductivo, debido a que en ratones ob/ob se observó que la aplicación exógena de leptina restauró la pubertad y la fertilidad (Smith y col., 2001).

En el ganado bovino se ha reportado que aquellas hembras que se encuentran en una pobre condición corporal tienen un pobre desempeño reproductivo, comparado con aquellas que presentan una condición corporal aceptable (Selk y col., 1988). Por lo tanto, debido que los niveles de leptina están en proporción de la grasa corporal, se ha especulado que la leptina puede actuar como una señal que le indique al sistema reproductor que existen suficientes reservas corporales para poder soportar exitosamente una concepción y gestación. Así, Amstalden y col. (2000), estudiaron los efectos de una restricción alimenticia durante 48 horas en bovinos observando que se redujo la expresión del RNAm de leptina en tejido adiposo y las concentraciones de leptina circulante, con una concomitante reducción en la frecuencia pulsátil de la LH, en comparación con el grupo control. De igual manera, en un estudio en vaquillas prepúberes, la restricción alimenticia redujo marcadamente la expresión génica (RNAm) de leptina en tejido adiposo y en los niveles circulantes de leptina, IGF-1 e insulina, provocando una disminución en los pulsos de LH. (Yelich y col., 1996).

Algunos estudios hechos en bovinos y ovinos indican que la acción de la leptina sobre los pulsos de LH pudiera ser mediada por el NPY a nivel hipotalámico, el cual actúa inhibiendo la secreción de LH por una reducción en los pulsos de GnRH (McShane y col., 1992; McShane y col., 1993; Gazal y col., 1998). De tal manera, en estudios recientes se ha determinado la existencia de receptores de leptina en el eje hipotálamo – hipofisiario, así como a nivel gonadal (células de la granulosa, de la teca interna, intersticiales y de Leydig), lo cual refuerza la idea de que la leptina tiene una importante función neuroendocrina a nivel reproductivo (McShane y col., 1992; Amstalden y col., 2000; Brann y col., 2002). Por lo tanto, se piensa que la leptina actúa sobre ínter-neuronas que secretan neuropéptidos (galanina, opioides endógenos, y el neuropéptido Y), los cuales regulan el consumo energético y que pueden ser mediadores de la secreción de GnRH asociada a el balance energético (McShane y col., 1993; Chan y Mantozoros., 2001; Smith y col., 2001).

Se ha establecido que las perturbaciones en el estado nutricional o en las reservas energéticas pueden afectar el desempeño de las gonadotropinas y hormonas gonadales, las cuales son de vital importancia para la fertilidad. Lo anterior funciona como un mecanismo de adaptación, que permite aminorar a través de un efecto compensatorio, las excesivas demandas metabólicas impuestas por la reproducción, en momentos en que el consumo de nutrientes es insuficiente. Se piensa que la leptina es el vínculo entre las reservas adiposas y el centro hipotalámico que controla el eje gonadal (Gazal y col., 1998). Aunque si bien, se le puede atribuir a la leptina una acción sobre la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas en base al estado nutricional del individuo; también cabe destacar que durante la lactancia; la producción de leche y el estímulo del amamantamiento por sí solos tienen un efecto a nivel hipotalámico en la liberación pulsátil de la GnRH por medio de opioides endógenos como se mencionó en la sección "Amamantamiento sobre reinicio de la actividad ovárica" de la presente revisión.

2.5.8.6. Leptina-Hormona del crecimiento

Shaffer y col. (1998) estudiaron la función de la HC como regulador de la expresión del RNAm de leptina en el tejido adiposo *in vivo* y *in vitro* en bovinos y observaron que la HC puede regular indirectamente la expresión de leptina *in vitro*, alterando la respuesta en el tejido adiposo a la insulina o la dexametasona. Asimismo observaron que la HC sola incrementó la expresión de los RNAm para leptina, insulina e IGF-1 en tejido adiposo, así como las concentraciones de insulina, pero no de ácidos grasos no esterificados. En el estudio *in vivo* tres animales no respondieron a la HC, sino que presentaron una regulación a la baja en la expresión de leptina en respuesta al tratamiento, lo cual se atribuyó a que se encontraban en un balance energético negativo (Shaffer y col., 1998). Block y col. (2001) observaron en vacas lecheras que al eliminar el déficit energético en la lactancia temprana, las concentraciones sanguíneas de leptina se incrementaron

al doble así como una correlación positiva entre la leptina con la insulina y la glucosa en sangre y una correlación negativa con los niveles circulantes de hormona de crecimiento (HC) y AGNE. Asimismo, León y col. (2004) al estudiar novillas con restricción alimenticia, encontró una correlación positiva entre la leptina circulante y los niveles séricos de insulina e IGF-1. Se piensa que la liberación de la HC es parcialmente mediada por la leptina, mediante la inhibición a nivel hipotalámico de la somatostatina (Shaffer y col., 1998) y que los efectos recíprocos de la HC para estimular o inhibir la expresión de leptina, dependen del balance energético y del consumo voluntario del animal (Houseknecht y Portocarrero, 1998).

III. LITERATURA CITADA

1. Adashi EY, Resnick CE, Svobova ME, Van Wyk JJ. Somatomedin C enhances induction of luteinizing hormone receptors by follicle-stimulating hormone in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 1985;116:2369.
2. Advis JP, Smith S, White S, Ojeda SR. Activation of growth hormone short-loop negative feedback delays puberty in the female rat. *Endocrinology* 1981; 108:1343.
3. Ahima RS, Prabakarum D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos Flier E, Flier JS. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 1996;382:250-252.
4. Amstalden M, Garcia MR, Williams SW, Stanko Nizielkise RL, Morrison CD, Keisler DH, Williams GL. 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. *Biology of Reproduction* 2000;63:127-133.
5. Anta JE, Porras AA, Zarco QL, Galina CS. Análisis de la información publicada en México sobre la eficiencia reproductiva de los bovinos. II. Parámetros Reproductivos. *Veterinaria México* 1989;20:11-18.
6. Bastidas P, Tróconiz J, Verde O, Silva O. Effect of restricted suckling on ovarian activity and uterine involution in Brahman cows. *Theriogenology* 1984;21:525-532.
7. Bauman DE, and Currie WB. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal Dairy Science* 1980;63:1514-1529.
8. Bell AW. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science* 1995;73:2804-2819.
9. Bergfeld EGM, Kojima FN, Cupp AS, Wehrman ME, Peter KE, García-Winder M, Kinder JE. Ovarian follicular development in prepubertal heifers

- influenced by level of dietary energy intake. *Biology of Reproduction* 1994;51:1051-1057.
10. Blache D, Tellam RL, Chagas LM, Blackberry MA, Vercoe PE, Martin GB. Level of nutrient affects leptin concentrations in plasma, and cerebrospinal fluid in sheep. *Journal of Endocrinology* 2000;165:625-637.
 11. Block SS, Butler WR, Ehrhardt RA, Bell AW, Van Amburgh ME, Boisclair YR. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *Journal of Endocrinology* 2001;171:339-348.
 12. Boden G, Chen G, Mozzoli M, Rayan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *Journal Clin Endocrinology Metabolism* 1996;81:3419-23.
 13. Bossis I, Welty SD, Wettemann RP, Vizcarra JA, Spicer LJ, Diskin MG. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. *Journal of Animal Science* 1999;77:1536-1546.
 14. Bossis I, Wettemann RP, Welty SD, Vizcarra J, Spicer LJ. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during re-alimentation and resumption of ovulation. *Biology of Reproduction* 2000;62:1436-1444.
 15. Brann DW, Wade MF, Dhandapani KM, Mahesh VB, Buchanan CD. Leptin and Reproduction. *Steroids* 2002;67:95-104.
 16. Broderick and Clayton. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal Dairy Science* 1997;80:2964.
 17. Brogan RS, Mitchell SE, Trayhurn P, Smith MS. Suppression of leptin during lactation: contribution of the suckling stimulus versus milk production. *Endocrinology* 1999;140:2621-2627.
 18. Browning JR, Roberts BS, Lewis AW, Neuendorff DA, Randel RD. Effects of postpartum nutrition and once-daily suckling on reproductive efficiency and

- preweaning calf performance in fall-calving Brahman (Bos indicus) cows. *Journal Animal Science* 1994;72:984.
19. Butler WR, Smith RD. Interrelationships between energy balance on postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal Dairy Science* 1989;7:767-783.
 20. Butler WR. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 2000;60:449-457.
 21. Canfield RW, Butler WR. Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Domestic Animal Endocrinology* 1990;7:323-330.
 22. Carpenter RG, Grossman SP. Plasma fat metabolites and hunger. *Physiology and Behavior* 1983;30:57-63.
 23. Chan LJ, Mantozoros Sch. Leptin and the hypothalamic-pituitary regulation of the gonadotropin-gonadal axis. *Pituitary* 2001;4:87-92.
 24. Chao CC, Moss GE, Malven PV. Direct opioid regulation of pituitary release of bovine luteinizing hormone. *Life Science* 1986;39:527-534.
 25. Chase CC, Kirby CJ, Hammond AC, Olson TA, Lucy MC. Patterns of ovarian growth and development in cattle with a growth hormone receptor deficiency. *Journal of Animal Science* 1998;76:212-219.
 26. Cohick WS. Role of the insulin-like growth factors and their binding proteins in lactation. *Journal Dairy Science* 1998;81:1769-1777.
 27. Cole N.A, Hutcheson DP. Influence of realimentation diet on recovery of rumen activity and feed intake in beef steers. *Journal Animal Science* 1985;61:692.
 28. Cole NA, Hallford DM, Gallavan R. Influence of a glucose load in fed or unfed lambs on blood metabolites and hormone patterns. *Journal Animal Science* 1993;71:765.
 29. Conway GS, Jacobs HS. Leptin: a hormone of reproduction. *Human Reproduction* 1997;12:633-635.
 30. Corro MMD. Efecto de la suplementación mineral preparto sobre el comportamiento reproductivo y productivo postparto en vacas Holstein x

- Cebú en el trópico húmedo (tesis de maestría). México (D.F) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1992.
31. Crowe MA, Padmanabhan V, Mihm M, Bellusiz J, Roche JF. Resumption of follicular wave in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentration. *Biology of Reproduction* 1998;58:1445-1450.
 32. Diamond FB, Elchler DC, Duckett G, Jorgensen EV, Shulman D, Root AW. Demonstration of a leptin binding factor in human serum. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;233:818-822.
 33. Diskin MG, Mackey DR, Roche JF, Sreenan JM. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science* 2003;78:345-370.
 34. Dyer CJ, Simmons JM, Matteri RL, Keisler DH. Leptin receptor mRNA is expressed in ewe anterior pituitary, and adipose tissues, and is differentially expressed in hypothalamic regions of well-feed, and feed-restricted ewes. *Domestic Animal Endocrinology* 1997;14:119-128.
 35. Edens A, Talamantes F. Alternative processing of growth hormone receptor transcripts. *Endocrine Review* 1998;19:559-582.
 36. Ehrhardt RA, Slepatis RM, Siegal-Willott J, Van Amburgh ME, Bell AW, Boisclair YR. 2000. Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. *Journal of Endocrinology* 2000;166:519-528.
 37. Elier H, Hopkins FM, Armstrong-Backus CS, Lyke WA. Uterotonic effect of prostaglandin F_{2α} and oxytocin on the postpartum cow. *Animal Journal Veterinary Research* 1984;45:1011-1014.
 38. Escobar FC, Carlos JL, Galina CS, Fernández-Baca S. Efecto del amamantamiento sobre la actividad reproductiva postparto en vacas cebú, criollas y F1 (Cebú x Holstein) en el trópico húmedo de México. *Veterinaria México* 1984;15:243-248.

39. Etherton TD, Bauman DE. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiological Reviews* 1998;78:745-761.
40. Fallas MRA. Estudios sobre la involución uterina y reinicio de la actividad ovárica después del parto en vacas F1 (Holstein x Cebú) en el trópico húmedo de México (tesis de doctorado). México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1987.
41. Foster DL, Nagatani S. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Biology of Reproduction* 1999;60:205-215.
42. Galina CS, Arthur GH. Review of cattle reproduction in the tropics. Part 3. Puerperium. *Animal breeding Abstracts* 1989;57: 889-910.
43. Gallo GF, Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on hypophyseal and ovarian functions of lactating dairy cows. *Canadian Journal Animal Science* 1991;73:3276.
44. García BCM. Importancia de los minerales en los procesos reproductivos en la hembra bovina. *Memorias de Academia de Investigación en Biología de la Reproducción A.C.*; 1997 mayo 19-22; DF (México): Centro Médico Nacional Siglo XXI, 1997:19-22.
45. Gazal DS, Leshin LS, Stonko RL, Thomas MG, Keisler DH, Anderson LL, Williams GL. Gonadotropin releasing hormone secretion into third-ventricle cerebrospinal fluid of cattle: correspondence with the tonic and surge release of luteinizing hormone and its tonic inhibition by sucking and neuropeptide Y. *Biology of Reproduction* 1998;59:676-683.
46. Ginther OJ, Kot K, Kulick LJ, Martin S, Wiltbank MC. Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. *Journal Reproduction and Fertility* 1996;108:271-279.
47. Gluckman PD, Breier BH, Davis SR. Physiology of the somatotropic axis with particular reference to the ruminant. *Journal Dairy Science* 1987;70:442-466.

48. Granger AL, Wyatt WE, Craig WM, Thompson DL, Hembry FG. Effects of breed and wintering diet on growth puberty and plasma concentrations of growth hormone and insulin-like growth factor-I in heifers. *Domestic Animal Endocrinology* 1989;6:253–263.
49. Griffith MK, Williams GL. Role of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion, expression of maternal selectivity, and lactational performance of beef cows. *Biology of Reproduction* 1996;54:761-768.
50. Grummer RR. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal Animal Science* 1995;73:2820-2833.
51. Guilbault LA, Villeneuve O, Dufour JJ. Failure of exogenous prostaglandin F_{2α} to enhance uterine evolution in beef cows. *Canadian Journal Animal Science* 1998;68:669-676.
52. Gutierrez CG, Gong JG, Bramley TA, Webb R. Effects of genetic selection for milk yield on metabolic hormones and follicular development in postpartum dairy cattle. *Journal Reproduction and Fertility* 1999;24:16.
53. Harrison RO, Ford SP, Young JW, Conley AJ, Freeman AE. Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *Journal Dairy Science* 1990;73:2749-2758.
54. Hashizume T, Kumahara A, Fujino M, Okada K. Insulin-like growth factor 1 enhances gonadotropin-releasing hormone-stimulated luteinizing hormone release from bovine anterior pituitary cells. *Animal Production Science* 2002;70:1-9.
55. Hill RA, Margetic S, Pegg GG, Gazzola C. Leptin: its pharmacokinetics and tissue distribution. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998;22:765-770.
56. Hof, Vervoom, Lenaers, Tamminga. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. *Journal Dairy Science* 1997;80:3333.
57. Hossner KL. Cellular, molecular and physiological aspects of leptin: Potential application in animal production. *Canadian Journal of Animal Science* 1998;78:463-472.

58. Houseknecht KL, Portocarrero CP. Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. *Domestic Animal Endocrinology* 1998;15: 457-475.
59. Houseknecht KL, Boggs DL, Champion DR, Sartin JL, Kiser TE, Rampacek JB, Amos HE. 1988 Effect of dietary energy source and level of serum growth hormone, insulin-like growth factor-I, growth and body composition in beef heifers. *Journal Animal Science* 1988;66:2916–2923.
60. Houseknecht KL, Mantzoros CS, Kuliawat R, Hadro E, Flier JS, Kahn BB. Evidence for leptin binding to proteins in serum of rodents and humans: modulation with obesity. *Diabetes* 1996;45:638-643.
61. Hull KL, Harvey S. Growth hormone: a reproductive endocrine-paracrine regulator. *Review of Reproduction* 2000;5:175-182.
62. Ingvarsen KL, Andersen JB. Symposium: Dry matter intake of lactating dairy cattle. *Journal Dairy Science* 2000;83:1573-1597.
63. Ingvarsen KL, Boisclair YR. Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and Immunity with especial focus on periparturient ruminants. *Domestic Animal Endocrinology* 2001;21:215-250.
64. Jonsson NM, Fulkerson WJ, Pepper PM, McGowan MR. Effect of genetic merit and concentrate feeding on reproduction of grazing dairy cows in subtropical environment. *Journal Dairy Science* 1999;82:2756-2765.
65. Kamohara S, Burcelin R, Halaas JL, Friedman JM, Charron MJ. Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment . *Nature* 1997;389:374-377.
66. Kennedy GC. The hypothalamus and obesity. *Proc Royal Soc Med* 1966;59:1276-1277.
67. Kindahl H, Bekana M, Kask K, Königsson H, Odensvik. Endocrine aspects of uterine involution in the cow. *Reproduction Domestic Animal* 1999;34:261-268.
68. Kolaczynski JW, Considine RV, Ohannesian J, Marco C, Opentanova I, Nyce MR, Myint M, Caro JF. Responses of leptin to short-term fasting, and

- refeeding in humans. A link with ketogenesis but not ketones themselves. *Diabetes* 1996;45:1511-5.
69. Leon HV, Hernandez-Ceron J, Keislert DH, Gutierrez CG. Plasma concentrations of leptin, insulin-like growth factor-I, and insulin in relation to changes in body condition score in heifers. *Journal Animal Science* 2004;82:445-451.
70. Leshin LS, Rund LA, Kraeling RR, Kiser TE. The bovine preoptic area and median eminence: sites of opioid inhibition of luteinizing hormone-releasing hormone secretion. *Journal Animal Science* 1991;69:3733-3746.
71. Licinio J, Mantzoros C, Negrao AB, Cizza G, Wong ML, Bongiorno PB, Chrousos GP, Karter B, Allen C, Flier JS, Gold PW. Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function. *Nat. Med* 1997;3:575-579.
72. Lincoln GA, Rhind SM, Pompolo S, Clarke IJ. Hypothalamic control of photoperiod-induced cycles in food intake, body weight and metabolic hormones in rams. *Am J Physiol-Regul Integrat Comp Physiol* 2001;281:76-90.
73. Lucy MC. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *Journal Dairy Science* 2000;83:1635-1647.
74. MacDonald RD, Peters JL, Deaver DR. Effect of naloxone on the secretion of LH in infantile and prepubertal Holstein bull calves. *Journal Reproduction Fertility* 1990;89:51-57.
75. Mackey DR, Wylie ARG, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG. The effect of acute nutritional change on follicle wave turnover, gonadotropin, steroid concentration in beef heifers. *Journal Animal Science* 2000;78:429-442.
76. Maffei MJ, Halaas E, Ravussin RE, Pratley GH, Lee Y, Zhang H, Fei S, Kim R, Lallone S. Leptin levels in human and rodent measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Medicine* 1995;1:1155-1161.

77. Malven PV, Bossut DRB, Diekman MA. 1984. Effects of naloxone and electroacupuncture on plasma concentrations of LH in sheep. *Journal of Endocrinology* 1984;107:341.
78. Malven PV. Pathophysiology of the puerperium: definition of the problem. In *Proc. 10th Int. Cong. Anim. Reprod. A.I.* 1985, page 1.
79. McCann JP, Hansel W. Relationships between insulin and glucose metabolism and pituitary-ovarian functions in fasted heifers. *Biology of Reproduction* 1986;34:630-641.
80. McMahan CD, Buxton DF, Elasser TH, Gunter DR, Sanders LG, Steele BP, Sartin JL. Neuropeptide Y restores appetite and alters concentrations of GH after central administration to endotoxic stters. *Journal of Endocrinology* 1999;161:333-339.
81. McMahan CD, Radcliff RP, Lookingland KJ, Tucker HS. Neuroregulation of growth hormone secretion in domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology* 2001;20:65-87.
82. McShane TM, May T, Miner JL, Keisler DH. Central actions of neuromodulatory link between nutrition and reproduction. *Biology of Reproduction* 1992;46:1151-1157.
83. McShane TM, Petersen SL, McCrone S, Keisler DH. Influence of food restriction on neuropeptide-Y, propiomelanocortin and luteinizing hormone-releasing hormone gene expression in sheep hypothalamic. *Biology of Reproduction* 1993;49:831-839.
84. Mercer JG, Hoggard N, Williams LM, Lawrence CB, Hannah LT, Morgan PJ, Trayhurn P. coexpression of leptin receptor and preproneuropeptide Y mRNA in arcuate nucleus of mouse hypothalamus. *Journal of Neuroendocrinology* 1996;8:733-735.
85. Moschos SMD, Chan JL, Mantzoros CS. Leptin and reproduction: a review 2002;77:433-444.

86. Moses AC, Nissley SP, Shorth PA, Rechler MM, White RM, Krirght AB, Higa OZ. Elevated levels of insulin-like growth multiplication stimulating activity infetal rat serum. *Proce Natl. Acad. Sci* 1980;77:3649.
87. Mounzihk Qiu J, Ewart-Toland A, Chehab FF. Leptin is not necessary for gestation and parturition but regulates maternal nutrition via leptin resistance state. *Endocrinology* 1998;139:5259-5262.
88. Murphy MG, Enright WJ, Crowe MA, McConnell K, Spicer LJ, Boland MP, Roche JF. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant foiiicies during the oestrus cycle in beef heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 1991;92:333-338.
89. Nugent RA, Jenkins TG, Roberts AJ, Klindt J. Relationship of post-partum interval in mature beef cows with nutritional environment biological type and serum IGF-I concentrations. *Animal Production* 1993;56:193–200.
90. Osoro K, wright IA. The effect of body condition, live weight, breed, age, calf performance, and caiving date on reproductive performance of spring calving beef cows. *Journal Animal Science* 1992;70:1661.
91. Poff JP, Fairchild DL, Condon WA. Effects of antibiotics and medium supplements on steroidogenesis in cultured cow luteal cells. *Journal Reproduction Fertility* 1998;82:135-143.
92. Poppi PD y Mc Lennan RS. 1995. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. *Journal Animal Science* 1995;73:278.
93. Rakestraw j, Lusby JKS, Welteman RP, Wagner JJ. Postpartum weight and body condition loss and performance of fall calving cows. *Theriogenology* 1986;25:461.
94. Randel RD. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *Journal of Animal Science* 1990;68:853-862.
95. Reist M, Erdin DK, von Euw D, Tschumperlin KM, Leuenberger H, Hammon HM, Morel C, Philipona Ch, Zbinden Y, Kunzi N, Blum JW. Postpartum reproductive function: association with energy, metabolic and endocrine status in high yielding dairy cows. *Theriogenology* 2003;59:1707-1723.

96. Rhodes FM, Fitzpatrick LA, Entwistle KW, De'ath G. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. *Journal of Reproduction and Fertility* 1995;104:41-49.
97. Richardson MV, Wettemann RP, Schoenemann HM. Nutritional anoestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinising hormone in serum and ovarian activity. *Journal of Animal Science* 1989;67:1520-1526.
98. Roberts AJ, Nugent RA, Klindt J, Jenkins TG. Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of oestrus in post-partum cows subjected to dietary energy restriction. *Journal Animal Science* 1997;75:1909-1917.
99. Roche JF, Mackey D, Diskin MD. Reproductive management of postpartum cows. *Animal Reproduction Science* 2000;60-61:703-712.
100. Ronge H, Blum J, Clement C, Jans F, Leuenberger H, Binder H. 1988. Somatomedin C in dairy cows related to energy and protein supply and to milk production. *Animal Production* 1988;47:165.
101. Rosete FJV, Villa-Godoy A, Villagómez-Amezcuca E, Lagunes JL. Efecto de la naloxona sobre la liberación de hormona luteinizante y el inicio de la ciclicidad en vacas de doble propósito. *Mem. Reun. Anual de Inv. Pec. Jalisco*. 1993 p. 180.
102. Ruiz-Cortes ZT, Olivera-Angel M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. *Animal Reproduction Science* 1999;54:211-220.
103. Rutter LM, Randel RD. Postpartum nutrient intake and body condition: Effect of pituitary function and onset of estrus in beef cattle. *Journal Animal Science* 1984;58:265.
104. Rutter LM, Snopek R, Manns JG. Serum concentrations of IGF-I in post-partum beef cows. *Journal Animal Science* 1989;67:2060-2066.
105. Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. *Journal Reproduction Fertility* 1990a;88:581-591.

106. Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF. Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *Journal Reproduction Fertility* 1990b;88:569-579.
107. Selk GE, Wettermann RP, Lusby KS, Oltjen JW, Mobley SL, Rasby RJ, Garmendia JC. Relationships among weight change, body condition and reproductive performance of range beef cows. *Journal Animal Science* 1988;66:3153-3159.
108. Shaffer GT, Gurd W, Lapointe M. Leptin is a potent stimulator of spontaneous pulsatile growth hormone (GH) secretion and the GH response to GH-releasing hormone. *Endocrinology* 1998;139:3871-3875.
109. Shemm SR, Deaver DR, Gtiel LC, Muller LD. Effects of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. *Biology of Reproduction* 1990;42:1.
110. Short RE, Bellows RA, Moody EL, Howland BE. Effects of suckling and mastectomy on bovine postpartum reproduction. *Journal Animal Science* 1972;34:70-74.
111. Simpson RB, Armstrong JD, Harvey RW, Miller DC, Heimers EP, Campbell RM. Effect of active immunization against growth hormone-releasing factor on growth and onset of puberty in beef heifers. *Journal Animal Science* 1991; 69:4914.
112. Sinclair KD, Revilla R, Roche JF, Quintans G, Sanz A, Mackey DK, Diskin MG. Ovulation of the first dominant follicle arising after day 21 postpartum in suckling beef cows. *Journal Animal Science* 2002;75:115-126.
113. Sinha MK, Ohannesian JP, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Magosin S, Marco C, Caro JF. Nocturnal rise of leptin in lean, obese and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *Journal Clinic Investigation* 1996;97:1344-1347.
114. Smith GD, Jackson LM, Foster DL. Leptin regulation on reproductive function and fertility. *Theriogenology* 2001;57:73-86.

115. Smith MS, Grove KL. Integration of the regulation of reproductive function and energy balance: lactation as a model. *Frontiers in Neuroendocrinology* 2002;23:225-256.
116. Snijders SEM, Dillon PG, O'Farrell KJ, Diskin M, Wylie ARG, O'Callaghan D, Rath M, Boland MP. Genetic merit for milk production and reproductive success in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2001;65:17-3.
117. Spicer LJ, Alonso J, Chamberlain CS. Effects of thyroid hormones on bovine granulosa and theca cell function in vitro: dependence on insulin and gonadotropins. *Journal Dairy Science* 2001;84:1069-1076.
118. Spicer LJ, Alpizar E, Echemkamp SE. Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotrophins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and/or insulin-like growth factor I production in vitro. *Journal Animal Science* 1993;71:1232-1241.
119. Spicer LJ, Crowe MA, Prendiville DJ, Goulding D, Enright WJ. Systemic but not intraovarian concentrations of insulin-like growth factor I are affected by short-term fasting. *Biology of Reproduction* 1992;46:920-925.
120. Spicer LJ, Echemkamp SE. The ovarian insulin and insulin-like and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology* 1995;12:233-245.
121. Spicer LJ, Stewart RE. Interaction among bovine somatotropin, insulin, and gonadotrophins on steroid production by bovine granulosa and theca cells. *Journal Dairy Science* 1996;79:813-821.
122. Spicer LJ, Tucker WB, Adams GD. Insulin-like growth factor-I in dairy cows: relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrous behavior. *Journal Dairy Science* 1990;73:929-9337.
123. Stagg K, Diskin MG, Roche JF, Sreenan JM. Association between FSH concentrations and follicle growth during normal oestrus cycles and nutritional anoestrus in heifers. *Journal Reproduction Fertility Abstr* 1995a;15:66

124. Stagg K, Diskin MG, Roche JF, Sreenan JM. Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two goals of energy postpartum. *Animal Reproduction Science* 1995b;38:49-61.
125. Stagg K, Spicer LJ, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biology of Reproduction* 1996;59:777-783.
126. Stagg K. Anoestrus in the post-partum suckled beef cow and in the nutritionally restricted beef heifer. Ph.D. Dissertation. The National University of Ireland, Dublin 2000.
127. Stewart RE, Spicer LJ, Hamilton TD, Keefer BE. Effects of insulin-like growth factor I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor I and luteinizing hormone. *Journal Animal Science* 1995;73:3719-3731.
128. Tamminga S, Luteijn PA, Meijer RGM. Changes in composition and energy content of live weight loss in dairy cows with time after parturition. *Livestock Production Science* 1997;52:31-38.
129. Thissen JP, Ketelslegers JM, Underwood LE. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocrinology Review* 1994;15:80-101.
130. Thomas MG, Gazal OS, Williams GL, Stariko RL, Keisler DH. Injection of neuropeptide Y into the third cerebroventricle differentially influences pituitary secretion of luteinizing hormone and growth hormone in ovariectomized cows. *Domestic Animal Endocrinology* 1999;16:159-169.
131. Tokuda T, Matsui T, Yano H. Effects of light, and food on plasma leptin concentrations in ewes. *Animal Science* 2000;71:235-242.
132. Vandermeersch-Doizé F, Paquay R. effects of continuous long-term intravenous infusion of long-chain fatty acids on feeding behaviour and blood components of adult sheep. *Appetite* 1984;5:137-146.

133. Veerkamp RF, Beerda B, van der Lende T. Effects of genetic selection for milk yield on energy balance, levels of hormones, and metabolites in lactating cattle, and possible links to reduced fertility. *Livestock Production Science* 2003;83:257-275.
134. Vernon RG, Denis RGP, Soresen A. Signals of adiposity. *Domestic Animal Endocrinology* 2001;21:197-214
135. Vernon RG, Pond CM. Adaptation of maternal adipose tissue to lactation. *Journal of Animal Science* 1997;2:231-241.
136. Vicini JL, Bunomono FC, Veenhuizen JJ, Millar MA, Clemmons DR, Collier RJ. Nutrient balance and stage of lactation affect responses of insulin, insulin-like growth factors I and II, and insulin-like growth factor-binding protein 2 to somatotropin administration in dairy cows. *Journal Nutrition* 1991;121:1656-1664.
137. Villa-Godoy A, Arreguín AA. 1993. Tecnología disponible y principales líneas de investigación para resolver el anestro posparto en vacas de doble propósito. XVI Simposium de Ganadería Tropical, INIFAP-SARH, Veracruz pp 55-84.
138. Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT, Forgwel RL. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1988;71:1063-1072.
139. Villagómez E. Efectos de la dieta y el amamantamiento en la fisiología metabólica y reproductiva posparto de vacas bajo un sistema de doble propósito tropical (tesis de doctorado) México (D.F) México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2000.
140. Vizcarra JA, Wettemann RP, Spitzer JC, Morrison DG. Body condition at parturition and post-partum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin, and non-esterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows. *Journal Animal Science* 1998,76:927-936.

141. Waiters DL, Smith MF, Harms PG, Witbank JN. Effect of steroids and 46 in calf removal on serum luteinizing hormone concentrations in anestrus beef cows. *Theriogenology* 1982;18:349-356.
142. Wather DC, Perks CM, Davis AJ, Denning-Kendall PA. Regulation of insulin-like growth factor I and progesterone synthesis by insulin and growth hormone in the bovine ovary. *Biology of Reproduction* 1995;53:882-889.
143. Webb R, Gosden RG, Telfer EE, Moor RM. Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Journal Animal Science* 1999;68:257-284.
144. Williams GL, Gazal OS, Guzman GA, Stanko RL. Mechanisms regulating suckling-mediated anovulation in the cow. *Animal Reproduction Science* 1996;42:289-297.
145. Williams GL, Kozirowski M, Osborn RG, Kirsch JD, Slinger WD. The postweaning rise of tonic luteinizing hormone secretion in anoestrous cows is not prevented by chronic milking or the physical presence of the calf. *Biology of Reproduction* 1987;36:1079-1084.
146. Williams GL. 1990. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A review. *Journal Animal Science* 1990;68:831.
147. Williams LM, Adam CL, Mercer JG, Moar KM, Slater D, Hunter L, Findlay PA, Hoggard N. Leptin receptor, and neuropeptide Y gene expression in the sheep brain. *Journal Neuroendocrinology* 1999;11:165-169.
148. Witbank MC, Gümen A, Sartori R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 2002;57:21-52.
149. Woodside B, Abizaid A, Walker CD. Changes in leptin levels during lactation: Implications for lactational hyperphagia and anovulation. *Horm Behav* 2000;37:353-365.
150. Wrigth IA, Rhind SM, Whyte TK, Smith AJ. Effects of body condition at calving and feeding level after calving on LH profiles and the duration of postpartum anoestrus period in beef cows. *Animal Production* 1992;55:41.

151. Yavas Y, Walton JS. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology* 2000;54:25-55.
152. Yelich JV, Wettemann RP, Marston TT, Spicer LJ. 1996. Luteinising hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. *Domestic Animal Endocrinology* 1996;13:325-338.
153. Yu WH, Kimura M, Walozewska A, Karanth S, McCann SM. Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci* 1997;94:1023-1028.
154. Zhou YT, Shimabukuro M, Koyama K, Lee Y, Wang MY, Trieu F. Induction by leptin of uncoupling protein-2 and enzymes of fatty acid oxidation. *Proc Natl Acad Sci* 1997;94:6386-6390.

IV. Efecto de la dieta y el amamantamiento sobre las concentraciones séricas de leptina y hormona del crecimiento en vacas de doble propósito, y su relación con el consumo voluntario, la producción y el anestro posparto

INTRODUCCIÓN

El largo periodo de inactividad ovárica posparto, representa uno de los principales obstáculos para mejorar la eficiencia reproductiva de los bovinos en las regiones tropicales (Chenoweth, 1994; Pinheiro y col., 1998). En los sistemas conocidos como de doble propósito, las vacas además de ser ordeñadas, crían al becerro hasta el destete. Debido a tal dualidad productiva, el período posparto se caracteriza por intervalos de anestro posparto aún más largos que los observados en el ganado productor de carne (Escobar y col., 1984; Rosete y col., 1993). Los factores predominantes que intervienen en el reinicio de la actividad ovárica, son la nutrición y el amamantamiento (Dunn y Kaltenbach, 1980; Randel, 1990; Short y col., 1990). De tal manera, el gasto energético que demanda la lactancia puede interferir en el restablecimiento de los ciclos estrales posparto, ya que se ha observado que después del parto las vacas lecheras de alta producción sufren un intenso déficit energético conocido como balance energético negativo (BEN), el cual se desarrolla porque el consumo voluntario es insuficiente para poder cubrir los requerimientos energéticos destinados a la producción láctea (Nebel y McGilliard, 1993). La severidad y duración del balance energético negativo están principalmente asociados al consumo de materia seca y a su incremento a través de la lactancia, pero a su vez también están relacionados con la condición corporal presente al momento del parto (Villa-Godoy y col., 1988). Existen evidencias de que la condición corporal al parto (Osoro y Wright, 1992; Wrigth y col., 1992), los cambios de peso y de condición corporal durante el período posparto (Rutter y col., 1984; Rakestraw y col., 1986), afectan tanto a la duración del anestro como a la tasa de concepción.

En el trópico la mayoría de las explotaciones ganaderas dependen exclusivamente de los pastos nativos o mejorados por lo que existen marcadas deficiencias nutricionales en los animales durante ciertas épocas del año, observándose bajos consumos de energía y proteína por el alto contenido de fibra en dichos forrajes (Poppi y Mc Lennan, 1995). En el ganado lechero, esta situación trae como consecuencia que durante el período posparto las vacas usen sus reservas corporales lipídicas para cubrir tales deficiencias, en detrimento del nivel de condición corporal requerido para el reinicio de la actividad ovárica posparto (Bell, 1995; Vernon y Pond, 1997; Butler, 2000).

La leptina es una proteína de 167 aminoácidos expresada en su mayoría en tejido adiposo, pero también en estómago, ovario, placenta y glándula mamaria que participa en la regulación del consumo alimenticio y el peso corporal; y se ha establecido que circula en el plasma en proporción con la adiposidad corporal (Maffei y col., 1995; Holness y col., 1999; Chan y Mantozoros, 2001; Smith y col., 2001; Smith y Sheffield., 2002; Sayed-Ahmed y col., 2004). En estudios en ovinos y bovinos se ha observado que una restricción alimenticia prolongada, disminuye los niveles circulantes de leptina (Blache y col., 2000; Ehrhardt y col., 2000; Ingvarsen y Boisclair, 2001; León y col., 2004). Algunos estudios hechos en borregos y roedores (Mercer y col., 1996; Williams y col., 1999; McManion y col., 2001), muestran que la leptina tiene efecto sobre la secreción de la hormona del crecimiento (HC). Los efectos recíprocos de la HC para estimular o inhibir la expresión de leptina, dependen del balance energético y del consumo alimenticio del animal (Houseknecht y Portocarrero, 1998). Aparte de los efectos en el metabolismo energético y el apetito, se ha observado que la leptina se encuentra íntimamente involucrada en la regulación de la función reproductiva. Resultados de una investigación sugieren que los efectos en la reproducción, incluyendo el desarrollo embrionario y la fisiología placentaria, están relacionados con la regulación homeostática de la leptina (Coway y Jacobs, 1997). Asimismo, se ha demostrado que la leptina es necesaria para la maduración del eje reproductivo, debido a que en ratones ob/ob se observó que la aplicación exógena de leptina

restaura la pubertad y la fertilidad (Smith y col., 2001). En el ganado bovino se ha reportado que aquellas hembras que se encuentran en una baja condición corporal tienen un pobre desempeño reproductivo, en comparación con las que presentan una condición corporal aceptable (Selk y col., 1988). Por lo tanto, debido a que los niveles de leptina están en proporción de la grasa corporal, se ha especulado que la leptina puede actuar como una señal que le indica al sistema reproductor que existen suficientes reservas corporales para poder soportar exitosamente una concepción y gestación (Holness y col., 1999).

Por otro lado, el papel que juega la HC en los procesos homeorréticos asociados a los ajustes a prioridades metabólicas como son la gestación y la lactancia, son ampliamente conocidos (Bauman y Currie, 1980). Sin embargo, también existe evidencia experimental de que la HC está involucrada en la función reproductiva. De tal manera, Advis y col. (1981) demostraron que una reducción en la concentración sérica de HC retardó el inicio de la pubertad en ratas, lo cual fue mediado en parte por el decremento en el número de receptores ováricos a LH. Simpson y col. (1991) al inmunizar activamente contra el factor liberador de HC, retardaron el inicio de la pubertad en vaquillas. En el caso de animales adultos ciclando, el tratamiento con HC recombinante indujo un incremento en la progesterona circulante durante los dos ciclos estrales subsecuentes al tratamiento (Shemm y col., 1990; Gallo y Block., 1991). En los estudios antes mencionados, se propuso que las acciones de la HC son mediadas por el IGF-1. Se ha sugerido que el IGF-1 puede ser un mediador potencial del estado energético de las vacas sobre la actividad ovárica (Ronge y col., 1988), ya que existen evidencias de que dicho factor juega una papel importante en la esteroidogénesis (Adashi y col., 1985); además se ha observado una reducción en la concentración sérica de IGF en respuesta a una restricción nutricional (Rutter y col., 1989).

En el caso de los sistemas de doble propósito, se emplean distintos esquemas para controlar el amamantamiento y aún así la duración del anestro posparto se prolonga de 126 a 375 días (Rosete y col., 1993; Villa-Godoy y Arreguín, 1993).

Se ha postulado que el déficit energético acentúa el efecto negativo del amamantamiento sobre el comportamiento reproductivo posparto (Williams y col., 1990; Browning y col., 1994).

En los sistemas de doble propósito existe escasa información acerca de los ajustes metabólicos y endocrinos en los que participan la leptina y la hormona de crecimiento durante la lactación temprana, particularmente en vacas que amamantan y son ordeñadas. Por lo tanto en el presente estudio fue determinar en vacas de doble propósito mantenidas en clima tropical, los efectos de la dieta y el amamantamiento sobre las concentraciones séricas de leptina (LEP) y hormona del crecimiento (HC). Colateralmente se analizó la asociación entre dichos cambios con las variables de producción, corporales y reproductivas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 38 vacas recién paridas (con 2 ó más partos) de la cruce entre Bos taurus (Pardo Suizo americano o Holstein) y Bos indicus. Todos los animales se mantuvieron bajo condiciones controladas hasta el segundo estro posparto, siendo asignados al azar a cuatro grupos derivados de un arreglo factorial 2 X 2, cuyos factores principales fueron la alimentación y el amamantamiento.

La combinación de tratamientos fue:

NS-A =Vacas con disponibilidad ad libitum de forraje tropical y amamantamiento del becerro por 7 h al día (n=10).

NS-NA =Vacas con dieta similar a la anterior y sin amamantamiento del becerro (n=9).

S-A =Vacas con disponibilidad ad libitum de forraje tropical más suplementación energética de acuerdo a sus requerimientos de mantenimiento y producción láctea, y amamantamiento del becerro por 7 h al día (n=10).

S-NA =Vacas con dieta similar a la anterior tratamiento tres y sin amamantamiento del becerro (N=9).

Para evitar deficiencias de proteína que enmascararan los efectos de la variación de las dietas en cuanto a su contenido energético, se ofreció a las vacas que consumieron sólo forraje, harina de carne (39% de proteína cruda) en una cantidad, que permitiera aproximadamente un 10 % de rechazo de la misma; la harina de carne fue la principal fuente de proteína del suplemento energético. Con el fin de medir el consumo individual de alimentos, las vacas fueron alojadas en corrales individuales de aproximadamente 7 m² con área techada y piso de concreto, más un espacio sin techo y piso de arena; todos los corrales tuvieron comederos para pasto y para el suplemento por separado y bebederos. Los animales tuvieron libre acceso a sales minerales y agua. Los ingredientes del concentrado energético fueron maíz molido (44.4%), harina de carne (29.65%), pulido de arroz (15.99%), melaza de caña (8%), sal común (0.79%) y sales minerales (Superbayphos de Bayer; 0.79%); el concentrado energético contenía 1.77 ± 0.17 Mcal de energía neta de la lactación (ENI) y 19.8 ± 1.55 % de proteína cruda por kg.

Los becerros de las vacas asignadas a los tratamientos NS-NA y S-NA, fueron separados en un término de tiempo igual o menor a las 6 horas posparto y las vacas fueron ordeñadas dos veces al día; en los tratamientos NS-A y S-A los becerros permanecieron con la vaca por 7 h/día y las vacas fueron ordeñadas una sola vez al día. Con el fin de estimar la leche consumida por el becerro se registró su peso antes y después de cada evento de amamantamiento. La producción de las vacas de los tratamientos NS-A y S-A fue considerada como la leche registrada durante la ordeña a través del estudio más la estimada como consumo del becerro.

Ultrasonografía

Se llevaron a cabo observaciones ultrasonográficas transrectales, mediante un equipo Aloka modelo 210, con un transductor de 5 Mhz con la finalidad de poder observar las estructuras ováricas a lo largo del experimento. Estas observaciones fueron llevadas a cabo cada tercer día a partir del día diez pos parto hasta que las hembras presentaron su segundo estro pos parto, seguido por ovulación. La

ovulación fue determinada como la desaparición súbita de un folículo grande presente en observaciones previas y seguida por un incremento en las concentración de progesterona (mayor a 1 ng/ml) coincidiendo con la detección de un cuerpo lúteo al ultrasonido.

Así mismo los folículos observados fueron categorizados de acuerdo a su diámetro como: pequeños (5 a 7.9 mm), medianos (8 a 9.9 mm) y grandes (≥ 10 mm).

Colección de muestras sanguíneas y análisis de laboratorio

Para la determinación de las hormonas metabólicas y metabolitos, se colectaron muestras sanguíneas de las venas coccígeas cada 5 días, desde el parto hasta el fin del experimento (2° estro posparto). La obtención de la muestra se realizó después de la ordeña matutina, antes de proporcionar a los animales el primer alimento del día (valoración preprandial). La sangre fue refrigerada por 24 h y luego se centrifugó para la obtención del suero, que fue congelado a -20 C hasta su análisis.

Los AGNE fueron cuantificados en el suero mediante una técnica enzimática colorimétrica por reacción alterna de la acyl-CoA sintetasa/acyl-CoA oxidasa (Wako Ch. GmbH; Cat. 994-75409, Lot #:12K7-1), adaptada a un equipo micro metodológico (Cobas Mira).

El nitrógeno ureíco sérico se determinó mediante una técnica enzimática colorimétrica, adaptada al mismo equipo, con estuches comerciales (Diagnostic Chemicals Limited, Canadá; Cat: 275-06). El coeficiente de variación interensayos (n=12) en la medición de los AGNE y NUS fué menor al 2%.

La insulina se cuantificó mediante un radioinmunoensayo (RIA) comercial de fase sólida (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA; Cat: TKIN5) y validado para bovinos por Reimers et al (60); los coeficientes de variación intraensayo e interensayo (n=10) fueron de 8.5 y 10 % respectivamente.

La triyodotironina (T₃) fue analizada en el suero mediante un RIA en un sistema de doble anticuerpo, modificado para bovinos, con suero homólogo en la curva estándar (Valverde y col.1989). El sistema tiene una reproducibilidad y exactitud

de 90 a 95 % en el intervalo de 15 a 30 ng por dl. Los coeficientes de variación intra e interensayo (n=16) fueron de 9 y 12.5 % respectivamente. La tiroxina (T₄) sérica fue cuantificada mediante un RIA comercial en un sistema de fase sólida (ICN, Biomedicals; Cat. 07-166170); los coeficientes de variación intraensayo e interensayo (n=10) fueron de 4.6 y 10 % respectivamente. El cociente de T₃ con T₄ se determinó con valores convertidos de ng/dl (T₃) y ug/dl (T₄) a nanomoles/l.

Análisis de leptina y hormona del crecimiento en suero

Las muestras de suero obtenidas a lo largo de todo el experimento fueron utilizadas para determinar las concentraciones séricas de leptina y hormona del crecimiento, de acuerdo a los siguientes análisis:

Las concentraciones séricas de leptina fueron medidas utilizando un kit RIA multiespecies de Linco Research Inc. (St. Louis, MO, USA), el cual ya ha sido utilizado en previos estudios en bovinos, con resultados satisfactorios (Ren y col., 2002; Sansinanea y col., 2001). El coeficiente de variación interensayo e intraensayo fue de 9.1% y 3.7% respectivamente. La unión máxima fue de 42 ± 2.9 % y uniones inespecíficas de 1.3 ± .36 %.

La hormona del crecimiento bovina (HCb) fue analizada en suero mediante un RIA en un sistema de doble anticuerpo, con HCb extraída y purificada para yodar y para la curva estándar y antisuero (Ac) contra HCb obtenido en mono, los cuales fueron donados por el INRA. El sistema se validó en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas de la Nutrición Salvador Zubirán y se encuentra descrito en el anexo 1. El coeficiente de variación intra e inter ensayo fue de 4.8% y 9.2%.

Toma de muestras y análisis de alimento y leche.

Se obtuvieron muestras diarias del pasto ofrecido y del rechazado para determinación de su contenido de materia seca (MS); a una alícuota semanal de MS se le determinó su composición química mediante análisis proximal (Tejada, 1985). Al final del experimento se determinó el total de nutrientes digestibles del pasto, a partir de alícuotas semanales mediante la técnica de digestibilidad in vitro

de la materia orgánica (DIVMO; Moore y Mott, 1974) y el contenido de proteína total del pasto mediante un equipo Tecator previamente calibrado.

Para determinar la composición de la leche, se tomaron cada 7 días alícuotas con aproximadamente el 1 % de la producción de leche total de cada animal, mezclada en una cubeta de la ordeña matutina y se analizaron en forma individual para contenido de grasa con un equipo Milkotester previamente calibrado y para el contenido de proteína mediante la técnica Kjeldahl (Tejada, 1985).

Estimación del balance energético.

Se estimó el balance energético diario de todos los animales durante su permanencia en el experimento, a partir de la producción diaria de leche y su contenido de grasa de la muestra semanal, el peso corporal estimado por interpolación de los pesajes quincenales, el consumo diario de MS y la energía neta de la lactación (ENI), calculada en el consumo diario de pasto, suplemento energético y la harina de carne consumida por las vacas de los tratamientos NS-A y NS-NA.

VARIABLES DE RESPUESTA Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Debido a que las vacas salieron de el estudio después de la presentación del segundo estro posparto, el cual varió de manera considerable en función del tratamiento, fue necesario dividir el análisis en tres períodos de 30 días cada uno: **PER30** = 0 a 30 días; **PER60** = 31 a 60días y **PER90** = 61 a 90 días. Para cada uno de los períodos se realizó un análisis de varianza con observaciones repetidas (Littell y col., 1998), usando el procedimiento de modelo lineal (SAS, 1989). En el modelo se incluyeron las dobles interacciones así como la triple interaccións entre los efectos principales (Cuadro 1 y 2).

Los contrastes entre las medias existentes (leptina y hormona de crecimiento), se realizaron por la prueba de comparaciones múltiples de medios mínimos cuadráticos (SAS, 1989). La distribución de los animales por raza y nivel de sangre en las distintas combinaciones de tratamientos fue estadísticamente similar ($P > .05$), por lo cual no se incluyó la raza como factor en los análisis estadísticos. Mediante correlaciones simples (SAS, 1989), se examinó la asociación de las

variables endocrinológicas y metabólicas con las variables de producción y corporales. Solamente aquellas correlaciones que fueron igual o más altas de .20 y con un valor de significancia de $P < .01$ fueron reportado.

RESULTADOS

En los cuadros 1 y 3 se observa que durante los PER 60 y 90 la concentración de leptina fue afectada por la dieta, ya que las vacas que recibieron suplementación energética presentaron valores más bajos ($P < .05$) que aquéllas que consumieron exclusivamente pasto. Asimismo el amamantamiento del becerro redujo la leptina sérica ($P < .01$) durante los PER 30, 60 y 90. Durante los periodos PER 30, 60 y 90, se observaron interacciones significativas entre amamantamiento y dieta sobre la concentración sérica de leptina ($P < .01$; Cuadro 1). Durante el PER30, el grupo NS-A presentó la concentración de leptina más baja con respecto a los otros grupos (Cuadro 3). De igual forma en el PER60 los grupos amamantando (NS-A y S-A) presentaron la concentración de leptina más baja con respecto a los grupos sin amamantar (NS-NA y S-NA), los cuales fueron diferentes entre sí (Cuadro 3; $P < .05$). Finalmente en el PER 90 el grupo NS-A tuvo la menor concentración de leptina; y en contraste el grupo NS-NA exhibió la mayor.

La concentración sérica de leptina se asoció positivamente con el consumo total de materia seca y con la CCP; y negativamente con los días a presentación de primer estro y cuerpo lúteo (ver cuadro 5).

En el cuadro 5 se muestran las asociaciones entre la leptina y las variables productivas y reproductivas, dentro de cada grupo durante los 90 días posparto. Las asociaciones fueron las siguientes:

En el grupo NS-A, la leptina sérica se asoció de manera positiva con la CCP y con el tiempo de presentación de folículos pequeños. Asimismo en el grupo NS-NA se encontró una asociación positiva de la leptina con el tiempo de presentación de folículos pequeños, tiempo de presentación de folículos medianos, leche total

(becerro+ordeñada) y negativamente con el número de oleadas foliculares a los 80 dpp, grasa en leche diaria y presentación de primer estro y cuerpo lúteo.

La concentración de leptina dentro del grupo S-A se asoció positivamente con el número de oleadas foliculares a los 30 días pos parto, número de oleadas foliculares a los 80 días pos parto, CCP y negativamente con tiempo de presentación de folículos medianos y grandes y presentación de primer estro. En el grupo S-NA, existió una correlación negativa entre la leptina sérica con el número de oleadas foliculares a los 30 días pos parto y con el número de ondas foliculares en un ciclo estral.

Por otro lado, las vacas que recibieron suplementación energética presentaron una menor concentración circulante de HC durante todos los períodos analizados en comparación con los grupos no suplementados ($P < .01$; Cuadro 4). El amamantamiento incrementó la concentración sérica de HC únicamente durante el PER 90. Durante el PER60, hubo efecto de interacción entre dieta y amamantamiento (Cuadro 2), y se observó que en los grupos amamantado, aquel que consumió exclusivamente pasto tuvo la concentración más alta de HC, en contraste con aquel que recibió suplemento, el cual obtuvo la concentración más baja; los grupos sin amamantar presentaron valores estadísticamente similares (Cuadro 4).

En el cuadro 6, se muestran las correlaciones encontradas entre la concentración de HC y el resto de variables estadísticamente significativas ($P < .0001$) durante los primeros 100 días posparto. Las asociaciones fueron las siguientes: con el consumo total de materia seca, Mcal/día pasto+suplemento, balance energético, AGNE, número de oleadas posparto, leche total (becerro+ordeñada), condición corporal semanal, días a primer estro, días a primer CL, tiempo de presentación folículo >10 mm y grasa al día. Al revisar las asociaciones entre la HC, la leptina sérica y las variables corporales, endocrinológicas y reproductivas se observó que los valores obtenidos durante todo el período experimental eran parecidos a los revisados en cada período y/o, grupo por lo que no se presentan ni discuten.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio forman parte de un proyecto más amplio, diseñado para determinar en vacas de doble propósito mantenidas en clima tropical, los efectos ejercidos de la suplementación energética y el amamantamiento sobre el comportamiento productivo y reproductivo durante el anestro posparto (Villagómez, 2000). En particular este estudio fue planteado para analizar los ajustes de la leptina y de la hormona del crecimiento que se presentan en respuesta a cambios experimentales controlados, con respecto a la disponibilidad de energía o al gasto energético impuesto por la lactación de vacas de doble propósito. Por lo tanto a lo largo de la discusión se hará referencia, cuando sea pertinente, de aquellos aspectos sobre las variables corporales, de producción y reproducción que complementen la presente información.

Leptina – variables productivas

Durante la mayor parte del presente estudio se observó una menor concentración de leptina en las vacas que recibieron suplementación energética en comparación de las que consumieron exclusivamente pasto. De igual forma, Sansinanea y col. (2001) observaron que el estado energético del animal se asoció a la concentración sérica de leptina en vacas lecheras, en respuesta a cambios en la dieta. Sin embargo, la respuesta de la leptina a cambios en el suministro de nutrimentos a bovinos puede diferir, dependiendo del estado fisiológico en que el animal se encuentre (Chelikani y col., 2004). De tal manera, en un estudio realizado con vacas lecheras durante la lactancia temprana, Holtenius y col. (2003) observaron que las concentraciones plasmáticas de leptina no se asociaron de manera directa con la adiposidad, lo que sugiere que durante la lactación se presentan cambios en la regulación de la secreción de la hormona. Existe evidencia de que dichos cambios pueden estar asociados al balance energético,

ya que Liefers y col., (2003) estudiando vacas lecheras durante la lactación temprana, observaron que aquellas que presentaron un balance energético positivo (BEP), tuvieron una concentración sanguínea de leptina más alta en comparación con las que sufrían BEN.

En el presente estudio, se observó de manera gráfica, que las concentraciones séricas de leptina al parto y durante las primeras semanas posparto permanecieron bajas y posteriormente se incrementaron de manera gradual a medida que la lactancia progresó (Fig. 1 y 2). El perfil endocrino antes mencionado fue más notorio en los grupos que amamantaron al becerro, independientemente de la dieta que recibieron, debido en parte, a que la CC en la mayoría de estas vacas permaneció baja hasta el final del estudio. En contraste las vacas no amamantando presentaron su primer estro posparto durante las primeras semanas (Villagómez, 2000), por lo que con base al diseño experimental, fueron reemplazadas por vacas recién paridas. En base a lo anterior y acorde con el presente trabajo, estudios hechos en roedores, humanos (Kawai y col., 1997; Brogan y col., 1999, Hoggard y col., 2001) y vacas lecheras o de carne (Kadokawa y col., 2000; Block y col., 2001), han demostrado, que la transición de la gestación a la lactación es acompañada por una disminución de las concentraciones circulantes de leptina y un posterior incremento de las mismas a medida que avanza el período posparto. No se conoce con exactitud de que manera se lleva cabo la dramática reducción en la concentración de leptina en vacas alrededor del parto. A diferencia de los humanos, en los cuales el origen de la leptina es placentario; estudios en ovinos y bovinos, han demostrado que la leptina es sintetizada en muy pequeñas cantidades en dicho tejido (Ehrhardt y col., 2000; Block y col., 2001; Reitman y col., 2002). Por lo anterior, se sugiere que la alta concentración de leptina observada durante la gestación de los bovinos puede deberse a un estado de resistencia a la misma, parecido a aquél que ocurre durante la obesidad, y que dicho mecanismo se modifica durante las primeras semanas posparto (Holness y col., 1999). Sin embargo, Block y col. (2001), observaron que la abundancia del mRNA que codifica para leptina en el tejido

subcutáneo de vacas lecheras se redujo en aproximadamente un 42 % después del parto en comparación de los valores observados durante la gestación; dicha reducción se mantuvo durante las primeras siete semanas posparto, independientemente de presentarse una mejora en el balance energético de los animales. Se ha postulado que la disminución de la concentración sanguínea de leptina en los días cercanos al parto, pudiera ser una estrategia homeorrética para promover un mayor consumo voluntario en la vaca dirigido a satisfacer la síntesis láctea, disminuyendo a su vez el gasto energético en funciones no vitales como son la reproducción y la inmunidad (Brogan y col., 1999; Block y col., 2001). Es posible que la regulación posparto de la leptina se ejerza a nivel hipotálmico, ya que resultados de estudios en roedores indican que la disminución en la concentración sanguínea de la misma, producto de una restricción alimenticia, estimula la síntesis de neuropéptidos orexigénicos como el NPY, el cual es un potente estimulador del apetito y a su vez se presenta una disminución en la síntesis de neuropéptidos anorexigénicos como la proopiomelanocortina (POMC), los cuales ejercen una función inhibitoria del apetito (Ahima y Flier, 2000; Ingvarsten y Boisclair, 2001).

En el presente estudio se observó una alta asociación positiva de la leptina con la condición corporal al parto (CCP). Kadokawa y col. (2000), señalan que los cambios en la secreción de leptina después del parto, posiblemente son modulados por los efectos combinados del BE y de la condición corporal. En concordancia a lo anterior, Liefers y col. (2003) al estudiar vacas lecheras durante el periodo posparto, observaron que aquellas en BEP tuvieron una menor movilización de tejido graso y por ende una mayor concentración de leptina plasmática en comparación de las que sufrieron BEN. Sin embargo, en el presente estudio, no se observó una asociación entre la leptina y la CC semanal. Resultados de investigaciones realizadas en mujeres amamantando indican que durante la lactancia, la concentración de leptina no refleja las reservas grasas debido a que se presenta un estado de resistencia o de desensibilización de los receptores de la misma a nivel hipotalámico (Lage y col., 1999). No obstante, los

resultados de este trabajo contrastan con algunos estudios realizados con vacas lecheras en los que sí se ha observado una relación positiva entre la leptina, la CC y (o) el grado de adiposidad durante distintos momentos de la lactación (Chilliard y col., 1998; Ehrhardt y col., 2000; Reist y col., 2003). Una posible explicación a las diferencias entre estudios, es que la recuperación en los niveles circulantes de leptina después del parto, como se mencionó antes, depende de la severidad y duración del BEN así como de los cambios en la condición corporal observados durante este período. Como se puede apreciar en las figura 1 y 2, a pesar de que el perfil de leptina presentó un incremento gradual y constante en todas las vacas que amamantaron al becerro, las que no recibieron energía suplementaria tuvieron una dramática pérdida de puntos de CC y en contraste las que sí la recibieron mantuvieron su CC a través de los días posparto. Asimismo en lo grupos sin becerro se observa que los cambios en CC estuvieron determinados por la dieta que recibieron. Entonces la combinación de los tratamientos determinó los cambios en la CC que se presentaron en cada uno de los grupos y, no así, en el perfil sanguíneo de leptina observado a través del período posparto. Por lo tanto, los resultados del presente estudio confirman la idea de que durante el inicio de la lactancia, la variación de la concentración sanguínea de leptina responde más a mecanismos de regulación homeorrética para favorecer el consumo de energía, destinado a la producción láctea, que a los cambios en la adiposidad que sufren las vacas lactantes.

Por otro lado, se observó una asociación positiva entre la leptina en suero y el consumo total de MS durante los primeros 120 días posparto, lo cual coincide con lo encontrado por Liefers y col., (2003), quienes observaron en vacas Holstein lactantes una correlación positiva entre el consumo de MS y la concentración de leptina. Lo anterior contrasta con lo observado en animales sin gestar ni lactar, en los cuales generalmente se presenta una asociación negativa de las concentraciones de leptina con el consumo total de MS, lo cual se atribuye a que la leptina en estos animales inhibe al NPY, el cual es un estimulador potente del apetito a nivel hipotalámico (Dyer y col., 1997; Henry y col., 1999). Entonces como

se discutió anteriormente, durante la lactancia temprana, las concentraciones plasmáticas de leptina no se asocian de manera directa con cambios en la CC; siendo la disponibilidad de energía y (o) la recuperación de la capacidad del consumo posparto determinantes importantes de la concentración de leptina en las vacas durante el período posparto.

El amamantamiento del becerro redujo la leptina sérica durante los períodos en que se pudieron analizar todos los grupos (0-90 dpp). Asimismo, durante los periodos analizados se observó un efecto de interacción entre amamantamiento y la dieta sobre la concentración sérica de leptina ($P < .01$). Durante el PER30, el grupo NS-A presentó la concentración de leptina más baja con respecto a los otros grupos, los cuales fueron estadísticamente similares y en el PER 60 el grupo NS-A tuvo la menor concentración y en contraste el NS-NA la mayor. Cabe recordar que el grupo que presentó la menor concentración de leptina fue amamantado y ordeñado pero no recibió suplementación energética; por lo que durante los períodos analizados presentó un marcado balance energético negativo que se reflejó en una marcada pérdida de CC (Fig. 1). No se encontró información en la literatura en la que se revise la respuesta de la leptina al amamantamiento en bovinos. Sin embargo, Block y col. (2001) observaron que vacas en período posparto sin lactar se recuperaron más rápido del déficit energético y presentaron el doble de concentración de leptina en comparación de aquellas que si fueron ordeñadas. Además, en el estudio antes mencionado se observó que la eliminación del alto costo energético que representa la lactancia, provocó un incremento en la concentración plasmática de insulina, así como un concomitante incremento en la adiposidad (Block y col., 2003).

Estudios en roedores sugieren que la concentración de leptina circulante puede estar asociada al número de crías que amamantan a la vez, ya que se observó que el amamantamiento de 8 crías en comparación de dos, era capaz de inhibir las concentraciones de leptina (Brogan y col., 1999). Los autores mencionan que existen dos posibles interpretaciones a sus resultados; la primera es que el amamantamiento de numerosas crías demande una mayor producción láctea, lo

que conlleve a un estado BEN de la madre y la segunda es que el estímulo de amamantamiento de numerosas crías pudiera involucrar impulsos neuronales capaces de suprimir la producción de leptina, independientemente de los efectos del BE. Sin embargo, en otro estudio con la misma especie, el estímulo del amamantamiento en ausencia de producción láctea o de un BEN; no resultó en ninguna supresión de los niveles circulantes de leptina (Brogan y col., 1999) Por lo tanto, el efecto del amamantamiento sobre la leptina así como su interacción con la dieta observados en el presente estudio pueden ser explicados, al menos de manera parcial, por aspectos asociados al estado energético de los animales, más que a un efecto directo del becerro sobre la síntesis y (o) secreción de la hormona. Sin embargo, en el caso de los rumiantes, no existe información acerca de este fenómeno, por lo que se requieren estudios a futuro que puedan aclarar este concepto.

Leptina – variables reproductivas

De manera general las correlaciones entre la concentración de leptina y la variables reproductivas indicaron que a una mayor concentración de la hormona se reducen los días a la presentación de los primeros folículos medianos y grandes; así como de la aparición del primer CL y estro, además de incrementarse el número de oleadas en diversos períodos (Ver Cuadro 5). Aunado a lo anterior, en las figuras 1 y 2, se puede apreciar que, independientemente de los tratamientos y consecuentemente de los días a la aparición del primer CL en cada grupo, éste evento se presentó en los días cercanos a una concentración pico de el perfil de la leptina observada en cada uno de los grupos. León y col. (2004), trabajando con vaquillas de doble propósito de clima tropical sometidas a restricción nutricional y posterior realimentación, observó que el inicio de la ciclicidad en vaquillas fue precedido por un aumento significativo en las concentraciones de leptina, insulina e IGF-1, lo cual se asoció a un incremento del reclutamiento y crecimiento folicular. En el mismo estudio se observó que la

restricción nutricional afecta significativamente la dinámica folicular. Por lo tanto, es evidente que en situaciones de estrés nutricional y (o) lactacional, el reinicio de la actividad ovárica sea precedida por un incremento de la concentración sanguínea de leptina, que en el caso de vacas lactantes, se aprecia como la concentración más alta observada durante un período de varias semanas. Resultados de estudios en humanos, han permitido postular que la leptina juega un papel como factor permisivo durante el ciclo ovárico, ejerciendo sus acciones de regulación a nivel hipotálmico, hipofisiario y gonadal. Lo anterior deriva de que diversos estudios han demostrado que la leptina estimula o ejerce una acción permisiva sobre la liberación de GnRH a nivel hipotálmico y que existen receptores para la leptina en áreas involucradas en la regulación del consumo voluntario, la reproducción y el crecimiento (Casanueva y Dieguez, 1999). Se piensa que el NPY es el mediador primario de la acción de la leptina a nivel hipotálmico (Kalra y Crowley, 1992). En cuanto a la hipófisis, estudios *in vitro* indican que la leptina, estimula la liberación de LH y FSH en dicha glándula (Yu et al., 1997). Además, en estudios *in vivo* realizados en monos y ratas sujetos a restricción alimenticia, se observó que la leptina exógena previno la reducción en la secreción pulsátil de la LH (Fin y col., 1998; Nagatani y col., 1998). Finalmente, varios autores mencionan que la leptina posiblemente ejerce acciones a nivel ovárico, ya que se han encontrado receptores de leptina en células de la teca y de la granulosa (Duggal y col., 2000; Spicer, 2001; Smith y col., 2002). Por lo tanto, los resultados del presente estudio indican que al igual que en vacas lecheras, en las de doble propósito, una vez resuelto el déficit energético que demanda la lactación, la leptina ejerce una acción permisiva para reiniciar la actividad ovárica posparto.

Hormona del crecimiento (HC) – variables productivas

En el presente estudio se observó que la suplementación energética disminuyó la concentración sérica de HC durante todos los períodos analizados. Estos

resultados concuerdan con los de estudios realizados en vacas lecheras de alta producción, en los cuales vacas lactando y con un mayor consumo de energía presentan una menor concentración de HC en comparación con las que presentan un consumo insuficiente de energía (Beerepoot y col., 1991 Bar-Peled y col., 1995). Es ampliamente conocido que la suplementación energética atenúa de cierta forma el BEN, ya que dietas altas en energía antes y (o) después del parto promueven una recuperación más rápida del BEP que aquéllas con dietas bajas en energía (Beerepoot y col., 1991 Villagómez, 2000; Doepel y col., 2002). Asimismo, se sabe a partir de resultados de estudios *in vitro* e *in vivo* en animales lactantes, que el incremento de la HC durante el inicio de la lactación promueve una intensa movilización de los depósitos grasos y de proteína muscular para favorecer la absorción de los nutrimentos en la glándula mamaria y así proveer sustrato suficiente para la síntesis láctea (Bauman y col., 1988; Etherton and Bauman, 1998). Los efectos de la HC incluyen acciones catabólicas rápidas y directas (aumento de la lipólisis, disminución de la lipogénesis y reducción del transporte de glucosa) y acciones anabólicas indirectas (vía IGF-1 y factores de crecimiento). Entonces, la magnitud de la concentración de HC observada durante el período posparto puede reflejar el estado energético del animal, en función del grado de BE del animal y consecuentemente, de la extensión de la remoción de sus reservas corporales para satisfacer las demandas de la lactación.

En el PER60 se observó una interacción entre la dieta y el amamantamiento, las vacas amamantando y que consumieron exclusivamente pasto presentaron la concentración más alta de HC y en contraste las amamantantes que fueron suplementadas con energía, la más baja; los grupos sin becerro tuvieron concentraciones de HC estadísticamente similares. El efecto de interacción se perdió en el siguiente período analizado, aunque en este lapso el amamantamiento aumentó la concentración sérica de HC. Cabe mencionar, que en el presente estudio las vacas que amamantaron al becerro presentaron un mayor consumo voluntario en comparación de las que destetaron el becerro inmediatamente después del parto (Villagómez, 2000). Sin embargo, de los grupos

con becerro el que recibió energía suplementaria presentó una rápida recuperación del BE y en contraste, el que consumió exclusivamente pasto permaneció en BEN durante todos los períodos analizados. Por lo tanto, a pesar de la promoción del consumo voluntario ejercida por el amamantamiento, observada en este estudio y en otros (Burgwald-Balstad y col., 1995), las vacas que consumieron sólo pasto no lograron satisfacer los requerimientos de energía demandados por la lactación. En consecuencia estas vacas sufrieron una mayor movilización de sus reservas lipídicas, presuntamente mediadas por un marcado incremento en la concentración sérica de HC, la cual llegó a los 13.32 ng/ml en el PER90. Por otro lado, se ha documentado que la intensidad del amamantamiento es un importante determinante en el comportamiento lactacional de distintas especies, debido a que afecta la secreción de algunas hormonas responsables de la galactopoiésis (Tucker, 1988). Se sabe que la HC tiene una función galactopoiética, pero se desconoce si es afectada exclusivamente por el amamantamiento. En algunos estudios se ha observado que el amamantamiento induce una disminución de la hormona del crecimiento en la pituitaria anterior de cabras y ratas (Grosvenor y col., 1968; Hart, 1974). Sin embargo, ni el amamantamiento, ni el ordeño alteraron la concentración sanguínea de la hormona del crecimiento en vacas durante el período posparto (Tucker, 1971; Koprowski y Tucker, 1973). Por lo tanto los resultados del presente estudio indican que la variación en la concentración sérica de HC se debió a los cambios en el estado energético de los animales lactantes debido a la dieta; y que el amamantamiento interactuó modificando dicha variación.

Durante la mayoría del estudio se observó una asociación negativa entre la concentración sérica de HC con el consumo total energía (Mcal/día) y el BE. Lo anterior concuerda con estudios realizados en vacas lecheras de alta producción, en los cuales se ha observado que en vacas y vaquillas lecheras sujetas a diversos tratamientos, que conllevan a una disminución en el consumo de energía, se presenta una correlación negativa entre la concentración sérica de HC con el BE (Bauman y col., 1988; Beerepoot y col., 1991; Armstrong y Benoit, 1996;

Bossis y col., 1999). Como ha sido ampliamente discutido, después del parto las vacas en lactación sufren un intenso déficit energético, debido a que la actividad metabólica en la glándula mamaria incrementa los requerimientos energéticos y el consumo voluntario es insuficiente para poder cubrirlos. (Bell, 1995; Vernon y Pond, 1997). Asimismo, al parecer el déficit de energía, provoca una elevación del NPY y en algunos estudios en bovinos y ovinos se han observado receptores para HC en neuronas productoras de NPY; lo anterior sugiere que la HC está involucrada en los cambios de la expresión del neuropéptido (McMahon y col., 2001; Jorritsma y col., 2003). Cabe mencionar, que en el presente estudio el BE fue afectado por la energía contenida en la dieta y tuvo una correlación positiva con los consumos de MS ($r = 0.77$) y de ENI ($r = 0.87$) (Villagómez, 2000). Entonces, al igual que en vacas lecheras (Zurek y col. 1995; Villa-Godoy, 2000), el consumo energético de vacas de doble propósito explica la mayor parte de la variación del BE. Asimismo, el nadir del BE ha sido señalado como un factor importante que impacta el comportamiento metabólico y reproductivo de las vacas lecheras y que tanto su magnitud como tiempo de ocurrencia dependen enteramente del consumo voluntario de los animales (Nebel y McGilliard, 1993). En el presente estudio, los días al nadir y la magnitud del balance energético negativo durante los primeros 60 días posparto fueron afectados por la dieta, puesto que las vacas suplementadas con energía presentaron el nadir antes de los 20 d posparto y con una menor magnitud (12 ± 6 d y $- 2.91 \pm .87$ Mcal, respectivamente) que las vacas que no recibieron suplementación energética (47 ± 5 d y $- 11.74 \pm .87$ Mcal, respectivamente (Villagómez, 2000). Por lo tanto, la asociación negativa entre la concentración sérica de HC con el consumo de energía y el BE (Mcal/d) pueden ser explicadas nuevamente por la mediación de la hormona en los ajustes dirigidos a la rápida movilización de reservas corporales, particularmente en vacas con un consumo insuficiente de la energía requerida para la lactación. Lo anterior confirma, que independientemente de la magnitud de la producción de leche, en las vacas doble propósito, la HC interviene en la

regulación homeorrética para satisfacer las demandas de energía requeridas durante el inicio de la lactancia.

Durante los primeros sesenta días, se observó una correlación negativa entre la HC con la condición corporal semanal y la proteína semanal en leche. Como se puede observar en las figuras 3 y 4, el grupo NS-A que durante las primeras semanas perdió puntos de CC de una manera sostenida y en contraste el S-NA que recuperó rápidamente puntos de CC, mostraron una curva de CC que fue acompañada por un perfil de HC que presentó una evidente dirección contraria. Cabe mencionar que el manejo nutricional preparto permitió obtener una CC al parto de 3.4 ± 0.6 unidades como promedio de todos los animales estudiados. Sin embargo, a pesar de que el grupo NS A, como se mencionó antes, presentó un mayor consumo de pasto que las NS-NA, continuó perdiendo reservas corporales a través de los primeros 60 d posparto. Dichas pérdidas fueron evidentemente acentuadas por el amamantamiento del becerro, aún después de los 60 días posparto, ya que en contraste, las vacas no suplementadas pero que no tenían becerro, lograron mantener la condición corporal, la cual registró una ligera pérdida durante los primeros 60 días posparto. Tamminga y col. (1997), observaron que en vacas lecheras durante la lactancia temprana, la movilización de grasa y proteína al día, es de .56 Kg. y de 0.04 Kg respectivamente De tal manera, cuando las vacas se encuentran en un marcado estado de subalimentación, grandes cantidades de proteína corporal pueden ser perdidas durante la lactación temprana (Oldham, 1984). Se ha hipotetizado que durante el posparto temprano, la velocidad de recambio de proteína tisular en la vaca, es lo suficientemente alta para contrarrestar las deficiencias de corto plazo en la absorción de aminoácidos. (Oldham y col., 1980). Sin embargo, la capacidad del animal para mantener la producción de proteína en la leche a expensas de su proteína corporal durante períodos más largos, es limitada (Coppock y col., 1968). Cabe mencionar, que el grupo de vacas NS-A que sufrió las mayores pérdidas de las reservas corporales, produjo leche con menor concentración de proteína en comparación del resto de los grupos (Villagómez, 2000). Por lo tanto, es evidente

que la HC media los ajustes homeorréticos que se presentan durante la lactación, particularmente en vacas con un consumo insuficiente de la energía como fue el caso de las vacas del grupo NS A, promoviendo una intensa movilización de las reservas de grasa y de proteína, indicado por su correlación negativa con la CC, lo cual derivó en un agotamiento relativo de las mismas que impidió a estas vacas mantener la concentración de proteína en leche.

HC – variables reproductivas

Durante los primeros cien días la HC se asoció de manera negativa con el tamaño del folículo grande, el número de oleadas posparto y de manera directa con los días a la presentación del primer folículo grande, al primer cuerpo lúteo y al primer celo. La HC no es considerada de forma clásica como una hormona reproductiva, aunque se ha observado que participa en aspectos relacionados a la fisiología ovárica como son a) estímulo de folículos pequeños y reducción de la atresia folicular y b) estímulo de los últimos estadios de la foliculogénesis, luteinización y selección folicular (Hull y Harvey, 2001). Sin embargo, durante el período posparto temprano, particularmente durante el BEN, el aumento en la concentración sanguínea de HC es acompañado generalmente por una disminución del IGF1. Existe amplia evidencia experimental que indica que las acciones de la HC sobre la función reproductiva son mediadas por el IGF-1, además de que el IGF-1 puede ser una señal potencial del estado energético de las vacas sobre la actividad ovárica (Adashi y col., 1985; Ronge y col., 1988; Webb y col., 1999; Bossis y col., 2000; Stagg, 2000; León y col., 2004). Asimismo una concentración disminuida de IGF-1 ha sido asociada con un mayor intervalo posparto (Rutter y col., 1989; Nugent y col., 1993; Roberts y col., 1997). No obstante que en el presente estudio no se analizó el IGF1, considerando lo antes discutido se puede pensar que las asociaciones entre la HC sérica y las variables reproductivas observadas en el presente estudio, se debieron principalmente a la intensidad y (o) a el tiempo en que las vacas estuvieron en déficit energético y que a medida que las vacas dejan

de depender de sus reservas corporales para mantener la lactación, se van presentado los eventos reproductivos previos a la primera ovulación posparto.

Leptina – HC

Contrario a lo encontrado en estudios *in vitro* (Shaffer y col., 1998; Zieba y col., 2003), en los cuales se encontró una asociación entre las concentraciones de leptina y la HC; en el presente estudio no se observó asociación alguna entre la leptina y HC, lo cual está de acuerdo con estudios *in vivo* realizados en ovinos y bovinos (Morrison y col., 2002; Block y col., 2003). Algunos autores, sugieren que la reducción en los niveles de insulina en plasma en el periodo posparto, podrían ser parcialmente responsables de la caída en las concentraciones séricas de leptina (Block y col., 2003).

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio apoyan la idea de que durante el inicio de la lactancia, la variación de la concentración sanguínea de leptina responde más a mecanismos de regulación homeorrética para promover un mayor consumo de energía, destinado a la producción láctea, que a los cambios en la adiposidad que sufren las vacas lactantes.

Las correlaciones entre la concentración de leptina y las variables reproductivas indicaron que a una mayor concentración de la hormona se reducen los días a la presentación de los primeros folículos medianos y grandes; así como de la aparición del primer CL y estro, además de incrementarse el número de oleadas en diversos periodos. Asimismo se observó que, independientemente de los tratamientos y consecuentemente de los días a la aparición del primer CL en cada grupo, éste evento reproductivo se presentó en los días cercanos a una concentración pico de el perfil de la leptina observado en cada uno. Derivado de lo anterior, se puede concluir que en vacas de doble propósito en anestro posparto,

la leptina está involucrada en el control homeorrético que se presenta durante el inicio de la lactancia y una vez resueltas las carencias de energía por parte de los animales, la hormona ejerce una acción permisiva para el reinicio de la actividad ovárica posparto.

La suplementación energética disminuyó la concentración sérica de HC durante todo el período posparto y esta última se asoció de manera negativa con el consumo energía, el BE, los cambios de CC y la proteína en leche. Por lo tanto, en vacas de doble propósito la HC media los ajustes homeorréticos que se presentan durante la lactación y en vacas que consumen exclusivamente pasto, promueve una intensa movilización de las reservas de grasa y de proteína, lo cual deriva en un agotamiento relativo de las mismas que impide mantener la concentración de proteína en leche.

La HC se asoció de manera negativa con el tamaño del folículo grande, el número de oleadas posparto y de manera positiva con los días a la presentación del primer folículo grande, al primer cuerpo lúteo y al primer celo. Las asociaciones entre la HC sérica y las variables reproductivas observadas en el presente estudio, se debieron principalmente a la intensidad y (o) a el tiempo en que las vacas estuvieron en déficit energético y sugieren que a medida que las vacas dejan de depender de sus reservas corporales para mantener la lactación, se van presentado los eventos reproductivos que anteceden a la primera ovulación posparto.

Se observó una interacción del amamantamiento con la dieta, la cual disminuyó la leptina sérica y en contraste aumentó la HC sérica en vacas que no recibieron suplementación energética, por lo que es evidente que durante el período posparto dichas hormonas responden más a un aporte insuficiente de la energía requerida para la lactación que a un efecto directo del becerro sobre la síntesis y (o) secreción de las mismas.

LITERATURA CITADA

1. Adashi EY, Resnick CE, Svobova ME, Van Wyk JJ. Somatomedin C enhances induction of luteinizing hormone receptors by follicle-stimulating hormone in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 1985;116:2369.
2. Advis JP, Smith S, White S, Ojeda SR. Activation of growth hormone short-loop negative feedback delays puberty in the female rat. *Endocrinology* 1981;108:1343.
3. Ahima RS y Flier JS. Leptin. *Annu. Rev. Physiol.* 2000;62:413-437.
4. Armstrong JD, Benoit AM. Paracrine, autocrine, and endocrine factors that mediate the influence of nutrition on reproduction in cattle and swine: an in vivo IGF-1 perspective. *Journal of Animal Science* 1996;74:18-35.
5. Bar-Peled U, Maltz E, Bruckental I, Folman Y, Kali Y, Gacitua H, Lehrer R. Relationship between frequent milking or suckling in early lactation and milk production of high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1995;78:2726-2736.
6. Bauman DE, and Currie WB. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science* 1980;63:1514-1529.
7. Bauman DE, Peel CJ, Steinhour WD, Reynolds PJ, Tyrrell HF, Brown ACG, Haaland GL. Effect of bovine somatotropin on metabolism of lactating dairy cows: influence on rates of irreversible loss and oxidation of glucose and nonesterified fatty acids. *Journal Nutrition* 1988;118:1031-1040.
8. Beerepoot GMM, Freeman AE, Detilleux JC. Effect of season, genetic line, and sire on growth concentrations of somatotropin in serum of Holstein cows in early lactation. *Journal of Dairy Science* 1991;74:3202-3208.
9. Bell AW. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science* 1995;73:2804-2819.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

10. Blache D, Tellam RL, Chagas LM, Blackberry MA, Vercoe PE, Martin GB. Level of nutrient affects leptin concentrations in plasma, and cerebrospinal fluid in sheep. *Journal of Endocrinology* 2000;165:625-637.
11. Block SS, Butler WR, Ehrhardt RA, Bell AW, Van Amburgh ME, Boisclair YR. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *Journal of Endocrinology* 2001;171:339-348.
12. Block SS, Rhoads RP, Bauman DE, Ehrhardt RA, McGuire MA, Crooker BA, Griinari JM, Macke TR, Weber WJ, Van Amburgh ME, Boisclair YR. Demonstration of a role for insulin in the regulation of leptin in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2003;86:3508-3515.
13. Bossis I, Welty SD, Wettemann RP, Vizcarra JA, Spicer LJ, Diskin MG. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. *Journal of Animal Science* 1999;77:1536-1546.
14. Bossis I, Wettemann RP, Welty SD, Vizcarra J, Spicer LJ. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during re-alimentation and resumption of ovulation. *Biology of Reproduction* 2000;62:1436-1444.
15. Brogan RS, Mitchell SE, Trayhurn P, Smith MS. Suppression of leptin during lactation: contribution of the suckling stimulus versus milk production. *Endocrinology* 1999;140:2621-2627.
16. Brogan RS, Trayhurn P, Smith MS. Suppression of leptin during lactation: effects of the suckling stimulus versus milk production. *Endocrinology* 1999;140:2621-2627.
17. Browning JR, Roberts BS, Lewis AW, Neuendorff DA, Randel RD. Effects of postpartum nutrition and once-daily suckling on reproductive efficiency and preweaning calf performance in fall-calving Brahman (*Bos indicus*) cows. *Journal of Animal Science* 1994;72:984.

18. Burgwald-Balsatd LA, Caton JS, Burke VI, Olson KC. Influence of forage level and naloxone injection on feed intake, digestion, and plasma hormone and metabolite concentrations in dairy heifers. *Journal of Animal Science* 1995; 73:2677.
19. Butler WR. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 2000;60:449-457.
20. Casanueva F, Dieguez C. Neuroendocrine regulation and actions of leptin. *Frontiers in Neuroendocrinology* 1999;30:317-363.
21. Chan LJ, Mantozoros SCh. Leptin and the hypothalamic-pituitary regulation of the gonadotropin-gonadal axis. *Pituitary* 2001;4:87-92.
22. Chelikani PK, Ambrose JD, Keisler DH, Kennelly JJ. Effect of short-term fasting on plasma concentrations of leptin and other hormones and metabolites in dairy cattle. *Domestic Animal of Endocrinology* 2004;26:33-48.
23. Chenoweth PJ. Aspects of in female *Bos indicus* cattle: a review. *Australian Veterinary Journal* 1994;71:422-426.
24. Chilliard Y, Ferlay A, Delavaud C, Bocquier F. Plasma leptin in underfed or overfed adult Holstein and Charolais cows, and its relationship with adipose tissue cellularity. *Int. J. Obes.* 1998;22:171.
25. Conway GS, Jacobs HS. Leptin: a hormone of reproduction. *Human Reproduction* 1997;12:633-635.
26. Coppock C.E, Tyrrel HF, Merrill WG, Reid JT. 1968. The significance of protein reserves to the lactating cow. p. 86 in *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf.*
27. Doepel L, Lapierre H, Kennelly JJ. Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. *Journal of Dairy Science* 2002;85:2315-2334.
28. Duggal SP, VanDer Hoek HK, Milner RC, Ryan KN, Armstrong TD, Magoffin AD, Norman JR. The in vivo and in vitro effects of exogenous leptin on ovulation in the rat. *Endocrinology* 2000;141:1971-1976.

29. Dunn TG, Kaltenbach CC. 1980. Nutrition and the postpartum interval of the ewe, sow and cow. *Journal of Animal Science* 1980;51:29.
30. Dyer CJ, Simmons JM, Matteri RL, Keisler DH. Leptin receptor mRNA is expressed in ewe anterior pituitary and adipose tissues and is differentially expressed in hypothalamic regions of well-fed and feed-restricted ewes. *Domestic Animal of Endocrinology* 1997;14:119-128.
31. Ehrhardt RA, Slepatis RM, Siegal-Willott J, Van Amburgh ME, Bell AW, Boisclair YR. 2000. Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. *Journal Endocrinology* 2000;166:519–528.
32. Escobar FC, Carlos JL, Galina CS, Fernández-Baca S. Efecto del amamantamiento sobre la actividad reproductiva postparto en vacas cebú, criollas y F1 (Cebú x Holstein) en el trópico húmedo de México. *Veterinaria México* 1984;15:243-248.
33. Etherton TD, Bauman DE. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiol. Rev.* 1998;78:745-761.
34. Finn PD, Cunningham MJ, Pau KY, Spies HG, Clifton DK, Steiner RA. The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine reproductive axis of the monkey. *Endocrinology* 1998;139:4652-4662.
35. Gallo GF, Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on hypophyseal and ovarian functions of lactating dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science* 1991;73:3276.
36. Grosvenor CE, Krulich L, McCann SM. Depletion of pituitary concentration of growth hormone as a result of suckling in the lactating rat. *Endocrinology* 1968;82:617.
37. Hart IC. Concentrations of prolactin in serial blood samples from goats before, during and after milking throughout lactation. *Endocrinology* 1974;64:305.
38. Henry BA, Goding JW, Alexander WS, Tilbrook AJ, Canny BJ, Dunshea F, Rao A, Mansell A, Clarke IJ. Central administration of leptin to

- ovariectomized ewes inhibits food intake without affecting the secretion of hormones from pituitary gland: evidence for a dissociation of effects on appetite and neuroendocrine function. *Endocrinology* 1999;140:1175-1182.
39. Hoggard N, Haggarty P, Thomas L, Lea RG. Leptin expression in placental and fetal tissues: does leptin have a functional role?. *Biochem. Soc. Trans.* 2001;29:57-63.
40. Holness MJ, Munns MJ, Sugden MC. Current concepts concerning the role of leptin in reproductive function. *Molecular and Cellular Endocrinology* 1999;157:11-20.
41. Holtenius K, Agenäs S, Delavaud C, Chilliard Y. Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *Journal of Dairy Science* 2003;86:883-891.
42. Houseknecht KL, Portocarrero CP. Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. *Domestic Animal of Endocrinology* 1998;15: 457-475.
43. Hull KL, Harvey S. Growth hormone: roles in female reproduction. *Journal of Endocrinology* 2001;168:1-23.
44. Ingvarlsen KL, Boisclair YR. Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and Immunity with especial focus on periparturient ruminants. *Domestic Animal of Endocrinology* 2001;21:215-250.
45. Jorritsma R, Wensing T, Kruip TAM, Vos PLAM, Noordhizen JPTM. Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Veterinary Research* 2003;34:11-26.
46. Kadokawa H, Blanche D, Yamada Y, Martin GB. 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. Fertil. Dev.* 2000;12:405-411.
47. Kalra SP and Crowley WR. Neuropeptide Y: a novel neuroendocrine peptide in the control of pituitary hormone secretion, and its relation to luteinizing hormone. *Frontiers in Neuroendocrinology* 1992;13:1-46.

48. Kawai M, Yamaguchi M, Murakami T, Shima K, Murata Y, Kishi K. The placenta is not the main source of leptin production in pregnant rat: gestational profile of leptin in plasma and adipose tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1997;240:798-802.
49. Koprowski JA, Tucker HA. Bovine serum growth hormone, corticoids and insulin during lactation. *Endocrinology* 1973;93:645.
50. Lage M, García-Mayor RV, Tome MA, Cordido F, Valle-Inclan F, Considine RV, Caro JF, Dieguez C, Casanueva FF. Serum leptin levels in women throughout pregnancy and the postpartum period and in women suffering spontaneous abortion. *Clinic Endocrinology* 1999;50:211-216.
51. Leon HV, Hernandez-Ceron J, Keislert DH, Gutierrez CG. Plasma concentrations of leptin, insulin-like growth factor-I, and insulin in relation to changes in body condition score in heifers. *Journal of Animal Science* 2004;82:445-451.
52. Liefers SC, Veerkamp RF, te Pas MFW, Delavaud C, Chilliard Y, van der Lende T. Leptin concentrations in regulation to energy balance, milk yield, intake, live weight, and estrus in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2003;86:799-807.
53. Littell, R.C., Henry, P.R., Ammerman, C.B. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *Journal of Animal Science* 1998;76:1216-1231.
54. Maffei MJ, Halaas E, Ravussin RE, Pratley GH, Lee Y, Zhang H, Fei S, Kim R, Lallone S. Leptin levels in human and rodent measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Medicine* 1995;1:1155-1161.
55. McMahon CD, Radcliff RP, Lookingland KJ, Tucker HS. Neuroregulation of growth hormone secretion in domestic animals. *Domestic Animal of Endocrinology* 2001;20:65-87.

56. McMahon CD, Radcliff RP, Lookingland KJ, Tucker HS. Neuroregulation of growth hormone secretion in domestic animals. *Domestic Animal of Endocrinology* 2001;20:65-87.
57. Mercer JG, Hoggard N, Williams LM, Lawrence CB, Hannah LT, Morgan PJ, Trayhurn P. coexpression of leptin receptor and preproneuropeptide Y mRNA in arcuate nucleus of mouse hypothalamus. *Journal of Neuroendocrinology* 1996;8:733-735.
58. Moore JE, Mott GO. Recovery of residual organic matter from in vitro digestion of forages. *Journal of Dairy Science* 1974; 57:1258.
59. Morrison CD, Wood R, McFadin EL, Whitley NC, Keisler DH. Effect of intravenous infusion of recombinant ovine leptin on feed intake and serum concentrations of GH, LH, insulin, IGF-1, cortisol, and thyroxine in growing prepubertal ewe lambs. *Domestic Animal of Endocrinology* 2002;22:103-112.
60. Nebel RL.y McGilliard ML. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *Journal of Animal Science* 1993;76:3257.
61. Nugent RA, Jenkins TG, Roberts AJ, Klindt J. Relationship of post-partum interval in mature beef cows with nutritional environment biological type and serum IGF-I concentrations. *Animal Production* 1993;56:193–200.
62. Oldham J. D., G. E. Loblely, B. A. König, D. S. Parker, and R. W. Smith. 1980. Aminoacid metabolism in lactating dairy cows early in lactation. p 458 in: *Proc 3rd EAAP Symp. Protein Metab. And Nutr.* H. J. Oslage and K. Rohr, ed EAAP Publ. No. 27.
63. Oldham J.D. Protein-energy interrelationships in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1984;67:1090.
64. Osoro K, Wright IA. The effect of body condition, live weight, breed, age, calf performance, and calving date on reproductive performance of spring calving beef cows. *Journal of Animal Science* 1992;70:1661.
65. Pinheiro OL, Barros CM, Figueredo RA, do Valle ER, Encarncao RO, Padovani CR. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation reproduction

- interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F₂ or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology* 1998;49:667-681.
66. Poppi PD y Mc Lennan RS. 1995. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. *Journal of Animal Science* 1995;73:278.
67. Rakestraw J, Lusby JKS, Wetteman RP, Wagner JJ. Postpartum weight and body condition loss and performance of fall calving cows. *Theriogenology* 1986;25:461.
68. Randel RD. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *Journal of Animal Science* 1990;68:853-862.
69. Reist M, Erdin D, von Euw D, Tschuemperlin K, Leuenberger H, Delavaud C, Chilliard Y, Hammon HM, Kuenzi N, Blum JW. Concentrate feeding strategy in lactating dairy cows: metabolic and endocrine changes with emphasis on leptin. *Journal of Dairy Science* 2003;86:1690-1706.
70. Reitman ML, Bi S, Marcus-Samuels B, Gavrilova O. Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight, and estrus in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2002;86:799-807.
71. Ren MQ, Wegner J, Bellmann O, Brockmann Ga, Schneider F, Teuscher F, Ender K. Comparing mRNA levels of genes encoding leptin, leptin receptor, and lipoprotein lipase between dairy and beef cattle. *Domestic Animal of Endocrinology* 2002;23:371-381.
72. Roberts AJ, Nugent RA, Klindt J, Jenkins TG. Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of oestrus in post-partum cows subjected to dietary energy restriction. *Journal of Animal Science* 1997;75:1909-1917.
73. Ronge H, Blum J, Clement C, Jans F, Leuenberger H, Binder H. 1988. Somatomedin C in dairy cows related to energy and protein supply and to milk production. *Animal Production* 1988;47:165.
74. Rosete FJV, Villa-Godoy A, Villagómez-Amezcuca E, Lagunes JL. Efecto de la naloxona sobre la liberación de hormona luteinizante y el inicio de la

- ciclicidad en vacas de doble propósito. Mem. Reun. Anual de Inv. Pec. Jalisco. 1993 p. 180.
75. Rutter LM, Randel RD. Postpartum nutrient intake and body condition: Effect of pituitary function and onset of estrus in beef cattle. *Journal of Animal Science* 1984;58:265.
 76. Rutter LM, Snopce R, Manns JG. Serum concentrations of IGF-I in postpartum beef cows. *Journal of Animal Science* 1989;67:2060–2066.
 77. Sansinanea AS, Cerone SI, Zonco I, García C, Auza N. FERUM leptin levels in cattle with different nutritional conditions. *Nutrition Research* 2001;21:1045-1052.
 78. Sayed-Ahmed A, Kulcsar M, Rudas P, Bartha T. Expression and localisation of leptin and leptin receptor in the mammary gland of the dry and lactating non-pregnant cow. *Acta Veterinaria Hungarica* 2004;52:97-111.
 79. Selk GE, Wettermann RP, Lusby KS, Oltjen JW, Mobley SL, Rasby RJ, Garmendia JC. Relationships among weight change, body condition and reproductive performance of range beef cows. *Journal of Animal Science* 1988;66:3153-3159.
 80. Shaffer GT, Gurd W, Lapointe M. Leptin is a potent stimulator of spontaneous pulsatile growth hormone (GH) secretion and the GH response to GH-releasing hormone. *Endocrinology* 1998;139:3871-3875.
 81. Shemm SR, Deaver DR, Gtiel LC, Muller LD. Effects of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. *Biology of Reproduction* 1990;42:1.
 82. Short RE, Bellows A, Staigmiller RB, Berardinelli JG, Custer EE. Physiological mechanism controlling anoestrus and fertility in postpartum beef cattle. *Journal of Animal Science* 1990; 68:799.
 83. Simpson RB, Armstrong JD, Harvey RW, Miller DC, Heimers EP, Campbell RM. Effect of active immunization against growth hormone-releasing factor on growth and onset of puberty in beef heifers. *Journal of Animal Science* 1991;69:4914.

84. Smith GD, Jackson LM, Foster DL. Leptin regulation on reproductive function and fertility. *Theriogenology* 2001;57:73-86.
85. Smith MS, Grove KL. Integration of the regulation of reproductive function and energy balance: lactation as a model. *Frontiers in Neuroendocrinology* 2002;23:225-256.
86. Smith JL, Sheffield LG. Production and regulation of leptin in bovine mammary epithelial cells. *Domestic Animal of Endocrinology* 2002;22:145-154.
87. Spicer LJ. Leptin. A possible metabolic signal affecting reproduction. *Domestic Animal of Endocrinology* 2001;21:251-270.
88. Stagg K. Anoestrus in the post-partum suckled beef cow and in the nutritionally restricted beef heifer. Ph.D. Dissertation. The National University of Ireland, Dublin 2000.
89. Tamminga S, Luteijn PA, Meijer RGM. Changes in composition and energy content of live weight loss in dairy cows with time after parturition. *Livestock Production Science* 1997;52:31-38.
90. Tejada de H. I. 1985. Manual de laboratorio para el análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. Ed. Patronato de Apoyo a la Investigación Pecuaria en México, A. C. México D. F.
91. Tucker HA. 1988. Lactation and its hormonal control. In: *The Physiology of Reproduction* de. By E. Knobil and J. Neill et al. Raven Press, Ltd., New York p. p. 2235.
92. Tucker HA. Hormonal response to milking. *Journal of Animal Science* 1971;32:13.
93. Vernon RG, Pond CM. Adaptation of maternal adipose tissue to lactation. *Journal of Animal Science* 1997;2:231-241.
94. Villa-Godoy A, Arreguín AA. 1993. Tecnología disponible y principales líneas de investigación para resolver el anestro posparto en vacas de doble propósito. XVI Simposium de Ganadería Tropical, INIFAP-SARH, Veracruz pp 55-84.

95. Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT, Forgwel RL. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1988;71:1063-1072.
96. Villagómez E. Efectos de la dieta y el amamantamiento en la fisiología metabólica y reproductiva posparto de vacas bajo un sistema de doble propósito tropical (tesis de doctorado) México (D.F) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2000.
97. Webb R, Gosden RG, Telfer EE, Moor RM. Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Journal of Animal Science* 1999;68:257-284.
98. Williams GL. 1990. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A review. *Journal of Animal Science* 1990;68:831.
99. Williams LM, Adam CL, Mercer JG, Moar KMSlater D, Hunter L, Findlay PA, Hoggard N. Leptin receptor, and neuropeptide Y gene expression in the sheep brain. *Journal Neuroendocrinology* 1999;11:165-169.
100. Wriugh IA, Rhind SM, Whyte TK, Smith AJ. Effects of body condition at calving and feeding level after calving on LH profiles and the duration of postpartum anoestrus period in beef cows. *Anim. Prod.* 1992;55:41.
101. Zieba DA, Amstalden M, Morton S, Gallino JL, Edwards JF, Harms PG, Williams GL. Effects of leptin on basal and GHRH-stimulated GH secretion from the bovine adenohypophysis are dependent upon nutritional status. *Journal of Endocrinology* 2003;178:83-89.
102. Zurek E, Foxcroft GR, Kennelly JJ. Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1995;78:1909.

CUADRO 1. ANALISIS DE VARIANZA DEL EFECTO DE LA DIETA Y EL AMAMANTAMIENTO SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE LEPTINA EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO DURANTE EL ANESTRO POSPARTO.

PERÍODO (Días)	FUENTE DE VARIACION CUADRADOS MEDIOS							
	D	AN	A	DXA	M	DXM	AXM	DXAXM
0-30	6.06(1) ^a	42.26(33)	67.95**(1)	47.32**(1)	8.58(3)	3.64(3)	0.99(3)	1.48(3)
31-60	11.37**(1)	52.38(33)	152.24**(1)	10.30**(1)	0.84(3)	3.31(3)	0.41(3)	0.27(3)
61-90	6.07(1)*	60.80(23)	49.42**(1)	14.61**(1)	1.36(3)	0.42(3)	1.89(3)	1.12 (3)

D= Dieta

AN= Animal

A= Amamantamiento

M= Muestra

^a. En paréntesis, grados de libertad.

* (P<0.05)

** (P< 0.01)

CUADRO 2. ANALISIS DE VARIANZA DEL EFECTO DE LA DIETA Y EL AMAMANTAMIENTO SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE HORMONA DEL CRECIMIENTO EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO DURANTE EL ANESTRO POSPARTO.

PERÍODO (Días)	FUENTE DE VARIACION CUADRADOS MEDIOS							
	D	AN	A	DXA	M	DXM	AXM	DXAXM
0-30	128.32** (1) ^a	38.07(33)	1.05(1)	30.60 (1)	19.42 (3)	4.35(3)	7.78(3)	34.96(3)
31-60	171.98** (1)	45.50(30)	13.71(1)	126.05** (1)	16.16 (3)	4.27(3)	19.07 (3)	17.01(3)
61-90	637.40** (1)	50.83(23)	210.05** (1)	32.39(1)	11.72(3)	23.74(3)	8.37(3)	7.51(3)

D= Dieta

AN= Animal

A= Amamantamiento

M= Muestra

^a . En paréntesis, grados de libertad.

* (P<0.05)

** (P< 0.01)

Cuadro 3. Efecto del amamantamiento y la suplementación energética sobre las concentraciones séricas de leptina (ng/ml).

INTERVALO/d	PER30 0-30	PER60 31-60	PER90 61-90
Efectos principales*			
Pasto	7.70±0.71 ^e	8.89±1.03a	8.91±1.25a
Suplemento	8.07±0.66	8.27±0.80b	8.28±1.42b
Becerro	7.12±0.79a ¹	7.46±0.84a	7.74±0.85a
No becerro	8.65±0.76b	9.70±1.0b	9.45±1.69b
Combinación de tratamientos			
NS-A	6.41±0.43a	7.47±0.21a	7.59±0.17a
NS-NA	8.99±0.38b	10.30±0.26b	10.23±0.32b
S-A	7.82±0.34b	7.44±0.17a	7.89±0.17ac
S-NA	8.31±0.38b	9.10±0.19c	8.67±0.37c

¹ a,b,c. Dentro de cada columna, diferente literal significa diferencia (P<0.05).

* Pasto (forraje cortado fresco ad limitum); Suplemento (forraje cortado fresco más suplemento energético); Becerro (becerros-amamantamiento por 7 h); Sin becerro (destete a las 6 h posparto).

^e error estándar

Cuadro 4. Efecto del amamantamiento y la suplementación energética sobre las concentraciones séricas de HC (ng/ml).

INTERVALO/d	PER30 0-30	PER60 31-60	PER90 61-90
Efectos principales*			
Pasto	7.84±0.94 ^e a ¹	7.80±0.90a	10.65±1.16a
Suplemento	5.81±0.69b	5.49±0.77b	4.12±1.48b
Becerro	6.94±1.09	6.98±0.77	9.31±0.88a
No becerro	6.70±0.75	6.31±0.90	5.46±1.66b
Combinación de tratamientos			
NS-A	8.45±0.89	9.12±0.47a	13.32±0.67
NS-NA	7.22±0.66	6.47±0.57b	7.97±1.18
S-A	5.43±0.64	4.84±0.42c	5.29±0.78
S-NA	6.19±0.54	6.14±0.47b	2.95±1.54

¹ a,b,c. Dentro de cada columna, diferente literal significa diferencia (P<0.05).

* Pasto (forraje cortado fresco ad libitum); Suplemento (forraje cortado fresco más suplemento energético); Becerro (becerros-amamantamiento por 7 h); Sin becerro (destete a las 6 h posparto).

^e error estándar

Cuadro 5. Coeficientes de correlación de Pearson de la concentración de leptina con variables productivas y reproductivas.

	Todos los grupos	Grupo NS-A	Grupo NS-NA	Grupo S-A	Grupo S-NA
Consumo total de materia seca	0.38*				
Leche total			-0.35*		
Grasa en leche			-0.35*		
Condición corporal al parto	0.51*	0.52*		0.32*	
Tiempo de presentación al primer estro	-0.20**		-0.20**	-0.42**	
Tiempo de presentación al primer cuerpo lúteo	-0.20*		-0.27**		
Tiempo de presentación al primer folículo pequeño		0.50*	0.65*		
Tiempo de presentación al primer folículo mediano			0.61*	-0.33*	
Tiempo de presentación al primer folículo grande				-0.49*	
Número de oleadas foliculares en un ciclo completo					-0.43*
Número de oleadas foliculares a los 30 días posparto				0.48*	-0.55*
Número de oleadas foliculares a los 80 días posparto				0.34*	

* P< .0001

**P<.01

Cuadro 6. Coeficientes de correlación de Pearson de la concentración de la HC con variables productivas y reproductivas.

	Todos los grupos
Consumo total de materia seca	-0.30*
Mcal pasto+suplemento	-0.43*
	-0.31*
Balance energético	
Condición corporal semanal	-0.54*
	0.31*
Grasa en leche	
Leche Total	-0.38*
Ácidos grasos no esterificados	-0.33*
Tiempo de presentación al primer estro	0.41*
Tiempo de presentación al primer cuerpo lúteo	0.33*
Tiempo de presentación al primer folículo grande	0.39*
Número de oleadas foliculares posparto	-0.33*

*P<0.0001

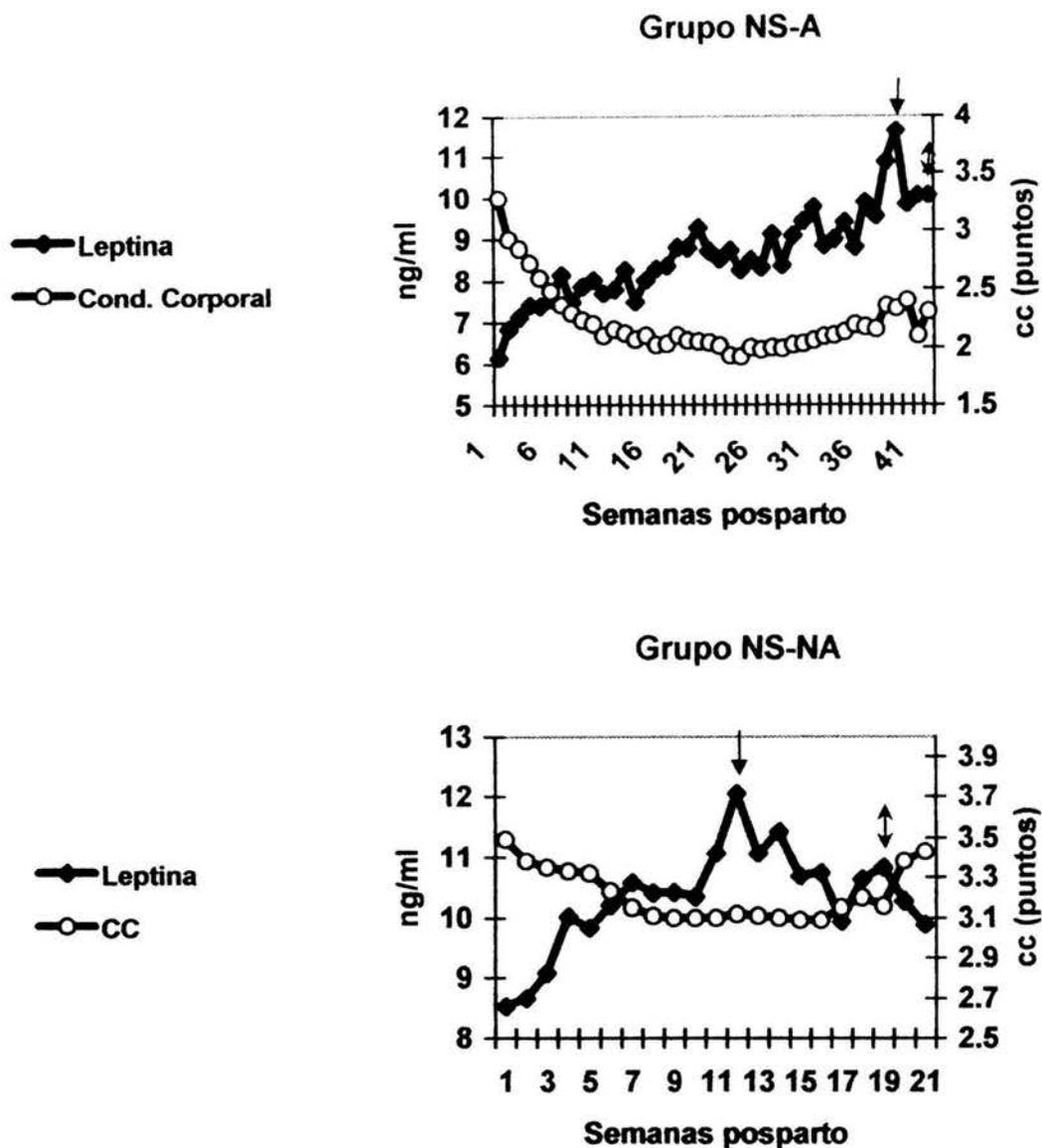


Figura 1.- Concentración de leptina y condición corporal en los grupos NS-A y NS-NA, durante todo el período experimental. Las flechas ↓ ↑ muestran la aparición del primer cuerpo lúteo posparto y el tiempo de presentación del primer estro respectivamente.

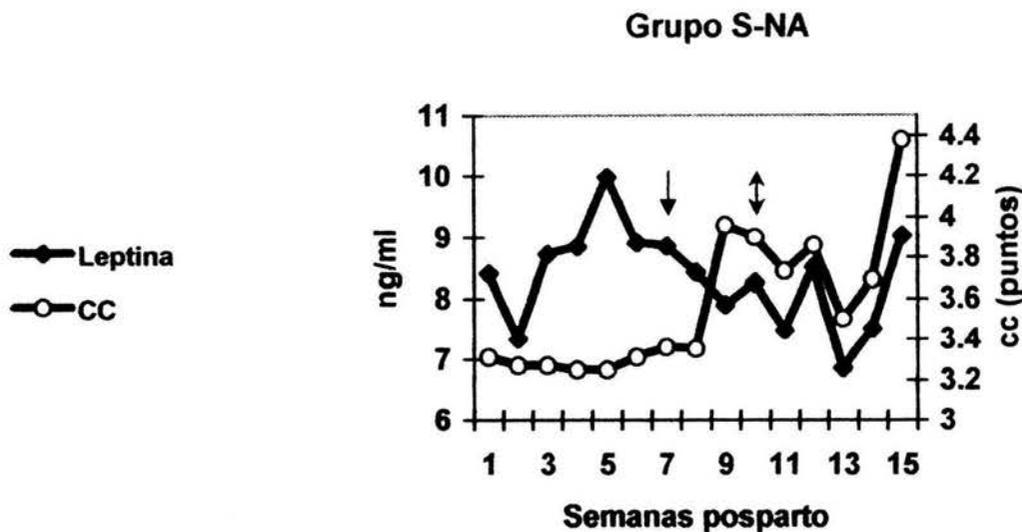
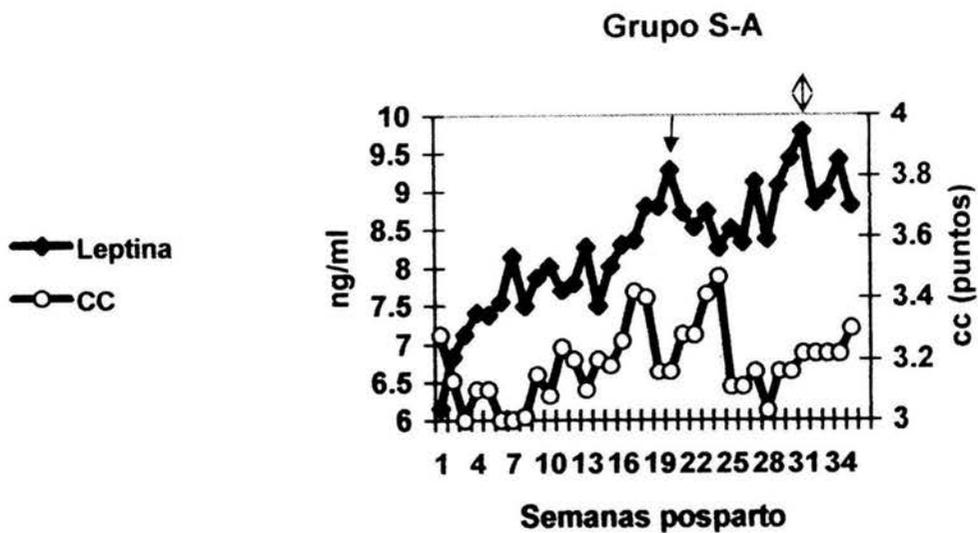


Figura 2.- Concentración de leptina y condición corporal en los grupos S-A y S-NA, durante todo el período experimental. Las flechas ↓ ↑ muestran la aparición del primer cuerpo lúteo posparto y el tiempo de presentación del primer estro respectivamente.

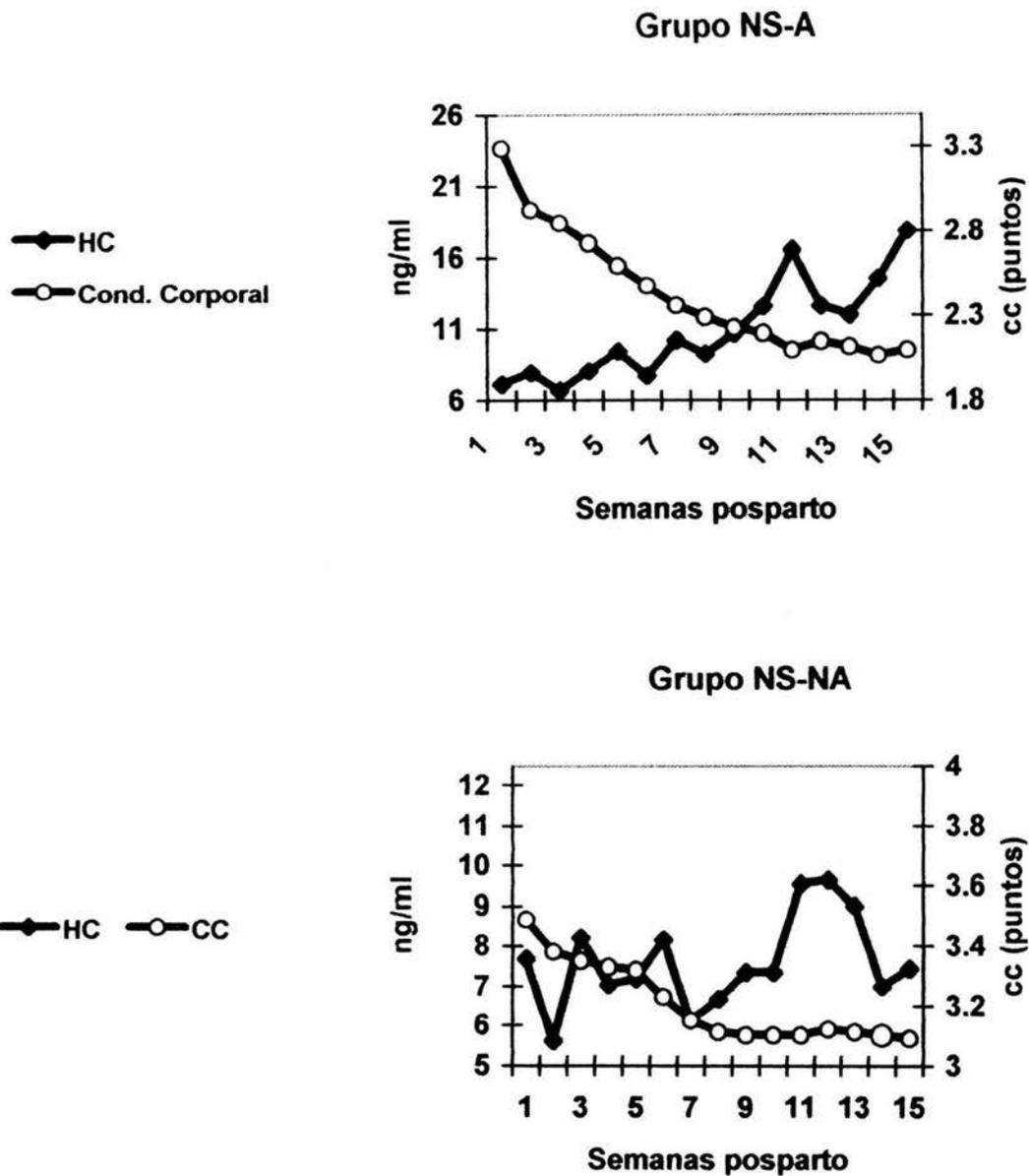


Figura 3.- Concentración de HC y condición corporal en los grupos NS-A y NS-NA, durante las primeras 15 semanas posparto.

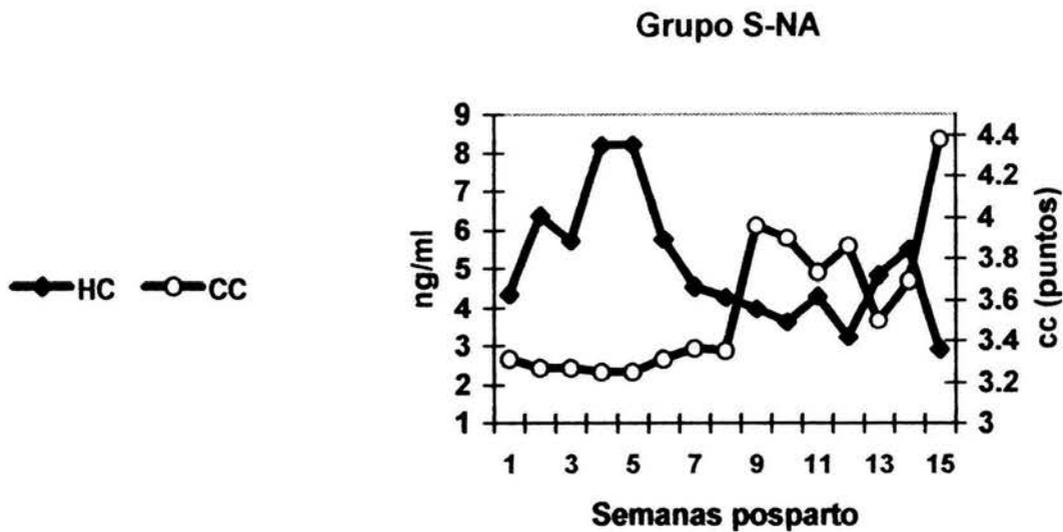
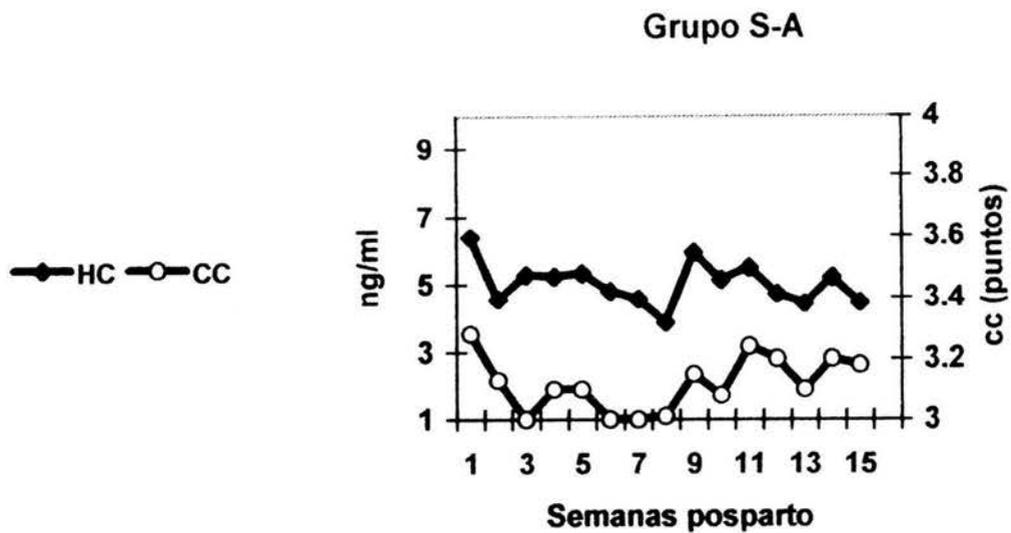


Figura 4.- Concentración de HC y condición corporal en los grupos S-A y S-NA, durante las primeras 15 semanas posparto.

ANEXO 1

RADIOINMUNOANÁLISIS HORMONA DEL CRECIMIENTO BOVINA

❖ Antígeno y antisueros

Se utilizó hormona del crecimiento bovina (HC) purificada a partir de adenohipófisis bovinas para llevar a cabo la iodación y para preparar la curva estándar. La HC (AFP11182B) y el anticuerpo anti-HC generado en mono (primer anticuerpo), (AFP-B55), fueron donados por el Dr. Parlow del Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). El segundo anticuerpo fue generado en burro contra gammaglobulina de conejo, por medio de técnicas de inmunización convencionales, y mediante la colaboración conjunta del Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA) de la FMVZ-UNAM y el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ).

❖ Iodación de la HC

La HC (AFP11182B) fue marcada con yodo-125 (I^{125}), (Amersham International, England, actividad específica 15 mCi/ μ g), por el método de la cloramina T (CLT), (Hunter y Greenwood., 1962) con algunas modificaciones. La CLT, es un agente oxidante muy potente, capaz de convertir el yoduro a formas más reactivas. El procedimiento consiste en agregar 1 mCi (10 μ l) de yoduro de sodio ($Na I^{125}$) a 5 μ g (50 μ l) de HC disuelta en solución amortiguadora de fosfatos salina (PBS) 0.05 M, pH 7.5. La reacción fue iniciada agregando 30 μ l de una dilución de 5 mg de cloramina T en 2 ml de PBS, agitando durante 30 segundos y añadiendo 70 μ l de una dilución de 15 mg de metabisulfito de sodio en 5 ml de PBS; este último es un agente reductor utilizado para parar la reacción. Acto seguido, la hormona marcada fue filtrada en una columna (1 x 50 cm) con Sephadex G-100, lavada previamente con albúmina sérica bovina (BSA), (0.5 g/10 ml) y PBS. Se colectaron fracciones de 10 gotas por cada tubo, en una serie de 70 tubos con 200 μ l de una dilución al 5% de PBS y albúmina en cada tubo, a una temperatura de 4°C. Durante todo el proceso de marcación se mantuvo la

cadena fría para evitar daños en la hormona, ya que se ha reportado que esto ocurre y que puede afectar alrededor del 50% de la hormona. El daño que sufren algunas proteínas, tal es el caso de la hormona de crecimiento; es que estas tienden a agregarse durante la iodación. El material agregado puede adherirse a los tubos, provocando un incremento en la unión no específica (McIntyre et al., 1974).

En el presente estudio se encontró que el primer pico (tubos 22-24) en la iodación, correspondió a una fracción de HC marcada dañada, siendo el segundo pico (tubos 36-46) el que contuvo a la HC marcada intacta (HC-I¹²⁵). La condición de las diferentes fracciones, fue evaluada por su capacidad de unión al anticuerpo así como su unión no específica. De acuerdo con estos resultados, la HC-I¹²⁵ correspondiente al segundo pico fue utilizada para llevar a cabo el radioinmunoanálisis (RIA) de HC. Esta HC-I¹²⁵ tuvo una actividad específica de 36 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$. El patrón de colección de HC-I¹²⁵, se muestra en la siguiente figura:

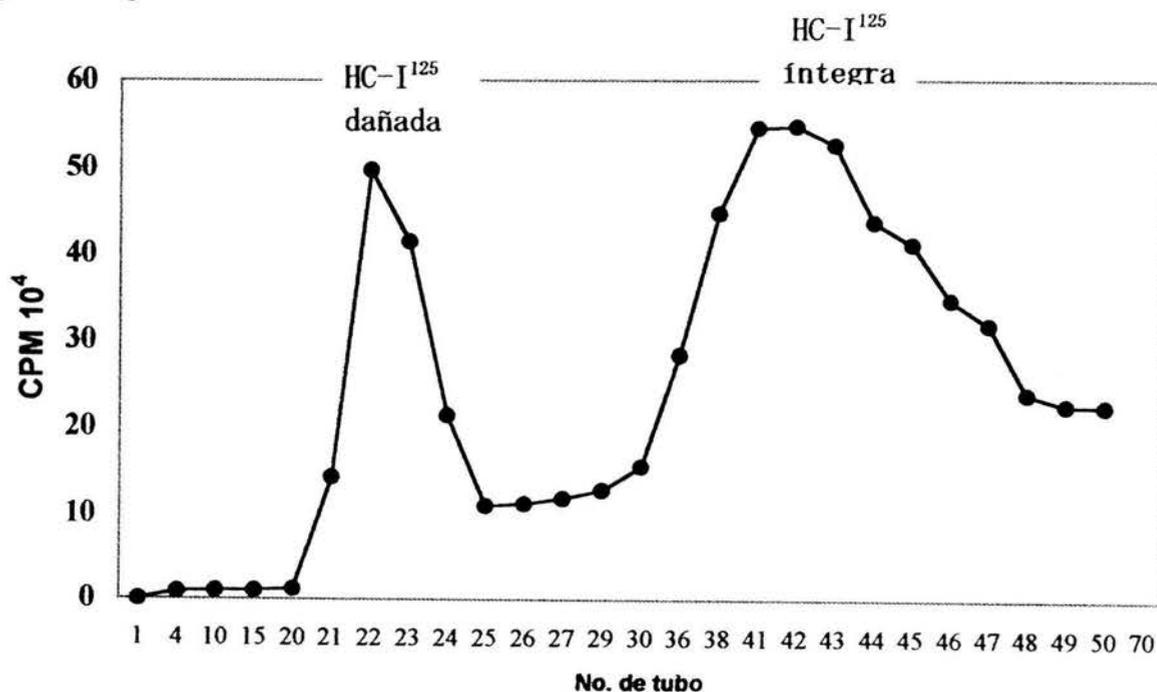


Figura 1.- Perfil de separación de la HC marcada con I¹²⁵ por cromatografía en Sephadex G-100.

Para todas las diluciones a excepción del segundo anticuerpo se utilizó PBS + 5 g/L de BSA y 9.3 g/L de EDTA (amortiguador de ensayo). Se preparó una solución de HC-I¹²⁵ de 12,000 cpm/100 µl + 0.15% suero normal de conejo. El segundo anticuerpo se diluyó en el amortiguador de ensayo adicionándole 8% de polietilenglicol.

❖ Procedimiento y Validación del RIA.

La titulación del primer anticuerpo se realizó mediante la determinación de la unión máxima (B₀), con la HC-I¹²⁵ y de la unión no específica (UNE), la cual consiste en uniones de la hormona marcada en ausencia de antisuero o anticuerpo contra HC. Se probaron diversas diluciones del primer anticuerpo, encontrando que las diluciones más adecuadas fueron de 1:80, 000 dilución inicial y así se utilizó en el RIA. El segundo anticuerpo se usó a una dilución inicial de 1:30. La curva estándar abarcó un rango de 0 a 250 ng/ml. Así mismo se probaron diversos tiempos de incubación y temperatura, encontrando que una incubación de 24 h a 4°C era la más conveniente. El protocolo de RIA para HC se describe en el cuadro 1.

Se determinó el paralelismo mediante el desplazamiento producido por diferentes diluciones (12.5, 25, 50 y 75%) de suero bovino con concentraciones de HC determinadas previamente.

El porcentaje de recuperación de HC, así como el efecto matriz del suero, en este sistema, se evaluó utilizando un suero con una concentración baja, al cual se le agregaron cantidades conocidas de HC. El porcentaje de recuperación fue de 100 ± 7.48 %. La unión máxima promedio en los ensayos fue de 25.2 ± 4.8 %, con uniones inespecíficas de 2.5 ± 0.6 %. Los coeficientes de variación intra e inter análisis ensayo fueron de 4.8 % y 9.2 %, respectivamente.

Cuadro 1. Protocolo de Radioinmunoanálisis para HC

Día 1						Día 2	
Número de tubo y contenido	Paso 1 Adición de PBS	Paso 2 Adición curva estándar y controles	Paso 3 Adición de muestras	Paso 4 Adición de 1er AC	Paso 5 Adición HC-I ¹²⁵ Agitar, cubrir e incubar a 4°C por 24 hrs	Paso 6 Adición 2do Ac	
1-2 CT	100µl			100µl	100µl		100µl
3-4 B0					100µl		
Curva Std							
ng/ml							
5-6 .24		100µl		100µl	100µl		100µl
7-8 .48		100µl		100µl	100µl		100µl
9-10 .97		100µl		100µl	100µl		100µl
11-12 1.97		100µl		100µl	100µl		100µl
13-14 3.9		100µl		100µl	100µl		100µl
15-16 7.8		100µl		100µl	100µl		100µl
17-18 15.6		100µl		100µl	100µl		100µl
19-20 31.25		100µl		100µl	100µl		100µl
21-22 62.25		100µl		100µl	100µl		100µl
23-24 125		100µl		100µl	100µl		100µl
25-26 250		100µl		100µl	100µl		100µl
27-28 CA		100µl		100µl	100µl		100µl
29-30 CB		100µl	100µl	100µl	100µl		100µl
31-∞ Últimos Tubos	200µl						100µl
CT = Cuenta total						CA = Control Alto	
UNE = Unión no específica						CB = Control Bajo	

Bibliografía

- ❖ McIntyre HB, Odell WD, Reichert LE. Radioimmunoassay of rabbit growth hormona. *Endocrinology* 1974;94:1568-1576.
- ❖ Hunter WM, Greenwood FC. Preparation of iodine-131 labelled human growth hormone of high specific activity. *Nature* 1962;194:495–496.