



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

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

**“EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA PRODUCTIVA DE
CORDEROS TRATADOS CON GHRELINA SINTÉTICA
HUMANA ADMINISTRADA POR VÍA INTRAVENOSA,
INTRAMUSCULAR O SUBCUTÁNEA”**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A

ELEAZAR PÉREZ TREJO

TUTOR: JOSÉ LUIS ROMANO MUÑOZ

**COMITÉ TUTORAL:
EVERARDO GONZÁLEZ PADILLA
FELIPE DE JESÚS RUÍZ LÓPEZ**

QUERÉTARO, QRO.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dedicatorias

A Isela, por que estuviste junto a mí en los momentos más difíciles y por que no permitiste que me rindiera. Por eso este trabajo es tan tuyo como mío.

A mi hijo(a), que aunque no esta todavía entre nosotros sé que algún día leerá estas líneas y sabrá que estuvo en mi pensamiento mientras realice este trabajo.

A mis familiares, que me apoyan siempre en la realización de mis proyectos.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por el proceso enseñanza que me otorgó.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, por las facilidades que se me dieron para la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo para la realización de mi maestría.

Al Proyecto 12604 “Uso de ghrelina y clorhidrato de zilpaterol en la finalización de corderos criados en praderas de riego” del Fondo SAGARPA-CONACYT.

Al Dr. José Luis Romano, quien fue mi tutor durante todo este trabajo.

A la Dra. Ofelia Mora, quien en un momento muy difícil, me dio su apoyo incondicional.

Al Dr. Armando Shimada, al Dr. Everardo González, al Dr. Felipe Ruiz, al Dr. Jorge Tortora y a la Dra. Salud Rubio, por su tiempo y comentarios.

Al Dr. Germinal Cantó por su amistad y por su apoyo constante.

Resumen

El consumo voluntario es determinante en la productividad animal. La ghrelina es un péptido producido en el estómago y tiene un efecto positivo sobre el consumo voluntario. Los objetivos del presente trabajo fueron: cuantificar la concentración plasmática de ghrelina antes y después de la aplicación de ghrelina sintética por vía intravenosa (IV), intramuscular (IM) o subcutánea (SC) y evaluar el efecto de la aplicación SC en variables productivas de corderos. El trabajo se dividió en dos experimentos; en el primero, seis corderos Blackbelly fueron distribuidos al azar en tres tratamientos: aplicación IV, IM o SC de 3 µg de ghrelina/Kg de peso vivo. La concentración plasmática de ghrelina se midió antes y después del ofrecimiento de alimento (8:00 h) y de la aplicación de ghrelina (12:00 h); los muestreos se realizaron a las 7:30, 8:00, 8:15, 8:30, 9:00, 10:00, 11:00, 12:00, 12:15, 12:30, 13:00, 14:00 y 15:00 h. La concentración plasmática de ghrelina en IV rebasó el límite superior de lectura (>10,000 pg/ml) en los primeros dos muestreos; en IM, la máxima concentración (9,700 pg/ml) fue a las 13:00 h; en SC, el valor máximo (5732.14 pg/ml) se encontró a las 13:00 h y se mantuvo hasta las 14:00 h; no se encontraron diferencias entre tratamientos ($P>0.1$). En el segundo experimento, 12 ovinos Pelibuey fueron distribuidos en tres tratamientos: GHR1, 3 µg/Kg de pv de ghrelina vía SC a las 8:00 h; GHR2, dos aplicaciones de 3 µg/Kg de pv vía SC, a las 8:00 y 12:00 h; Testigo, aplicación SC de solución salina (8:00 y 12:00 h). La concentración sanguínea de ghrelina en Testigo fue similar ($P>0.1$) entre los tiempos de muestreo; la concentración sanguínea en GHR2 fue alta durante más tiempo ($P<0.05$) que en los otros tratamientos. La ganancia diaria de peso, la conversión alimenticia y el consumo voluntario fueron similares entre tratamientos ($P>0.1$). Se concluye que la aplicación de ghrelina vía SC promovió elevadas concentraciones sanguíneas de la hormona de manera estable pero no tuvo influencia sobre las variables productivas

Palabras clave: Consumo voluntario, ghrelina, corderos en finalización, vía de administración.

Abstract

Voluntary food intake by sheep is one of the factors that determine productivity in this livestock rearing industry. It is known that ghrelin is a peptidic hormone mainly produced in the stomach that has a positive effect on voluntary feed intake, fact that has been mainly proven in rodents. The objectives of the present study were to quantify the plasma concentration of ghrelin, after an either intravenous, intramuscular or subcutaneous application of synthetic ghrelin, and to evaluate its effect on feed intake, daily weight gain, and feed conversion in sheep during growth and finishing stages. The study was divided into two experiments; in the first one, six Blackbelly lambs were randomly distributed into three treatments: intravenous (IV), intramuscular (IM) or subcutaneous (SC) application of 3 µg of synthetic ghrelin per Kg live weight. Plasma concentration of ghrelin was measured before and after feed offering (8:00 h) and ghrelin application (12:00 h); blood samples were taken at: 7:30, 8:00, 8:15, 8:30, 9:00, 10:00, 11:00, 12:00, 12:15, 12:30, 13: 00, 14:00 and 15:00 h. Plasma concentration of ghrelin was increased not withstanding the route of application; nevertheless in the case of SC, the increase was more in a curve fashion than a peak, and plasma concentration was maintained high during a longer period. In the second experiment 12 Pelibuey finishing rams were randomized into three treatments: GHR1, SC application of 3 µg of synthetic ghrelin per Kg of live weight at 8:00 h; GHR2, SC application of 3 µg of synthetic ghrelin at 8:00 h and 12:00 h, totalizing 6 µg per Kg of live weight; Control, SC application of 5 ml of saline solution. Blood ghrelin concentration in Control animals was similar among sampling times ($P>0.1$). Ghr2 lambs maintained high levels during a longer period and reached higher concentrations than the lambs of the other treatments. Voluntary feed intake, daily weight gain, and feed conversion were similar among treatments ($P>0.1$). It was concluded that SC application of ghrelin promoted high blood concentration of the hormone in a stable fashion but there was not any positive effect on productive performance.

Key words: Voluntary feed intake, ghrelin, finishing lambs, administration route.

Contenido

	Página.
1. Introducción	1
2. Revisión de literatura	4
2.1. Factores fisiológicos que intervienen en el control del consumo voluntario	4
2.1.1. Colecistocinina	6
2.1.2. Péptido parecido al glucagón	6
2.1.3. Oxintomodulina	8
2.1.4. Péptido YY	8
2.1.5. Leptina	9
2.1.6. Insulina	10
2.1.7. Orexin-A y Orexin-B	11
2.1.8. Neuropeptido Y	12
2.1.9. Proteína relacionada con Agouti	12
2.1.10. Proopiomelanocortina	12
2.1.11. Hormona estimuladora de los melanocitos	13
2.1.12. Ghrelina	15
2.1.12.1. Reseña histórica de la ghrelina	15
2.1.12.2. Tejidos productores de ghrelina	15
2.1.12.3. Estructura de la ghrelina	16
2.1.12.4. La ghrelina en diferentes especies	17
2.1.12.5. Receptor para ghrelina	19
2.1.12.6. Actividad fisiológica de la ghrelina	20
3. Justificación	24
4. Objetivos	25
4.1. Objetivo general	25
4.2. Objetivos específicos	25
5. Material y métodos	26
5.1. Experimento 1	26
5.2. Experimento 2	30
6. Resultados y discusión	34
7. Conclusiones	43

8. Implicaciones	44
9. Literatura consultada	45

Página.

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Moléculas de ghrelina de varias especies.	18
Cuadro 2. Concentración plasmática de ghrelina aplicada una o dos veces al día.	38

Lista de Figuras

Figura 1. Vía orexigénica y anorexigénica como mediadoras del control del consumo de alimento.	14
Figura 2. Estructura de la ghrelina humana y de rata (se marcan en rojo los aminoácidos que son diferentes en ghrelina de rata comparada con la de humano).	17

Lista de Gráficas

Gráfica 1. Concentraciones sanguíneas basales de ghrelina.	34
Gráfica 2. Concentración plasmática de ghrelina.	35
Gráfica 3. Evolución de la concentración sanguínea de glucosa.	36
Gráfica 4. Concentraciones plasmáticas de ghrelina.	37
Gráfica 5. Consumo voluntario a diferentes horarios.	42

Abreviaturas y siglas usadas

CV.	Consumo voluntario
AGV.	Ácidos grasos Volátiles
CCK.	Colecistocinina
GLP-1.	Péptido parecido al Glucagon 1
SNC.	Sistema nervioso central
PYY.	Péptido YY
NPY.	Neuropéptido Y
AgRP.	Proteína relacionada con agouti
POMC.	Proopiomelanocortina
GHSs.	Secretagogos de la hormona del crecimiento
GH.	Hormona del crecimiento
GHRH.	Hormona liberadora de hormona del crecimiento
AMPC.	Monofosfato de Adenosina cíclico
µg.	Microgramo
Kg	Kilogramo
PV.	Peso vivo
IV.	Intravenoso
IM.	Intramuscular
SC.	Subcutáneo
pg.	Picogramos
GHSR	Receptor para secretagogos de la hormona del crecimiento
GDP	Ganancia diaria de peso.
min.	Minutos
g.	Gramos
ml	Mililitros
°C	Grados centígrados
mm.	Milímetros
m.	Metros
h.	Horas
MS	Materia seca
EA	Eficiencia alimenticia

1) INTRODUCCIÓN

La producción de ovinos en México, en los últimos años, se ha visto afectada por una serie de modificaciones en sus sistemas, pasando de ser únicamente una ganadería de tipo tradicional, campesina y de ahorro o autoconsumo, de poca importancia económica, a una actividad con presencia de modelos empresariales; sin embargo, actualmente en el país se pueden encontrar desde explotaciones ovinas con alta tecnificación y producciones muy intensivas, hasta los rebaños tradicionales de traspatio. Lo que es una realidad es que la ovinocultura mexicana, hoy en día es una ganadería que va creciendo y tomando cada día más importancia.

Con base en las cifras oficiales, en México existe un inventario de 7,082,776 ovinos; esta cifra indica que prácticamente en los últimos quince años, la población nacional de ovinos ha fluctuado entre los 6 y 7 millones de cabezas y mantiene un crecimiento anual del 1% (Arteaga, 2007).

En cuanto a la producción de carne de ovino, en los últimos quince años, esta ha mostrado un incremento promedio anual del 3.6%, siendo más elevado este crecimiento a partir de 1999, en donde se logró una producción de alrededor de 30,000 toneladas de carne y cerrando el 2006 con 47,583 toneladas (Arteaga, 2007). Esto es digno de resaltarse ya que como se mencionó anteriormente el inventario nacional no ha sufrido un incremento significativo, sin embargo, la producción de carne de ovino sí se ha visto notablemente incrementada, lo que es un indicador de que la productividad de los rebaños mexicanos va en aumento (Arteaga, 2007).

Es importante mencionar que el consumo de carne de ovino en nuestro país es bajo, comparado con el consumo de otras carnes, como pollo, res o cerdo, se estima que para el 2006 el consumo de carne de ovino, fue alrededor de los 800 gramos por habitante (Arteaga, 2007).

El consumo de carne de ovino en nuestro país es fundamentalmente en barbacoa, a pesar de que se ha intentado desarrollar un mercado de nuevos

productos regionales como cordero al pastor, al ataúd, lechal, como sustituto de cabrito y cortes de cordero; el consumo de carne de ovino no se ha visto incrementado en muchos años y aún así, México es deficitario en carne de ovino (Arteaga, 2007).

Debido al déficit de producción se ha tenido que recurrir a las importaciones para complementar el abasto, sin embargo, con el incremento de la producción nacional, se han reducido las importaciones de carne en alrededor del 33% en los últimos seis años, se puede observar que en el año 2000 se importó el 61% del consumo nacional (52,300 toneladas) mientras que, en el 2006 se importó solo el 42.4% (35,000 toneladas). A pesar de las mejoras en la productividad de la ovinocultura nacional, las importaciones de productos ovinos representaron en 2006, 78 millones de dólares (Arteaga, 2007).

Como ya se mencionó anteriormente, en los últimos años se han registrado cambios en cuanto a la integración de la industria ovina en México, ya que se han desarrollado estrategias que se reflejan en grandes cambios en el esquema de producción y transformación, así que de manera resumida, podemos decir que se ha modificado el esquema de la producción de ovinos (Arteaga, 2007).

La mejora en la productividad de los rebaños nacionales, entre otras cosas, se debe a que la engorda y finalización de corderos en corral es hoy en día parte fundamental dentro de la industria ovina mexicana, por lo que, es de gran importancia hacer investigaciones acerca de técnicas que mejoren la productividad de las engordas de corderos, tratando con esto de encontrar estrategias que permitan eficientizar al máximo la utilización de los recursos y mejorar los parámetros productivos de los corderos para lograr con esto mejorar la rentabilidad de la ganadería ovina.

Una herramienta para mejorar la productividad de los corderos en engorda, es el influir sobre el consumo voluntario (CV) de alimento, ya que de éste depende gran parte de la productividad del animal. Si se ve al cordero como un medio para producir alimento de origen animal de alta calidad para el consumo

humano y la materia prima para conseguir esto, es el alimento que consume el cordero; incrementar el CV en el animal dará como resultado una mayor producción. Un incremento en el CV beneficia la productividad siempre y cuando la capacidad de cordero de convertir alimento en carne no se vea rebasada, ya que de lo contrario se estará produciendo grasa, disminuyendo la eficiencia alimenticia e incrementando los costos de producción. En el presente trabajo se evalúa si la ghrelina sintética puede ser una sustancia que aplicada de manera exógena incremente el CV de los corderos, sin influir de manera negativa sobre otras variables productivas como la ganancia diaria de peso (GDP) o la eficiencia alimenticia (EA).

1) REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Factores fisiológicos que intervienen en el control del consumo voluntario

En el presente trabajo se mencionan algunos de los factores que controlan el CV tanto en animales rumiantes como en no rumiantes.

De forma específica, los ácidos grasos volátiles (AGVs), producidos por los microorganismos ruminales, son controladores del CV, principalmente el ácido acético y el ácido propiónico. Una alta concentración de estos AGVs a nivel ruminal, produce un descenso en el pH; este efecto de acidez provoca que se disminuya la motilidad ruminal, reduciendo el tránsito del contenido y con esto una marcada disminución en el CV. El ácido propiónico por su parte tiene una fuerte influencia sobre el CV ya que actúa como un indicador de la absorción de los otros ácidos grasos volátiles; este proceso funciona por medio de receptores para ácido propiónico a nivel del hígado y de los vasos sanguíneos, estos receptores detectan las concentraciones sanguíneas del propiónico y cuando estas se encuentran altas, los receptores envían una señal anorexigénica al SNC (Araujo-Febres, 2005).

De forma muy general los principales factores que controlan el CV en los rumiantes son los siguientes: una alta concentración de ácido acético a nivel ruminal, concentración duodenal de ácido láctico, concentración de ácido propiónico a nivel hepático y el efecto físico de llenado del rumen (Araujo-Febres, 2005).

En todos los animales el consumo voluntario se regula a dos niveles, central y periférico. Algunos de los factores hormonales que funcionan como reguladores de la ingesta a nivel periférico, son producidos por el estómago; incluso el efecto físico del llenado mismo del estómago es uno de los principales factores limitantes del consumo (Strader *et al.*, 2005).

Se ha mencionado que dietas que contienen alimentos muy voluminosos provocan de manera muy rápida que el animal deje de comer; esto incluso en

dietas que ocupan mucho espacio a pesar de ser muy pobres en nutrientes. El estómago se comunica con el sistema nervioso central por medio del nervio vago, utilizando para dicha comunicación péptidos como la neuromedina B y el péptido liberador de la gastrina, se ha comprobado que dichos péptidos inducen saciedad mediante su administración externa (Cummings *et al.*, 2007).

Otro de los órganos digestivos que tiene una importante producción de factores reguladores del CV es el intestino. Se ha demostrado que la infusión de nutrientes en el intestino delgado, sin que estos pasen por el estómago, detiene la ingestión de alimento; esto se debe a que los nutrientes presentes en el intestino pueden producir la liberación de factores que funcionan como señales que provocan saciedad (Cummings *et al.*, 2007).

A nivel del sistema nervioso central el CV es influenciado por muchos factores neuronales y humorales, sin embargo, de manera muy simplista se pensó que el hipotálamo era el regulador del consumo, ya que en experimentos realizados en ratones a los que se les retiró quirúrgicamente la parte ventromedial del hipotálamo estos presentaron hiperfagia y obesidad, mientras que si se les retiraba la parte lateral del hipotálamo, los animales tuvieron apetito nulo y pérdida drástica de peso. Con dichos resultados se planteó un esquema en el que la parte ventromedial del hipotálamo es la porción reguladora de la saciedad, mientras que la porción lateral es la parte reguladora del consumo (Hollis *et al.*, 2005).

La cantidad de comida ingerida y la frecuencia con la que los animales consumen alimento son regulados a nivel del SNC, pero no únicamente por el hipotálamo, el consumo de alimento genera una serie de señales, a nivel central, que le indican al individuo en qué momento iniciar la ingesta o por el contrario en qué momento dejar de comer. Los factores reguladores de la ingesta que son producidos en el SNC, se pueden clasificar en dos grupos respecto a su efecto sobre el CV, los factores orexigénicos y los anorexigénicos. A continuación se describen algunos de ellos.

2.1.1. Colecistocinina

Uno de los factores producidos en el intestino que controlan el CV y tal vez uno de los más estudiados es la Colecistocinina (CCK), la cual es producida tras la llegada de alimento al intestino, principalmente por la presencia de lípidos y proteínas (Hollis *et al.*, 2005; Cummings *et al.*, 2007). La CCK es un péptido intestinal que además de promover la liberación de jugos biliares y pancreáticos, produce saciedad.

La CCK es el ligando para dos tipos de receptores ubicados en el intestino (receptor para CCK tipo A o tipo 1) y en el cerebro (receptor para CCK tipo B ó 2) regulando la saciedad por medio de dichos receptores. El efecto de la CCK sobre la saciedad es de muy corta acción, su aplicación exógena causa un decremento en la cantidad de alimento ingerido de manera dosis dependiente, sin embargo, este efecto desaparece si la inyección de CCK se realiza 30 minutos o más, antes de ofrecer el alimento por lo que se puede concluir que la CCK es un regulador de la ingesta a corto plazo (Cupples, 2005).

En el caso específico de rumiantes la CCK tiene un efecto probado en corderos, ya que se encontraron concentraciones altas de CCK en hipotálamo en lapsos cortos después de las comidas. En contraste, la administración de un inhibidor de los receptores para CCK produjo un gran incremento en el CV en corderos (Araujo-Febres, 2005).

2.1.2. Péptido parecido al glucagón

La porción ileal del intestino delgado, también tiene mecanismos que sirven para frenar el consumo de alimento, en dichos mecanismos de control del CV se ven involucradas hormonas, como el péptido parecido al glucagón 1 (GLP-1 por las siglas en inglés), esta hormona es producida principalmente en las células L del íleon y del colon, la secreción del GLP-1 se puede estimular por vía neuronal o como respuesta a la ingesta de nutrientes, específicamente las grasas y carbohidratos, producen una aguda liberación del GLP1. Los receptores para el GLP-1 se encuentran ubicados en el intestino, en la porción

endocrina del páncreas y en prácticamente todo el sistema nervioso central (Strader *et al.*, 2005).

El GLP-1, a pesar de tener una vida media de únicamente dos minutos, tiene un efecto negativo sobre la motilidad del intestino, además reduce la velocidad del vaciado gástrico y por lo tanto reduce la ingestión de alimento. El GLP-1 disminuye el CV en varias especies animales, se sugiere que actúa por vía vagal y probablemente produce un efecto directo en el hipotálamo, ya que se ha localizado su receptor tanto en fibras aferentes del nervio vago como en el hipotálamo (Strader *et al.*, 2005).

Una de las funciones principales de este péptido es estimular la liberación de insulina, la cual por si misma es un controlador del CV, por lo tanto el GLP-1 también tiene un efecto indirecto sobre la ingesta. La aplicación directa del péptido en el sistema nervioso central en ratas, reduce de manera dosis dependiente el CV, mientras que la administración inmediata de un antagonista suprime este efecto. Adicionalmente, otros efectos del GLP-1 que pueden afectar de manera directa el CV, son el retardo en el vaciado gástrico y la reducción de la motilidad intestinal (Strader *et al.*, 2005).

Wynne *et al.* (2005) mencionan que el GLP-1 reduce significativamente el consumo de alimento en humanos obesos y diabéticos, el efecto anorexigénico y estimulador de la secreción de insulina hacen al GLP-1 un importante prospecto en el tratamiento de la obesidad y la diabetes tipo dos.

2.1.3. Oxintomodulina

Otro péptido regulador de la ingesta producido en el íleon es la oxintomodulina, que al igual que el GLP-1, es secretada por las células L; la producción de esta hormona es proporcional a la cantidad de calorías ingeridas por el animal. En ratones la administración exógena de este péptido disminuye la ingesta y el peso corporal (Cummings *et al.*, 2005). El mecanismo por el cual

actúa la oxintomodulina no está del todo claro; sin embargo, Strader *et al.* (2005) mencionan que dicha hormona actúa como agonista del receptor para GLP-1, ya que la aplicación de un antagonista para GLP-1 también inhibe el efecto anorexigénico de la oxintomodulina. El tratamiento con oxintomodulina exógena en humanos redujo el CV y por lo tanto la ingesta calórica en un 19.3% (Wynne *et al.*, 2005).

Hasta el momento no se ha reportado un receptor específico para la oxintomodulina, pero el hecho de que su efecto anorexigénico sea muy similar al del GLP-1 puede sugerir que esta hormona también sea ligando para dicho receptor, sin embargo, el hecho de que la afinidad de la oxintomodulina por el receptor para GLP-1 sea de la mitad que la que demuestra el GLP-1, sugiere que la oxintomodulina debe tener una vía de acción diferente. Además, la oxintomodulina puede tener un efecto indirecto sobre el control del CV, ya que la aplicación exógena de esta hormona reduce de manera considerable los niveles circulantes de ghrelina, la cual tiene efecto orexigénico (Wynne *et al.*, 2005).

2.1.4. Péptido YY

Otra de las hormonas que intervienen en la regulación del CV es el péptido YY (PYY); esta hormona es una molécula de 36 aminoácidos que es producida tanto a nivel del SNC como a nivel periférico; las células L en el intestino delgado son las encargadas de secretar la hormona. Se han reportado dos formas de PYY, el tipo 1-36 y el tipo 3-36, los cuales parecen actuar de distintas maneras; el PYY 1-36 se encuentra en altas concentraciones en animales en ayuno, mientras que el PYY 3-36 se ve en concentraciones altas después de la ingesta de alimento (Hollis *et al.*, 2005).

El PYY tipo 3-36, es secretado en respuesta a la ingestión de alimentos que contengan una alta densidad energética, por lo tanto, su secreción es mayor sobre todo en dietas altas en lípidos y carbohidratos. La administración parenteral del PYY 3-36, además de disminuir el vaciado gástrico, demostró disminuir la ingesta de alimento hasta en un 30% en humanos, sin producir

efectos sobre el consumo de líquidos. Por otra parte, la reducción en el CV no fue seguida por un pico de hiperfagia. Aún hay muchas incógnitas al respecto del efecto del PYY 3-36 en el control del CV ya que, la aplicación exógena de PYY disminuye la ingesta de alimento y la ganancia de peso en roedores y humanos; pero cuando se inyectó de forma directa en el SNC (tanto de PYY 1-36 como de PYY3-36) se incrementó el CV en ratas (Strader *et al.*, 2005).

Al parecer el efecto anorexigénico del PYY secretado en el sistema digestivo se da por la inhibición de la secreción del neuropéptido Y (NPY) y de la ghrelina, hormonas que tienen efecto orexigénico (Strader *et al.*, 2005).

2.1.5. Leptina

La leptina es una hormona peptídica, producida principalmente por los adipocitos, sin embargo, hay otros tejidos que la producen, como el músculo esquelético, la placenta y el estómago. La leptina juega un papel muy importante en el control del CV, funcionando como un factor anorexigénico. Periodos de ayuno prolongados llevan a una reducción en la producción de leptina, lo cual puede revertirse con la realimentación o con administración de insulina (Druce *et al.*, 2003).

Los niveles circulantes de leptina están muy relacionados con la energía, almacenada en un organismo ya que son proporcionales a la masa corporal de tejido adiposo (Hollis *et al.*, 2005).

La administración exógena de leptina en ratones genéticamente modificados para ser deficientes en esta hormona, redujo drásticamente su CV y su peso corporal. Por otra parte, en humanos obesos, los niveles de leptina normalmente son altos y la administración exógena de la hormona ha dado resultados poco constantes. El efecto anorexigénico de la leptina, se lleva a cabo por medio de un bloqueo a dos niveles, en primer lugar detiene la secreción del NPY a nivel hipotalámico, mientras que también bloquea la secreción de la proteína relacionada con agouti, ambas hormonas son potentes agentes orexigénicos. La aplicación crónica de leptina de forma exógena

deprime el CV, produce una baja de peso y una disminución en la cantidad de tejido adiposo en ratones; mientras que la ausencia de leptina, como ocurre en ratones *ob/ob* y en humanos con un desorden genético, los cuales no producen leptina, provoca una hiperfagia descontrolada, la cual es revertida tras la administración de la leptina. Los individuos carentes de leptina tienden a depositar grandes volúmenes de grasa pero sus adipocitos no producen el péptido (Hollis *et al.*, 2005).

2.1.6 Insulina

Esta hormona es tal vez la más estudiada de las que tienen efecto sobre el CV. Al igual que la leptina los niveles circulantes de insulina, son proporcionales a las cantidades corporales de tejido adiposo (Petersen *et al.*, 2006). A diferencia de la leptina, la cual no es secretada inmediatamente después de la ingestión de alimentos, los niveles circulantes de insulina se ven incrementados inmediatamente después de la comida. La insulina es capaz de cruzar la barrera hematoencefálica en cantidades proporcionales a la concentración de insulina circulante. Una vez que la insulina se encuentra a nivel de sistema nervioso central, esta hormona es una señal anorexigénica, y deprime el CV y disminuye el peso corporal en animales tratados con esta hormona de manera exógena (Schwartz *et al.*, 2000).

Los efectos de la insulina, como hormona anorexigénica, se han podido comprobar ya que la inyección de insulina a nivel de SNC deprime el CV en roedores; por otra parte un daño en las neuronas de SNC que contienen el receptor para insulina, causa un efecto completamente contrario ya que los animales con ese tipo padecimiento se hacen totalmente insensibles a los niveles periféricos de insulina. A pesar que aún no esta totalmente claro como funciona el mecanismo regulador de la ingesta en el que interviene la insulina, parece que al igual que la leptina, es un mediador de la secreción de NPY; ya que en experimentos con ratas en ayuno, la inyección de insulina a nivel de SNC, disminuyó de forma drástica los niveles de NPY a nivel del hipotálamo; mientras que en el caso de ratas deficientes en insulina producen cantidades aumentadas del neuropéptido Y (Wynne *et al.*, 2005).

2.1.7. Orexina-A y Orexina-B

En el caso de estos péptidos se hace mayor referencia a la orexina-A ya que el de tipo B es un derivado del de tipo A, sin embargo el de tipo B no tiene el efecto orexigénico que el de tipo A, incluso en algunos trabajos no se ha encontrado efecto orexigénico con el tipo B (Arch, 2005). Estos péptidos, son secretados por neuronas denominadas sensibles a la glucosa, las cuales funcionan o se activan cuando los niveles de glucosa son pobres a nivel del SNC. Existen trabajos que demuestran que existe una relación inversamente proporcional entre las concentraciones sanguíneas de glucosa y la producción de orexina a nivel central, con los que se relacionan altos niveles de orexina-A a nivel central, con bajos niveles sanguíneos de glucosa y con el inicio en el consumo de alimento (Arch, 2005).

2.1.8. Neuropeptido Y

Uno de los principales controladores de la ingesta a nivel del SNC es el neuropeptido Y, es producido a nivel del núcleo arcuato del hipotálamo, las cantidades presentes de este péptido son un indicador del estado nutricional del animal; las concentraciones de NPY se encuentran altas cuando el animal es sometido a periodos de ayuno, pero regresan a sus niveles basales cuando el animal vuelve a consumir alimento. El NPY es un potente factor orexigénico, ya que, al aplicar inyecciones repetidas a nivel de SNC en roedores, estos incrementaron de manera significativa su CV y su ganancia de peso (Druce *et al.*, 2003).

La inyección de NPY, incrementa la actividad de enzimas lipogénicas tanto a nivel de hígado como de tejido adiposo, por lo que una administración crónica de NPY, lleva a la obesidad. La ausencia de NPY aún en ratones carentes de leptina, disminuye la obesidad y la síntesis de tejido adiposo, ya que el efecto

anorexigénico de la leptina, se debe a que dicha hormona genera un bloqueo en la producción del neuropéptido Y (Hollis *et al.*, 2005).

2.1.9. Proteína relacionada con Agouti

Esta hormona es producida en el núcleo arcuato del hipotálamo. La proteína relacionada con agouti (AgRP), es un péptido que provoca el consumo de alimento, bloqueando la vía anorexigénica (Figura 1), antagonizando de manera indirecta el efecto de la leptina a nivel del SNC (Schwartz *et al.*, 2000).

2.1.10. Proopiomelanocortina

A diferencia del NPY y de la orexina-A, la proopiomelanocortina (POMC), es un miembro de la vía anorexigénica, es decir la presencia de este péptido inhibe el CV; se debe mencionar que POMC, es una proteína precursora de varios péptidos relacionados con efectos anorexigénicos (sobre todo la hormona estimuladora de los melanocitos alfa y gama), pero se menciona a la POMC como un grupo de péptidos que intervienen en el control del CV por medio de su interacción con la insulina y la leptina. Las concentraciones altas de las señales de adipocito (leptina e insulina), producen un incremento en la producción de POMC, a nivel del núcleo arcuato del hipotálamo, así como un marcado descenso en la producción de NPY, lo que indica claramente que la POMC es un fuerte depresor del CV (Broberger, 2005).

2.1.11. Hormona estimuladora de los melanocitos.

La hormona estimuladora de los melanocitos pertenece a un sistema llamado melanocortinérgico, en este sistema se pueden encontrar varias hormonas que provienen de la POMC. Este sistema interviene en funciones como la inflamación, la pigmentación de la piel, analgesia, depresión estrés y juega un rol muy importante en el CV. La hormona estimuladora de los melanocitos tiene un efecto anorexigénico al acoplarse a su receptor MC4R; en humanos que presentan una mutación en dicho receptor, que no permite la

unión del ligando, se produce un síndrome de obesidad y ocurre algo muy similar en ratones modificados genéticamente para carecer del MC4R.

En la Figura 1 se muestra un esquema simple de como se lleva a cabo parte de la regulación de consumo alimenticio a nivel central.

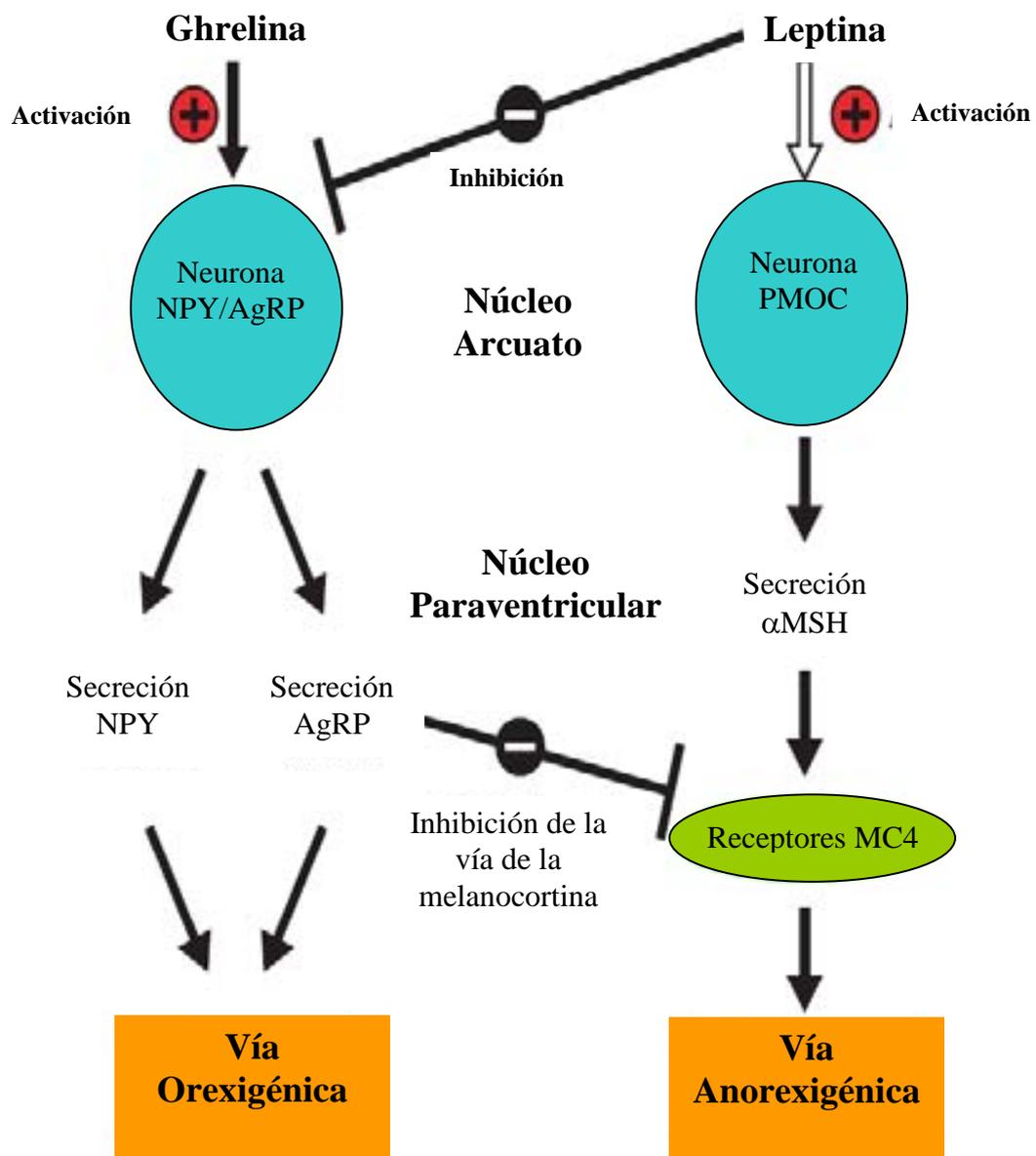


Figura 1. Vía orexigénica y anorexigénica como mediadoras del control del consumo de alimento.

2.1.12. Ghrelina

2.1.12.1. Reseña histórica de la ghrelina

La ghrelina es un compuesto que fue descubierto de una forma muy particular, ya que primero se descubrió el receptor y la función del ligando, sin haber descubierto a la hormona (Kojima *et al.*, 2005), misma que fue descubierta 20 años después de que se describió su función (Holst *et al.*, 2005). Esto fue posible por medio de la investigación sobre los llamados secretagogos de la hormona del crecimiento (GHSs); los primeros de estos compuestos surgen por medio de trabajos de investigación con fármacos derivados de los opioides que demuestran promover una liberación súbita y marcada de la hormona del crecimiento (GH), por lo que adquieren el nombre de secretagogos de la hormona del crecimiento (Seoane *et al.*, 2004). El descubrimiento de los primeros GHSs da inicio a una serie de investigaciones que traen como resultado, que se generen nuevos compuestos sintéticos con mayor potencia liberadora de GH (Argente *et al.*, 1996; Micic *et al.*, 1999).

En 1993 se sintetizó un GHSs no peptídico y a partir de esto se les da a estos compuestos un uso clínico, para promover la producción de GH en pacientes con deficiencia de esta hormona (Patchett *et al.*, 1995; Thorner *et al.*, 1997). La mayoría de los GHSs conocidos hasta inicios de los noventas eran compuestos sintéticos, de origen peptídico o lipídico (Robinson, 2000; Smith *et al.*, 1999), pero unos años después Kojima *et al.* (1999) aíslan un compuesto producido en el estómago de la rata, el cual actúa igual que los secretagogos sintéticos; dicho compuesto fue llamado ghrelina.

2.1.12.2. Tejidos productores de ghrelina

La ghrelina se produce en muchos tejidos en distintas especies animales; se ha reportado en intestino delgado y grueso, páncreas, riñón, placenta, hipófisis, gónadas, hipotálamo y algunos otros tejidos (Gnanapavan, 2002). Sin embargo, el estómago es el órgano de donde se aisló dicha hormona y que es el principal productor, sobre todo en la región fúndica. Las células productoras de ghrelina son llamadas células tipo X/A, dichas células almacenan el péptido en gránulos citoplásmicos. Las células X/A comprenden alrededor del 20% de la población total de células endocrinas de las glándulas oxínticas del estómago en animales adultos y se han identificado como una población independiente al resto de las células endocrinas del estómago (Rindi *et al.*, 2004).

2.1.12.3. Estructura de la ghrelina

La ghrelina es una molécula de tipo peptídico que está compuesta de 28 aminoácidos, en el tercer aminoácido (serina), tiene unido un ácido graso n-octanoico, la presencia de este ácido es indispensable para que la ghrelina sea activa ya que el ácido n-octanoico le sirve a la molécula para unirse a su receptor (Otto *et al.*, 2005).

A nivel del fondo gástrico se produce una gran cantidad de ghrelina, la cual inicialmente no posee del ácido graso en su estructura y carece de actividad como secretagogo; pero se ha demostrado que, al igual que la ghrelina completa, induce adipogénesis (Cassoni *et al.*, 2004). Aún no se sabe si la ghrelina sin ácido graso es una preforma de la ghrelina activa o representa un residuo de la hormona tras una deacilación. La ghrelina es la primera hormona conocida que tiene en su molécula una combinación de estructura peptídica y lipídica (Kojima *et al.*, 1999).

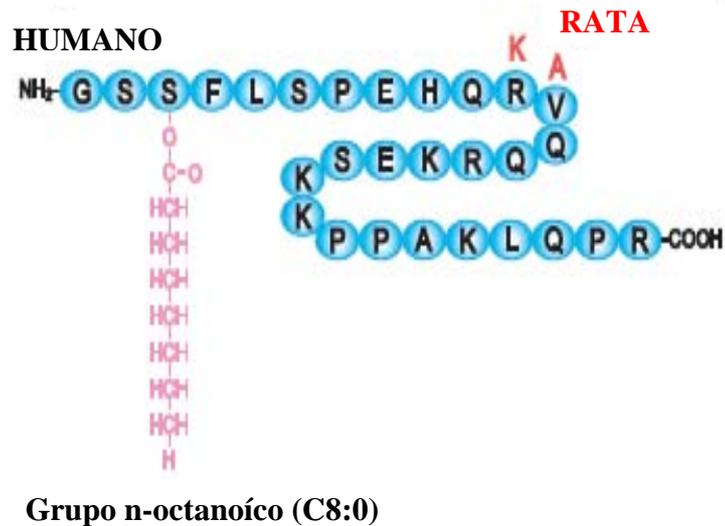


Figura 2. Estructura de la ghrelina humana y de rata (se marcan en rojo los aminoácidos que son diferentes en ghrelina de rata comparada con la de humano).

2.1.12.4. La ghrelina en diferentes especies

La producción de ghrelina se ha reportado en distintas especies animales, encontrando gran similitud estructural entre las moléculas. Se ha descubierto la molécula de ghrelina en humano, mono rhesus, ratón, rata, vaca, cerdo, oveja, perro entre otras especies animales. En la mayoría de las especies en las que se ha encontrado ghrelina, la estructura de la molécula está sumamente conservada, sobre todo en los 10 aminoácidos del extremo del grupo amino y tiene el ácido n-octanito unido en el tercer aminoácido que en todos los casos es una serina (Figura 2), otro aspecto que se debe resaltar es que la ghrelina de bovino y ovino tienen únicamente 27 aminoácidos ya que no tiene una glicina en la posición 14, a diferencia de la ghrelina de otros mamíferos (Kojima *et al.*, 2005).

En el Cuadro 1 se muestra una comparación de la estructura de las ghrelinas de diferentes animales, los aminoácidos del mismo color son idénticos entre especies y el asterisco indica el aminoácido en el que se encuentra el ácido n-octanito.

Cuadro 1. Comparación estructural de ghrelinas en diferentes especies (adaptado de Kojima *et al.*, 2005).

Mamíferos		*																			
Humano	G S S F L S P E H Q R V Q Q R K E S K K P P A K L Q P R																				
Mono rhesus	G S S F L S P E H Q R A Q Q R K E S K K P P A K L Q P R																				
Ratón	G S S F L S P E H Q K A Q Q R K E S K K P P A K L Q P R																				
Rata	G S S F L S P E H Q K A Q Q R K E S K K P P A K L Q P R																				
Perro	G S S F L S P E H Q K L Q Q R K E S K K P P A K L Q P R																				
Cerdo	G S S F L S P E H Q K V Q Q R K E S K K P A A K L K P R																				
Ovino	G S S F L S P E H Q K L Q - R K E P K K P S G K L K P R																				
Bovino	G S S F L S P E H Q K L Q - R K E A K K P S G K L K P R																				
Aves		*																			
Pollo	G S S F L S P T Y K N I Q Q Q K D T R K P T A R L H																				
Pato	G S S F L S P E F K K I Q Q Q N D P T K T T A K I H																				
Emú	G S S F L S P D Y K K I Q Q Q K D P R K P T T K L H																				
Ganso	G S S F L S P E F K K I Q Q Q N D P A K A T A K I H																				
Pavo	G S S F L S P A Y K N I Q Q Q K D T R K P T A R L H P R																				
Peces		*																			
Trucha	G S S F L S P S Q K P Q G K G K - P P R V Amida																				
Anguila	G S S F L S P S Q R P Q G K D K K P P R V Amida																				
Pez dorado	G T S F L S P A Q K P Q - - G R R P P R M Amida																				
Pez cebra	G T S F L S P T Q K P Q - - G R R P P R V Amida																				
Tilapia	G S S F L S P S Q K P Q N K V K - S S R I Amida																				
Anfibios		*																			
Rana Toro	G L T F L S P A D M Q K I A E R Q S Q N K L R H G N M N																				

En el estómago de la rana toro se han encontrado tres moléculas muy similares a la ghrelina, con una secuencia de 27 ó 28 aminoácidos, estas moléculas son similares en un 30 % a la humana y al igual que la ghrelina de los mamíferos estas moléculas producen un efecto positivo en la liberación de GH. En algunas aves también se ha reportado la presencia de ghrelina, la cual es producida en el proventrículo, esta hormona conserva una secuencia similar en un 54% con la de los humanos y a diferencia de los anfibios la ghrelina de los pollos mantiene una serina en la posición 3 (Saito *et al.*, 2005).

Adicionalmente, se han aislado moléculas de ghrelina del estómago de trucha, mojarra y pez dorado (Kojima *et al.*, 2005)

2.1.12.5. Receptor para ghrelina

El receptor para los secretagogos de hormona del crecimiento (GHS-R) en la glándula pituitaria (Peeters, 2005), es un típico receptor acoplado a proteínas G que estructuralmente tiene siete dominios transmembranales, se han descubierto dos receptores para ghrelina los cuales han sido denominados 1a y 1b (Howard *et al.*, 1996).

El receptor de tipo 1a es un receptor activo que desencadena una cascada de activación, sin embargo, el receptor de tipo 1b carece de actividad fisiológica o al menos hasta el momento no se le ha descubierto; los dos tipos de receptores para ghrelina son codificados por el mismo gen, que contiene 2 exones, el primer exón codifica para los dominios transmembranales uno a cinco, mientras que el segundo exón de este gen codifica para los dominios seis y siete, el receptor de tipo 1b es codificado únicamente por el primer exón, por lo que este receptor cuenta con únicamente 5 dominios transmembranales (Howard *et al.*, 1996).

El receptor activo para ghrelina se ha localizado y reportado en corazón, riñón, hígado, páncreas, estómago, intestinos y en tejido adiposo; sin embargo, el receptor para ghrelina se encuentra en mayor cantidad en los núcleos arcuato y ventromedial del hipotálamo y en la glándula pituitaria (Holst *et al.*, 2004).

2.1.12.6. Actividad fisiológica de la ghrelina

La actividad fisiológica de la ghrelina que ha sido más estudiada es su capacidad como factor liberador de la hormona del crecimiento (St-Pierre *et al.*, 2003; Wren *et al.*, 2001). La ghrelina, al igual que los GHSs sintéticos, es

capaz de promover la liberación de la GH, tanto *in vivo* como *in vitro* (Bednarek *et al.*, 2000). Es importante mencionar que la ghrelina incrementa la producción de hormona del crecimiento mediante un mecanismo independiente al que utiliza la hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH) (Lazarczyk *et al.*, 2003), ya que animales tratados con antagonistas de la GHRH, liberan GH si se les aplica ghrelina exógena. Tanto GHRH como ghrelina tienen un receptor acoplado a proteínas G, pero su segundo mensajero es diferente (Sun *et al.*, 2004). La GHRH tiene al AMPc como segundo mensajero, mientras que la ghrelina utiliza el calcio como segundo mensajero (Kojima *et al.*, 2005).

El efecto liberador de GH tanto de la ghrelina como de la GHRH ha sido comparado por diversos autores, reportando que la GHRH tiene mayor potencia *in vitro*, mientras que la ghrelina ha demostrado mayor potencia cuando es aplicada *in vivo*, pero se ha demostrado que aplicándolas juntas tienen un efecto sinérgico (Aart *et al.*, 2004).

El efecto de la ghrelina como secretagogo de hormona del crecimiento se encuentra reportado en muchos mamíferos; el primer reporte se realizó en roedores, encontrando niveles más altos de GH en ratas tratadas con ghrelina exógena que en animales que no recibieron tratamiento (Kojima *et al.*, 1999). Hashizume *et al.* (2003) encontraron incrementos en la síntesis de GH en células de la adenohipófisis de cerdo cultivadas *in vitro*, después de la aplicación de ghrelina humana y de rata.

Estudios en rumiantes demuestran que la ghrelina tiene también un efecto sobre la producción de GH. En un estudio realizado en cabras, se demostró que la inyección intravenosa de 3µg/Kg de peso vivo de ghrelina de rata incrementó de manera significativa la concentración plasmática de GH, resultados similares han sido reportados tras la inyección intrahipotalámica de ghrelina en becerros (Hashizume *et al.*, 2005).

En cerdos hay trabajos que reportan un marcado efecto de la inyección intravenosa de ghrelina humana sobre la liberación de GH (Salfen *et al.*, 2004), también existen reportes de este efecto en aves de corral (Baudet *et al.*, 2003;

Kaiya *et al.*, 2002). Resultados similares se han encontrado en especies de peces como tilapia, pez dorado, anguila y otras (Kaiya *et al.*, 2003; Unniappan *et al.*, 2005).

La liberación de GH no es la única función que se ha descubierto de la ghrelina, se ha encontrado que esta hormona tiene un importante efecto en la regulación del consumo voluntario de alimento (Adams *et al.*, 2004) como hormona orexigénica (Lawrence *et al.*, 2002). Las concentraciones plasmáticas de ghrelina son altas en animales en ayuno (Wertz-Lutz *et al.*, 2006), por lo que se le ha relacionado directamente con el hambre y con la iniciación de la ingesta de alimento.

El control fisiológico del CV además de ser indispensable para la sobrevivencia de los animales, es base en la producción animal. Es un hecho que el comportamiento alimenticio de todos los animales está regulado por el sistema nervioso central y particularmente a nivel del hipotálamo, un ejemplo de esto es que la remoción quirúrgica de la parte lateral del hipotálamo causa hipofagia, mientras que la remoción del área ventromedial causa hiperfagia y obesidad severa. Actualmente se cuenta con información que demuestra que, la regulación de la conducta alimentaria es influida por una serie de factores de tipo humoral y que estos factores no son producidos únicamente a nivel de SNC, ya que hay varios factores que son producidos a nivel periférico y que intervienen en la regulación del apetito (Neary *et al.*, 2004; Wynne *et al.*, 2005).

En el SNC, específicamente en algunos núcleos hipotalámicos, involucrados en la regulación del CV, se han encontrado neuronas que contienen ghrelina y que reaccionan a esta hormona (Badman *et al.*, 2005). Las neuronas involucradas con la ghrelina tienen fibras aferentes en estrecha relación con las neuronas productoras de NPY y de proteína de tipo Agouti (AgRP), mediante dichas fibras la ghrelina produce la liberación de NPY y de AgRP, las cuales son hormonas con alta capacidad orexigénica (Goto *et al.*, 2006). Es evidente que el efecto orexigénico de la ghrelina está estrechamente relacionado con NPY y AgRP, ya que la ghrelina no tiene efecto sobre el CV en animales tratados con antagonistas para NPY y AgRP (Chen *et al.*, 2004).

Si la ghrelina es aplicada a nivel de sistema nervioso central en ratones, su efecto es muy rápido y de corta duración, sin embargo la aplicación constante por esta vía mantiene el incremento de ganancia diaria de peso (GDP) (Iwakura *et al.*, 2007).

Existen trabajos que han demostrado el efecto de la ghrelina sobre el CV y la GDP. Al menos en roedores, el incremento de peso producido tras la aplicación exógena de ghrelina, es debido a un incremento en el tejido adiposo sin cambiar la cantidad de tejido muscular (Cummings *et al.*, 2002).

Si la ghrelina produce un incremento en los niveles plasmáticos de hormona del crecimiento y es un agente lipolítico, la cantidad de grasa corporal debería disminuir tras la aplicación exógena de ghrelina, pero el efecto es completamente contrario (Aart *et al.*, 2004). El efecto de incremento en la masa de tejido graso se ha repetido y demostrado con la aplicación de ghrelina, así como con la utilización de secretagogos sintéticos de la hormona del crecimiento (Tschop *et al.*, 2002). En los animales tratados con ghrelina exógena, se ha demostrado que la ghrelina tiene un efecto promotor de la mitosis en los adipocitos y funciona como un agente antiapoptótico del tejido adiposo (Kim *et al.*, 2004).

La mayor parte de la información que se ha generado de los efectos de ghrelina, ha sido en animales con fines únicamente de experimentación y principalmente en roedores (Keen-Rhinehart *et al.*, 2005) y en humanos (Cummings *et al.*, 2004), mientras que la información generada en animales para producción de alimentos es limitada.

En ganado lechero, Itoh *et al.* (2005) evaluaron los efectos de la aplicación exógena de ghrelina tanto en becerros como en vacas en producción, encontrando un claro efecto de la ghrelina como hormona liberadora de la hormona del crecimiento en rumiantes, sin embargo en dicho trabajo, no se evaluó el efecto de la hormona sobre el CV.

En lechones recién destetados se encontró que la aplicación exógena de ghrelina, por vía endovenosa, no produjo efectos sobre el CV, sin embargo los lechones tratados con la ghrelina tuvieron mayor GDP que los animales control, mientras que los niveles plasmáticos de hormona de crecimiento se vieron incrementados en los animales tratados con ghrelina a partir de los 15 minutos de la infusión de la hormona (Salfen *et al.*, 2004).

En la literatura revisada se han utilizado diferentes vías de administración para medir el efecto de la hormona, vías que han incluido aplicaciones intracerebroventriculares, IM, IV y SC (Grouselle *et al.*, 2008; ThidarMyint *et al.*, 2008; Enomoto *et al.*, 2003), sin embargo, a la fecha no se ha determinado cual vía es la que mejor respuesta puede promover.

3) Justificación

Se ha demostrado que la ghrelina juega un papel muy importante en algunas especies animales en cuanto al inicio del consumo de alimento y en la cantidad ingerida, esta información ha sido el resultado de estudios realizados sobre todo en seres humanos y en roedores. Sin embargo, existe poca información sobre el efecto de la ghrelina en animales de producción, como es el caso de los ovinos. Por lo tanto, el propósito del presente trabajo es establecer si la ghrelina exógena tiene un efecto positivo en el CV y en la GDP y la EA, de tal manera que pueda utilizarse en la práctica como una herramienta para mejorar la producción animal.

4) Objetivos

4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto que tiene la vía de aplicación de ghrelina humana sintética sobre las concentraciones plasmáticas de la hormona y su efecto sobre la respuesta productiva (GDP, EA y CV) de corderos tratados con

4.2. Objetivos específicos

- Determinar la concentración basal de la hormona ghrelina en ovinos en crecimiento.
- Determinar el efecto de la administración intravenosa, subcutánea o intramuscular de ghrelina sintética sobre la concentración plasmática de la hormona.
- Evaluar el efecto de la administración de ghrelina sintética en la concentración sanguínea de glucosa.
- Evaluar el efecto de la aplicación de ghrelina sintética por vía subcutánea en la concentración sanguínea de ghrelina y en la respuesta productiva de corderos en finalización.

3) Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias; localizado en el kilómetro 1 de la carretera Ajuchitlán-Colón, en el municipio de Colón, Querétaro, ubicado a 1950 m sobre el nivel del mar con un clima BS1k'(w) semiseco templado, con lluvias en el verano de 500-600 mm y una temperatura media de 16°C (INEGI, 2001).

La cuantificación de la concentración sanguínea de ghrelina se llevó a cabo en el laboratorio de radioinmunoanálisis del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal en Palo Alto, D.F.

5.1. Experimento 1

Objetivos específicos:

- Determinar la concentración plasmática normal de la hormona ghrelina en ovinos en crecimiento.
- Determinar el efecto de la administración intravenosa, subcutánea o intramuscular de ghrelina sintética sobre la concentración plasmática de la hormona.
- Evaluar el efecto de la administración de ghrelina sintética en la concentración sanguínea de glucosa.

Se utilizaron seis corderos Blackbelly en crecimiento, con un peso promedio de 26.2 (\pm 1.08) Kg y una edad promedio de 120 (\pm 16.5) días, los animales fueron desparasitados (Iverfull, 1 ml/ 50Kg PV) y vacunados (Ultrabac 7, 2 ml/animal) y alojados en jaulas metabólicas individuales bajo techo; los corderos recibieron alimento formulado para desarrollo, compuesto por sorgo entero (65 %), soya (16%), melaza (3%), heno de zacate (14%) y sales minerales (2%); el alimento fue ofrecido a las 8:00 h a libre acceso en comederos de cubeta, los animales contaron con agua a libre acceso en bebedero de cubeta.

Los animales se distribuyeron de manera aleatoria en tres tratamientos de un diseño completamente al azar:

- Tratamiento IV. Aplicación intravenosa de 3 μg de ghrelina por Kg de peso vivo una vez al día (12:00 h).
- Tratamiento SC. Aplicación subcutánea de 3 μg de ghrelina por Kg de peso vivo una vez al día (12:00 h).
- Tratamiento IM. Aplicación intramuscular de 3 μg de ghrelina por Kg de peso vivo una vez al día (12:00 h).

Las dosis aplicadas fueron basadas en los trabajos de Meléndez et al. (2006).

La duración del experimento fue de 25 días, los primeros 20 fueron para la adaptación al alimento y a las jaulas, uno para la cateterización de los corderos, los siguientes tres para aplicación de la ghrelina y toma de muestras y el último día solo para toma de muestras sin aplicación de ghrelina, los muestreos del último día se utilizaron como testigo y para determinar las concentraciones normales de la hormona.

El día 21 del experimento, se les colocó a los corderos un catéter de poliuretano (Subclavicat®) en la vena yugular con el propósito de disminuir el manejo durante la toma de muestras y para facilitar la aplicación de la hormona por vía intravenosa en los tres días posteriores. El día 22 se inició la aplicación de ghrelina sintética humana (Phoenix Pharmaceuticals Inc., número de catálogo 030-31) y se iniciaron los muestreos, mismos que se realizaron de acuerdo al siguiente horario: 7:30, 8:00, 8:15, 8:30, 9:00, 10:00, 11:00, 12:00, 12:15, 12:30, 13:00, 14:00 y 15:00 h. El esquema de muestreo se realizó para verificar la evolución de la concentración de ghrelina antes y después del ofrecimiento de alimento y antes y después de la aplicación de la hormona. El día 25 se tomaron muestras bajo el mismo esquema sin la aplicación de ghrelina sintética.

Para la medición de la concentración plasmática de ghrelina se tomaron 4 ml de sangre a través del catéter, utilizando una jeringa de 10 ml; la muestra fue transferida inmediatamente a tubos Vacutainer®, los cuales contenían 143 unidades de heparina sódica, las muestras fueron conservadas en hielo para su traslado al laboratorio. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 2500 g durante 20 min. y almacenadas a -40°C hasta el momento de su análisis.

La aplicación IV de ghrelina se realizó a través del catéter; la aplicación SC se hizo levantando la piel de la región torácica a la altura del codo; la aplicación IM se realizó en la zona del muslo. En los casos de SC e IM, el lado de aplicación se alternó diariamente.

La concentración sanguínea de ghrelina fue medida a través de radioinmunoanálisis, utilizando el kit GHRT-89HK Ghrelina Total® de Linco Laboratories; la concentración de glucosa sanguínea fue medida de manera inmediata al muestreo utilizando tiras reactivas y el medidor One Touch Ultra®.

El consumo voluntario de alimento se cuantificó registrando la cantidad ofrecida y restando la cantidad sobrante al día siguiente. El alimento sobrante se desechaba diariamente, ofreciendo alimento nuevo en cada día.

Las variables de respuesta evaluadas fueron: concentración sanguínea de ghrelina y concentración sanguínea de glucosa. Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza para un diseño completamente al azar con un arreglo factorial, utilizando el paquete SAS (SAS, 2008).

El modelo utilizado fue:

$$y = \mu + T_i + H_j + T^*H_{ij} + E$$

Donde:

y = variable de respuesta

μ = efecto de la media poblacional

T_i = efecto del i ésimo tratamiento ($i= 1\dots3$)

H_j = efecto del j ésimo horario de muestreo ($j= 1\dots13$)

T^*H_{ij} = efecto de la interacción tratamiento por muestreo

E = error experimental

5.2. Experimento 2

Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto de la aplicación de ghrelina sintética una o dos veces al día por vía subcutánea, en la concentración sanguínea de ghrelina.
- Evaluar el efecto de la aplicación de ghrelina sintética una o dos veces al día por vía subcutánea en la respuesta productiva de corderos en finalización.

Con base en los resultados obtenidos en el Experimento 1, se decidió utilizar la vía subcutánea, ya que las concentraciones plasmáticas de la hormona aplicada por esta vía fueron las más estables.

Se utilizaron 12 corderos machos de la raza Pelibuey, criados en un sistema de producción basado en el pastoreo de praderas de alfalfa, los corderos tuvieron peso promedio de 21.29 (\pm 1.52) Kg. y una edad promedio de 90 (\pm 7.19) días; los animales fueron desparasitados (Iverfull, 1 ml/ 50Kg PV) y vacunados (Ultrabac 7, 2 ml/animal) y se alojaron en corraletas individuales techadas, con comedero de canoa y bebedero tipo chupón, se les ofreció alimentación a base de una dieta comercial (Malta Cleyton), servida a libre acceso y complementada con heno de pasto como forraje, del mismo modo se les ofreció agua a libre acceso; el alimento se sirvió diariamente a las 8:00 horas y el alimento sobrante se pesó diariamente a las 7:30 del día siguiente.

Los 12 corderos fueron distribuidos de manera aleatoria en tres tratamientos (4 animales por tratamiento) en un diseño completamente al azar:

- Tratamiento Testigo. Aplicación subcutánea de solución salina fisiológica (8:00 h).
- Tratamiento Ghr 1. Aplicación subcutánea de 3 μ g ghrelina por Kg de peso vivo, una vez al día (8:00 h).

- Tratamiento Ghr 2. Aplicación subcutánea de 3 μg ghrelina por Kg de peso vivo, dos veces al día (8:00 y 12:00 h) para un total de 6 μg / Kg de PV/día.

El experimento tuvo una duración de 26 días, de los cuales 15 fueron para adaptación al alimento y corraletas; un día para la cateterización de los corderos y 10 días para la aplicación de la ghrelina y toma de muestras.

Los corderos se pesaron, al inicio del experimento y al inicio y final de la aplicación de los tratamientos.

El día 16 del experimento se les colocó a los corderos un catéter intravenoso de poliuretano (Subclavicat®) con el propósito de disminuir el estrés de los animales para la toma de las muestras.

Del día 17 hasta el día 26, los animales recibieron la aplicación de ghrelina sintética humana, la cual se realizó a las 8:00 horas, para los animales con una sola aplicación de ghrelina (Ghr1); en el caso del grupo con dos aplicaciones por día (Ghr2), las inyecciones se realizaron a las 8:00 y a las 12:00 horas. En el caso de los animales Testigo se aplicó solución salina, tanto a las 8:00 como a las 12:00 horas. Los corderos de Ghr1 recibieron solución salina a las 12:00.

La toma de muestras sanguíneas se realizó bajo el siguiente esquema:

7:30 h, para verificar los niveles de ghrelina antes de la primera aplicación y antes del ofrecimiento de alimento;

8:00 h, inmediatamente antes de la aplicación y ofrecimiento de alimento;

8:30 h, para verificar el efecto inmediato de la aplicación;

9:00, 10:00, 11:00, 12:00 h, muestreos para evaluar la evolución de las concentraciones plasmáticas de ghrelina;

12:30 h, para observar el efecto inmediato de la segunda aplicación en los animales del tratamiento GHR2;

13:00, 14:00, 15:00, 16:00, 17:00, 18:00 y 20:00 h, muestreos para evaluar la evolución de la concentración sanguínea de ghrelina a lo largo del día.

Para la medición de la concentración plasmática de ghrelina, se tomaron aproximadamente 4 ml de sangre a través del catéter yugular; la muestra era vaciada inmediatamente a tubos Vacutainer® conteniendo 143 unidades de heparina sódica y conservada en hielo para su traslado al laboratorio. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 2500 g durante 20 min. y almacenadas a -40°C hasta el momento de su análisis. La concentración sanguínea de ghrelina fue medida a través de radioinmunoanálisis utilizando el mismo tipo de material y metodología descrita en el Experimento 1.

Con la finalidad de verificar si existía algún efecto en el patrón de consumo de alimento relacionado con los tratamientos, se evaluó el CV de los corderos a lo largo del día, midiendo los sobrantes a las 12:00, 14:00, 16:00, 20:00 h; el alimento sobrante a las 8:00 h del día siguiente fue registrado y retirado de los comederos y reemplazado por alimento nuevo.

Los corderos se pesaron al inicio del experimento y al inicio y final del periodo de muestreo para determinar la GDP, con este dato y el CV, se obtuvo la EA.

Las variables de respuesta para este experimento fueron: concentración sanguínea de ghrelina, consumo voluntario de alimento, ganancia diaria de peso y eficiencia alimenticia.

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza para un diseño completamente al azar con un arreglo factorial (SAS, 2008).

El modelo utilizado fue:

$$y = \mu + T_i + H_j + T^*H_{ij} + E$$

Donde:

y = variable de respuesta

μ = efecto de la media poblacional

T_i = efecto del *i*ésimo tratamiento ($i= 1 \dots 3$)

H_j = efecto del *j*ésimo horario de muestreo ($j= 1 \dots 14$)

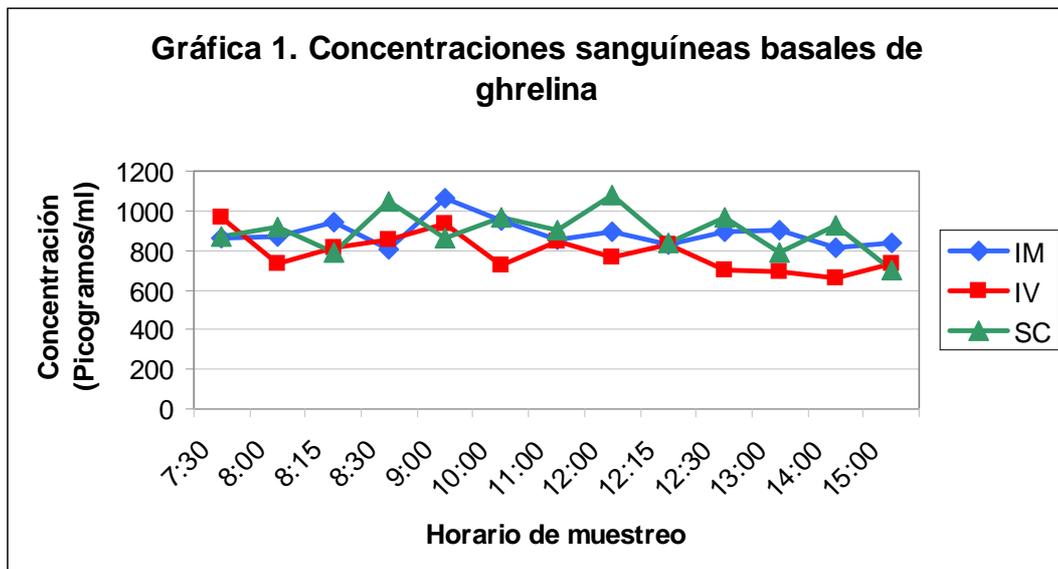
T^*H_{ij} = efecto de la interacción tratamiento por muestreo

E = error experimental

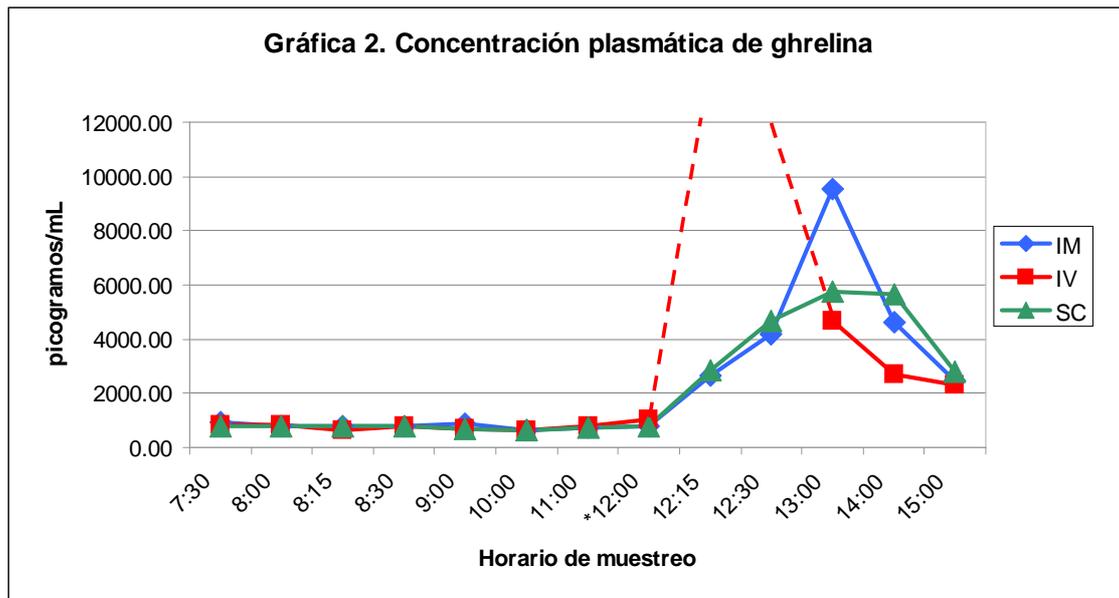
3) Resultados y discusión

Experimento 1

La concentración de ghrelina no mostró cambios relacionados con el ofrecimiento de alimento ni a lo largo del día; en la Gráfica 1 se muestran las concentraciones basales promedio de ovinos con disponibilidad permanente de alimento.



En la Gráfica 2 se muestran las concentraciones plasmáticas de ghrelina antes y después de la aplicación de ghrelina sintética humana a las 12:00 h, por vía intramuscular (IM), intravenosa (IV) o subcutánea (SC).



Es necesario comentar que la línea punteada, en el caso del tratamiento IV, pertenece a valores que rebasaron el límite superior de lectura del equipo que se utilizó para la medición de la concentración de la hormona (10,000 pg/mL).

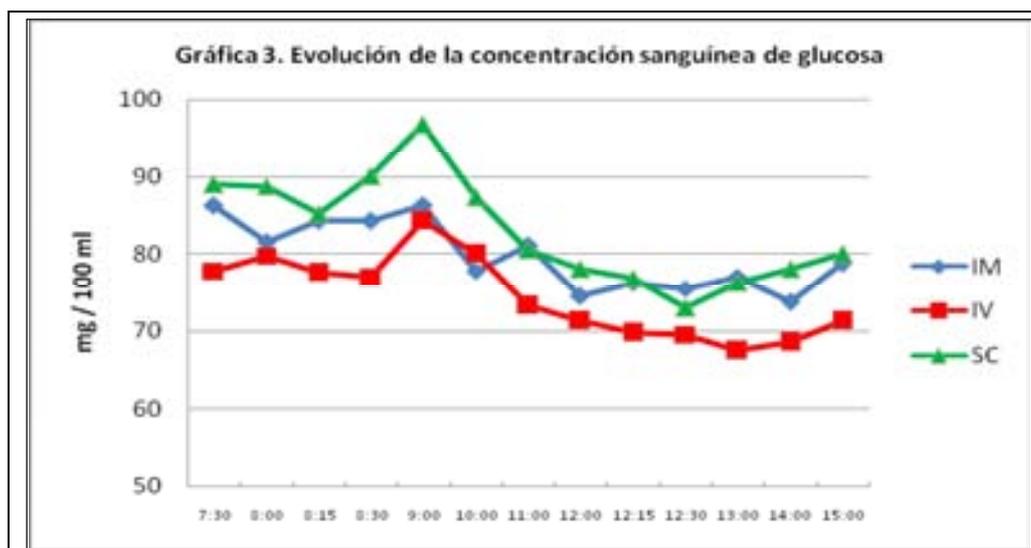
Es claro que inmediatamente después de la aplicación de ghrelina sintética, las concentraciones plasmáticas se ven incrementadas; sin embargo, debido a la alta variabilidad de los datos no se observaron diferencias entre tratamientos ($P > 0.1$). En los animales tratados por vía IM se observó que en el muestreo de las 13:00 h, se alcanzó un pico en la concentración de ghrelina y que ésta descendió de manera muy rápida para las 14:00 h. Los animales tratados por vía subcutánea también presentaron un incremento después de la aplicación de ghrelina, pero como se puede observar en la Gráfica 2, no se alcanzaron concentraciones tan altas como en IV e IM y se mantuvieron estables hasta las 14:00 h.

En becerros Holstein, tratados con ghrelina bovina, aplicada por vía intravenosa los resultados son muy similares a los encontrados en el presente experimento, ya que a pesar de que la concentración plasmática de ghrelina se ve incrementada inmediatamente después de la aplicación, no se encontró diferencia en el área bajo la curva respecto a los animales de grupo testigo (ThidarMyint *et al.*, 2008), esto podría deberse a que el incremento en las

concentraciones dura muy poco tiempo (menos de 30 minutos) o bien a que no se cuenta con un número suficiente de repeticiones que nos permita observar diferencias.

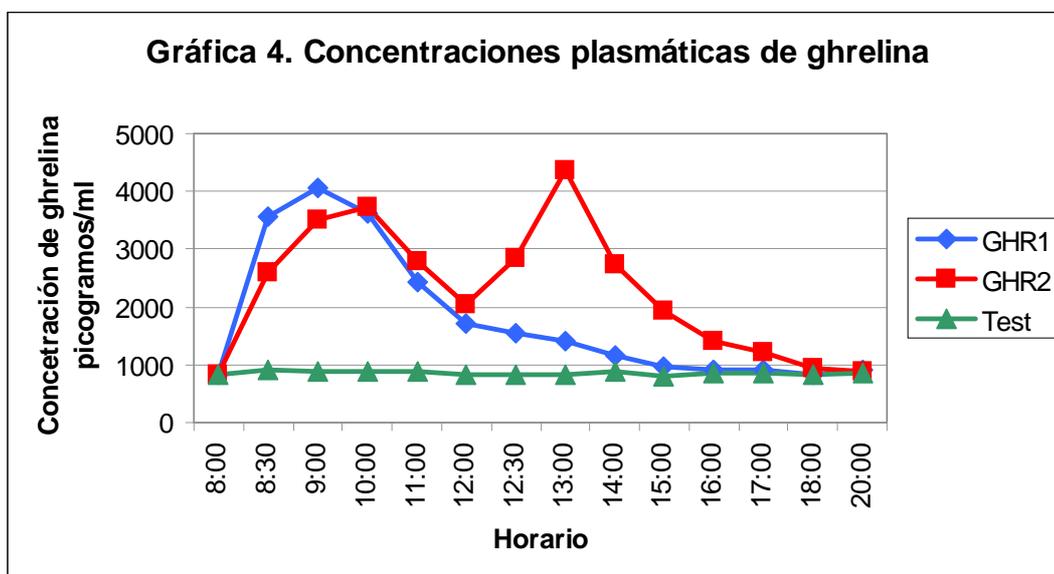
La concentración plasmática de ghrelina después de su aplicación por vía subcutánea en los corderos de este experimento, presentó una curva muy similar a la que encontraron Enomoto *et al.* (2003) en humanos tratados con ghrelina también por vía subcutánea, en donde la concentración plasmática de dicha hormona no presento diferencias ($P > 0.01$) cuando se aplicó a dosis de $1\mu\text{g}/\text{Kg}$;

En este experimento no se observaron efectos sobre la concentración plasmática de glucosa ($P > 0.1$), en ninguna de las vías de aplicación (IM, IV y SC). Resultados similares fueron encontrados el ovejas en último tercio de gestación en donde no se incrementaron las concentraciones plasmáticas de glucosa tras tratar a los animales con ghrelina exógena ($3\mu\text{g}/\text{Kg}$ dos veces al día), incluso, en dos de los 10 días de tratamiento los niveles plasmáticos de glucosa fueron menores en los animales tratados que en el testigo (Meléndez *et al.*, 2006).



Experimento 2

La aplicación de la ghrelina exógena se realizó a las 8:00 en los animales del tratamiento GHR1 y a las 8:00 y 12:00 en los animales del tratamiento GHR2. Los resultados del primer día de experimentación en donde además de la aplicación de la ghrelina se midieron las concentraciones plasmáticas, fueron analizados en un diseño completamente al azar con arreglo factorial, siendo el modelo significativo ($P < 0.01$), así como dentro de éste el tratamiento, la hora de muestreo y su interacción ($P < 0.01$). Los resultados de la evaluación de las concentraciones plasmáticas de ghrelina durante el día de muestreo sanguíneo son presentados en la Gráfica 4. En el Cuadro 2 se muestran los resultados de la prueba de comparación de medias (diferencias mínimo cuadráticas) (SAS, 2008).



Cuadro 2. Concentraciones plasmáticas de ghrelina (picogramos/ml) aplicadas una o dos veces por día.

Muestreo/tratamiento	Testigo		GHR1		GHR2	
	Media	EEM	Media	EEM	Media	EEM

8:00	836.8 ^a	219.8	860 ^a	196.6	836.57 ^a	219.8
8:30	911.5 ^a	219.8	3448.28 ^b	196.6	2587.96 ^b	253.82
9:00	870.9 ^a	219.8	425.14 ^b	196.6	3522.05 ^b	219.8
10:00	889 ^a	219.8	3529.12 ^b	196.6	3737.27 ^b	219.8
11:00	891 ^a	219.8	2420.44 ^b	196.6	2792.55 ^b	219.8
12:00	832.3 ^a	219.8	1711.06 ^b	196.6	2035.1 ^b	219.8
12:30	890.5 ^a	219.8	1532.21 ^b	196.6	2840.44 ^b	253.82
13:00	800.5 ^a	219.8	1377.8 ^a	196.6	4351 ^b	219.8
14:00	899.5 ^a	253.82	1138.67 ^a	196.6	2743.02 ^b	219.8
15:00	857.1 ^a	219.8	974.82 ^a	196.6	1933.17 ^b	219.8
16:00	866.9 ^a	219.8	922.8 ^a	196.6	1412.31 ^a	219.8
17:00	896.5 ^a	219.8	935.14 ^a	196.6	1209.12 ^a	219.8
18:00	866.9 ^a	219.8	878.48 ^a	196.6	952.08 ^a	219.8
20:00	846.5 ^a	253.82	907.31 ^a	219.8	881.15 ^a	253.82

Los resultados muestran que las concentraciones de ghrelina son mayores ($P < 0.05$), en los animales que fueron tratados con la hormona de manera exógena, siendo mayor la concentración en los muestreos inmediatos a su aplicación, es importante resaltar que en el caso de los animales que recibieron una sola aplicación del fármaco, las concentraciones plasmáticas de ghrelina fueron mayores a las de las 8 horas (antes de la aplicación de ésta), manteniéndose altas desde las 8:30 hasta las 12:30 horas, mientras que los corderos que recibieron dos dosis lograron mantener concentraciones más altas respecto al inicio de la aplicación hasta por siete horas.

Resultados similares a los encontrados en el presente experimento fueron reportados en humanos tratados con ghrelina sintética humana, aplicada por vía SC a dosis de 5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de PV en una sola aplicación, los niveles plasmáticos de la hormona permanecieron superiores ($P < .01$), en los individuos tratados respecto al testigo hasta 60 minutos después de la aplicación de la ghrelina y en éste experimento fue diferente hasta por 4 horas y media (Enomoto *et al.*, 2003).

Por el contrario en becerros tratados con ghrelina exógena por vía IV, las concentraciones plasmáticas de la hormona, no tuvieron diferencias significativas respecto a los animales testigo (ThidarMyint *et al.*, 2008).

Tanto en el Experimento 1 como en el 2, los tratamientos no presentaron diferencias en CV ($P > 0.1$) por efecto de la aplicación de ghrelina exógena. Cabe mencionar que los animales de los tres tratamientos en el caso de los corderos del Experimento 2 disminuyeron alrededor del 26% el consumo de alimento en el periodo de muestreo, en relación al consumo previo a la aplicación de ghrelina, tal vez como resultado del manejo exhaustivo durante tal periodo.

Los resultados obtenidos en el presente Experimento difieren con lo encontrado en pollos recién nacidos, ya que en estos animales la ghrelina aplicada de forma exógena, produjo una anorexia muy marcada, incluso los autores encontraron que a ciertas dosis, la ghrelina inhibe el efecto orexigénico del NPY. Es importante mencionar que en pollos, hormonas como AGRP y la orexina no tienen efecto orexigénico, lo que sugiere que el mecanismo de control del CV en pollos difiere mucho a lo que se ha reportado en mamíferos, por lo que los autores concluyen que a diferencia de lo reportado en roedores o en humanos, la ghrelina en pollos tiene un potente efecto anorexigénico (Saito *et al.*, 2004).

Resultados diferentes también fueron reportados en ovejas, en los últimos días de gestación (10 días antes del parto). En dicho experimento las ovejas fueron inyectadas con 3 μg ghrelina ovina/kg de peso vivo y una de las variables de respuesta que se evaluaron fue el CV. A pesar de que reportan que el CV solo fue superior en el primer día de tratamiento, se encontraron diferencias entre tratamientos. Es importante resaltar que en dicho trabajo se utilizó ghrelina ovina y no una hormona de especie diferente a la de los animales en experimentación. Los autores mencionan, que al igual que en el presente trabajo la dosis utilizada fue determinada con base en investigaciones en otras especies por lo que la dosis utilizada puede ser insuficiente para incrementar el CV (Meléndez *et al.*, 2006).

Los resultados del presente Experimento contrastan completamente con lo encontrado en ratas tratadas con ghrelina exógena inyectada directamente en el SNC, en donde el CV fue superior a los animales que no recibieron ghrelina,

además en dicho experimento se demostró que días después del tratamiento con la ghrelina, los roedores mantuvieron un CV, más alto que el normal aun sin recibir el tratamiento, con lo que concluyen que el efecto orexigénico de la ghrelina es prolongado (Tang-Christensen *et al.*, 2004). En otro trabajo con ratas, en las que se probó el efecto de la aplicación exógena de ghrelina y de un agonista GHS-R; tanto la ghrelina como el agonista sintético incrementaron de manera significativa el CV de alimento y la masa muscular de los individuos tratados (DeBoer *et al.*, 2007).

Iqbal *et al.* (2005) aplicaron inyecciones intracerebroventriculares e intravenosas en ovejas, utilizando varias dosis de ghrelina y de un compuesto sintético similar, estos investigadores no encontraron ningún efecto sobre el consumo voluntario de alimento aun cuando se utilizaron dosis tan altas como 20 µg/h. Estos autores comentan que a pesar de haber utilizado diferentes dosis y diferentes vías de administración los resultados fueron constantes; en ninguno de los casos la ghrelina afectó el CV.

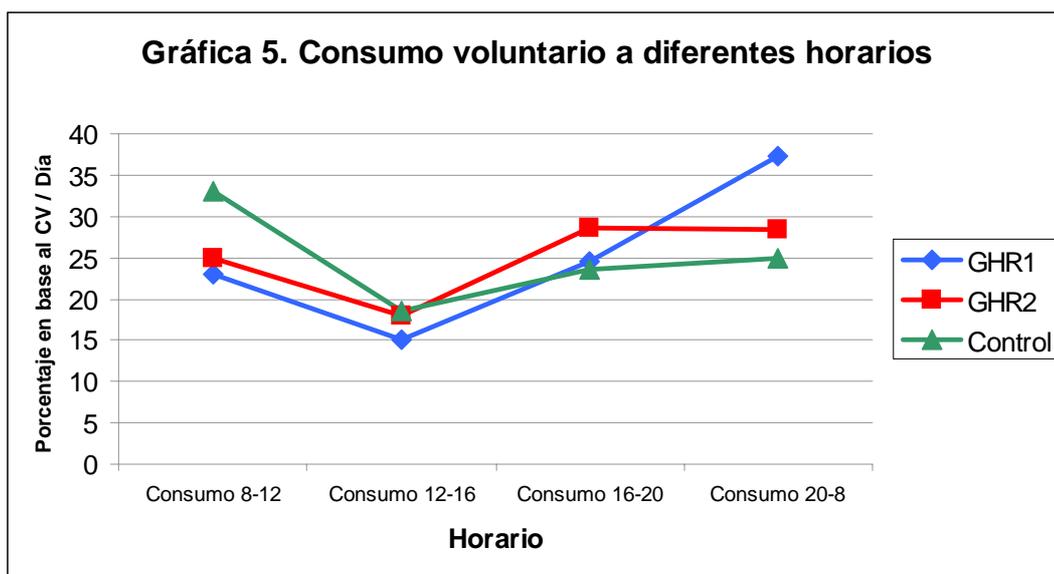
Del mismo modo, Salfen *et al.* (2004) tampoco encontraron diferencias en el CV de cerdos destetados que fueron tratados con ghrelina humana; estos autores concluyen que los resultados pudieran deberse a que la ghrelina utilizada fue humana y no porcina, a pesar que otros autores habían encontrado efectos cuando se utilizan ghrélinas de especies diferentes. En este mismo experimento con lechones, los autores concluyen que la vida media que tiene la ghrelina es muy corta, por lo que no mantiene su efecto por mucho tiempo; sin embargo, en nuestro experimento quedó demostrado que los niveles plasmáticos de ghrelina permanecen altos durante varias horas cuando la aplicación se hace por vía SC y aún así, no existió efecto sobre el CV.

Distintos experimentos dejan claro que por diferentes vías de administración, la aplicación de ghrelina exógena, en roedores, consiguió de manera dosis-dependiente un incremento marcado en el CV, así como un incremento en la ganancia de peso (Iwakura *et al.*, 2007; Wren *et al.*, 2001).

En trabajos en los que se ha utilizado ghrelina exógena para tratar de incrementar el CV en rumiantes, incluyendo el presente, los resultados no han sido como lo encontrado en roedores, aun cuando se utilizó ghrelina de la misma especie en la que se estaba experimentando.

Es importante subrayar que en todos los trabajos mencionados en rumiantes la forma de aplicación de la ghrelina es una infusión, la cual sin importar por que vía sea aplicada, implica un manejo y la presencia del hombre cerca de los animales lo que sin duda puede estar afectando los resultados.

En cuanto a la medición del consumo a diferentes horarios del día, se puede observar en la Grafica 5 que no hubo diferencias entre tratamientos ni entre los días muestreados ($P>0.1$).



La ganancia diaria de peso tampoco fue diferente entre tratamientos ($P>0.1$). Aunque los animales recibiendo ghrelina tuvieron ganancia real de peso, ésta fue inferior a lo esperado; estos resultados pueden deberse también al exceso de manejo durante el periodo de muestreo.

La eficiencia alimenticia mostró la misma tendencia que la ganancia diaria de peso; esto es, aunque los animales en los tratamientos recibiendo ghrelina

tuvieron valores mayores al Testigo, no fueron diferentes ($P > 0.10$); los valores fueron -0.043, 0.077 y 0.077, para Testigo, GHR1 y GHR2, respectivamente.

7) Conclusiones

En corderos en finalización, alimentados a libre acceso, la concentración plasmática de ghrelina no varía a lo largo del día.

La vía de aplicación de la ghrelina (IM, IV o SC) no afecta las concentraciones plasmáticas de dicha hormona, ni tampoco tiene efecto sobre la glucosa sanguínea.

La concentración plasmática de ghrelina permanece por más tiempo cuando dicha hormona es aplicada dos veces por día que cuando se aplica una sola vez (por vía SC), sin que ello represente un mayor consumo de alimento o una mejor ganancia de peso, por lo que tampoco se observa efecto sobre la eficiencia alimenticia.

8) Implicaciones

El presente trabajo queda como antecedente para futuros trabajos con la hormona ghrelina como agente orexigénico, aplicado a corderos en finalización. A pesar que en el presente trabajo se encontró que la ghrelina no tiene un efecto en el CV, ni en parámetros como la GDP y EA, es importante resaltar que los corderos estuvieron sometidos a un manejo muy intensivo lo que sin duda disminuyó el CV y por lo tanto afectó directamente la GDP y la EA.

Adicionalmente, se debe comentar que, debido al costo actual de la ghrelina sintética, el tamaño de muestra fue reducido, lo que también puede estar afectando el análisis. Finalmente y como ya se comentó la ghrelina que se utilizó en el presente trabajo fue ghrelina humana que es un péptido de 28 aminoácidos, mientras que la ghrelina de los ovinos es un péptido formado por 27 aminoácidos; sin embargo, éste no está disponible de manera comercial para su utilización.

7) **Literatura citada**

- Aart, J.V.D.L., M. Tschöp, M.L. Heiman and E. Ghigo. 2004. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocrine Reviews*. 25: 426-457.
- Adams, S.H., W.B. Won, S.E. Schonhoff, A.B. Leiter, J.R. Paterniti. 2004. Effects of peptide YY[3-36] on short-term food intake in mice are not affected by prevailing plasma ghrelin levels. *Endocrinology*. 145: 4967-4975.
- Araujo-Febres, O. 2005. Factores que afectan el consumo voluntario en bovinos a pastoreo en condiciones tropicales. IX seminario de pastos y forrajes. Maracaibo, Venezuela. 1-12.
- Arch, J. R. S. 2005. Central regulation of energy balance: inputs, outputs and leptin resistance. *Proceedings of the Nutrition Society*. 69: 39-46.
- Argente, J., L.M. Garciassegura, L. Pozo, J.A. Chowen. 1996 Growth hormone releasing peptides - clinical and basic aspects. *Hormone Research*. 46: 155–159.
- Arteaga CJD. 2007. Diagnostico actual de la situación de los ovinos en México. VIII congreso mundial del cordero y la lana. Querétaro Qro.
- Badman, M.K. and J.S. Flier. 2005. The gut energy balance: visceral allies in the obesity wars. *Science* 307: 1909-1914.
- Baudet M. L. and S. Harvey. 2003. Ghrelin-induced GH secretion in domestic fowl in vivo and in vitro. *Journal of Endocrinology*. 179: 97-105.
- Bednarek M.A., S.D. Feighner, S. Pong, K. K. McKee, D.L. Hreniuk, M.V. Silva, V.A. Warren, A.D. Howard, L.H.Y. Van der Ploeg and J.V. Heck. 2000. Structure-Function studies on the new growth hormone secretagogue receptor 1a. *Journal of Medicinal Chemistry* 43: 4370-4376.
- Bernareggi, A., A. Danese and L. Cavenaghi. 1988. Pharmacokinetics of A40926 in rats after single intravenous and subcutaneous doses. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 32: 246-249.
- Broberger, C. 2005. Brain regulation of food intake and appetite: molecules and networks. *Journal of Internal Medicine* 258: 301-327.

- Cassoni P., C. Ghe, T. Marrocco, E. Tarabra, E. Allia, F. Catapano, R. Deghenghi, E. Ghigo, M. Papotti and G. Muccioli. 2004. Expression of ghrelin and biological activity of specific receptors for ghrelin and des-acyl ghrelin in human prostate neoplasms and related cell lines. *European Journal of Endocrinology*. 150: 173-184.
- Chen H.Y., M.E. Trumbauer, A.S. Chen, D.T. Weingarh, J.R. Adams, E.G. Frasier, Z. Shen, D.J. Marsh, S.D. Feighner, X.M. Guan, Z. Ye, R.P. Nargund, R.G. Smith, L.H.T. Van der Ploeg, A.D. Howard, D.J. MacNeil and S. Qian. 2004. Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. *Endocrinology*. 145: 2607–2612.
- Cummings, D.E. and J Overduin. 2007. Gastrointestinal regulation of food intake. *Clinical Investigation*. 117: 13-23.
- Cummings, D.E. D.S. Weigle, R. Frayo, P.A. Breen, M.K. Ma, E.P. Dellinger, J.Q. Purnell. 2002. Plasma ghrelin levels after diet induced weight loss or gastric bypass surgery. *New England Journal of Medicine* 346: 1623-1630.
- Cummings, D.E., K.E. Foster-Schubert, J. Overduin. 2005. Ghrelin and energy balance: focus on current controversies. *Current Drug Targets*. 6: 153-169.
- Cummings, D.E., R. S. Frayo, C. Marmonier, R. Aubert and D. Chapelot. 2004. Plasma ghrelin levels and hunger scores in humans initiating meals voluntarily without time- and food- related cues. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism* 287: E297-E304.
- Cupples, W.A. 2005. Physiological regulation of food intake. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 288: R1438-R1443.
- DeBoer, M.D., X. X. Zhu, P. Levasseur, M. M. Meguid, S. Suzuki, A. Inui, J. E. Taylor, H. A. Halem, J. Z. Dong, R. Datta, M. D. Culler and D. L. Marks. 2007. Ghrelin Treatment causes increased food intake and retention of lean body mass in a rat model of cancer cachexia. *Endocrinology*. 148: 3004–3012.

- Druce, M. and S.R. Bloom. 2003. Central regulators of food intake. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 6: 361-367.
- Enomoto, M., N. Nagaya, M. Uematsu, H. Okumura, E. Nakagawa, F. Ono, H. Hosoda, H. Oya, M. Kojima, K. Kanmatsuse and K. Kangawa. 2003. Cardiovascular and hormonal effects of subcutaneous administration of ghrelin, a novel growth hormone-releasing peptide, in healthy humans. *Clinical Science* 105:431–435.
- Gnanapavan, S., B. Kola, S.A. Bustin, D.G. Morris, P. McGee, P. Fairclough, S. Bhattacharya, R. Carpenter, A.B. Grossman and M. Korbonits. 2002. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS_R, in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 87: 2988-2991.
- Goto, M., H. Arima, M. Watanabe, M. Hayashi, R. Banno, I. Sato, H. Nagasaki and Y. Oiso. 2006. Ghrelin increases neuropeptide Y and Agouti-Related peptide gene expression in the arcuate nucleus in rat hypothalamic organotypic cultures. *Endocrinology*. 1: 1-19.
- Grouselle, D., E. Chaillou, A. Caraty, M.-T. Bluet-Pajot, P. Zizzari, Y. Tillet and J. Epelbaum. 2008. Pulsatile Cerebrospinal Fluid and Plasma Ghrelin in Relation to Growth Hormone Secretion and Food Intake in the Sheep. *Journal of Neuroendocrinology* 20:1138–1146.
- Hashizume T., M. Horiuchi, S. Nonaka, E. Kasuya, M. Kojima, H. Hosoda and K. Kangawa. 2005. Effects of ghrelin on growth hormone secretion in vivo in ruminants. *Regulatory Peptides*. 126: 61-65.
- Hashizume T., M. Horiuchi, N. Tate, S. Nonaka, M. Kojima, H. Hosoda and K. Kangawa. 2003 Effects of ghrelin on growth hormone secretion from cultured adenohypophysial cells in cattle. *Endocrine Journal*. 50: 289-295.
- Hashizume T., M. Horiuchi, N. Tate, S. Nonaka, U. Mikami, M. Kojima. 2003. Effects of ghrelin on growth hormone secretion from cultured adenohypophysial cells in pigs. *Domestic Animal Endocrinology*. 24: 209-213.
- Hollis, J. and R.D. Mattes. 2005. Appetite and food intake regulation. *United States Potato Board*. 1-23.

- Holst, B. N.D. Holliday, A. Bach, C. E. Elling, H.M. Cox and T.W. Schwartz. 2004. Common Structural Basis for Constitutive Activity of the Ghrelin Receptor Family. *The Journal of Biological Chemistry*. 279: 53806–53817.
- Holst, B., E. Brandt, A. Bach, A. Heding and W. Schwartz. 2005. Nonpeptide and peptide growth hormone secretagogues act both as ghrelin receptor agonist and as positive or negative allosteric modulators of ghrelin signaling. *Molecular Endocrinology*. 19: 2400-2411.
- Hosoda, H. M. Kojima, Kenji Kangawa. 2002. Ghrelin and the regulation of food intake and energy balance. *Molecular Interventions*. 2: 431–446.
- Howard A.D., S.D. Feighner, D.F. Cully, J.P. Arena, P.A. Liberatore, C.I. Rosenblum, M. Hamelin, D.L. Hreniuk, O.C. Palyha, J. Anderson, P.S. Paress, C. Diaz, M. Chou, K.K. Liu, K.K. McKee, S.S. Pong, L.Y. Chaung, A. Elbrecht, M. Dashkevich, R. Heavens, M. Rigby, D.J. Sirinathsinghji, D.C. Dean, D.G Melillo, A.A. Patchett, R. Nargund, P.R. Griffin, J.A. DeMartino, S.K. Gupta, J.A. Schaeffer, R.G. Smith, L.H.T. Van der Ploeg. 1996. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 273: 974–977.
- INEGI. 2001 Instituto nacional de estadísticas geografía e informática. Pagina WEB: <http://www.inegi.gob.mx> información geográfica por entidad federativa.
- Iqbal, J. Y. Kurose, B. Canny and L.J. Clarke. 2005. Effects of Central Infusion of Ghrelin on Food Intake and Plasma Levels of Growth Hormone, Luteinizing Hormone, Prolactin, and Cortisol Secretion in Sheep. *Endocrinology*. 1: 1-32.
- Itoh, F., T. Komatsu, M. Yonai, T. Sugino, M. Kojima, K. Kangawa, Y. Hasegawa, Y. Terashima and K. Hodate. 2005. GH secretory responses to ghrelin and GHRH in growing and lactating dairy cattle. *Domestic Animal Endocrinology*. 28: 34-45.
- Iwakura. H., T. Akamizu, H. Ariyasu, T. Irako, K. Hosoda, K. Nakao and K. Kangawa. 2007. Effects of ghrelin administration on decreased growth

hormone status in obese animals. *Animal Journal Physiology Endocrinology Metabolism*. 293: E819-E825.

- Kaiya, H., M. Kojima, H. Hosoda, L.G. Riley, T. Hirano, E.G. Grau, and K. Kangawa. 2003. Amidated fish ghrelin: purification, cDNA cloning in the Japanese eel and its biological activity. *Journal of Endocrinology*. 176: 415-423.
- Kaiya, H., S. Van Der Geyten, M. Kojima, H. Hosoda, Y. Kitajima, M. Matsumoto, S. Geelissen, V. M. Darras and K. Kangawa. 2002. Chicken Ghrelin: Purification, cDNA Cloning, and Biological Activity. *Endocrinology*. 143: 3454-3463.
- Kawas, J.R., Engorda de corderos con distintos niveles de grano y forraje. 2002. *Rev del Borrego. Edición Especial Julio-Oct*. 69-77.
- Keen-Rhinehart, Erin and T.J. Bartness. 2005. Peripheral ghrelin injections stimulate food intake, foraging, and food hoarding in Siberian hamsters. *American Journal of Physiology Regulatory – Integrative and Comparative Physiology*. 288: R716-R722.
- Kim, M.S., C.Y. Yoon, PG Jang, Y.J. Park, C.S. Shin, H.S. Park, J.W. Ryu, Y.K. Pak, J.Y. Park, K.U. Lee, S.Y. Kim, H.K. Lee, Y.B. Kim and K.S. Park. 2004. The Mitogenic and Antiapoptotic Actions of Ghrelin in 3T3-L1 Adipocytes. *Molecular Endocrinology*. 18: 2291–2301.
- Kojima M., H. Hosoda, Y. Date, M. Nakazato, H. Matsuo, K. Kangawa. 1999. Ghrelin is a growth-hormone–releasing acylated peptide from stomach. *Nature*. 402: 656-660.
- Kojima, M. and K. Kangawa. 2005. Ghrelin: structure and Function. *Physiological Reviews* 85: 495-522.
- Lawrence, C.B., A.C. Snape, F.M.-H. Baudoin and S.M. Luckman. 2002. Acute central ghrelin and GH secretagogues induce feeding and activate brain appetite centers. *Endocrinology*. 143: 155-162.
- Lazarczyk M.A., M. Lazarczyk and T. Grzela. 2003. Ghrelin: A recently discovered gut-brain peptide (review). *International Journal of Molecular Medicine*. 12: 279-287.

- Melendez P., T. Krueger, J. White, L. Badinga, J. Verstegen, G.A. Donovan, L.F. Archbald. 2006. Effect of ghrelin in dry matter intake and energy metabolism in prepartum sheep: a preliminary study. *Theriogenology*. 66: 1961-1968.
- Micic D., X. Casabiell, O. Gualillo, M. Pombo, C. Dieguez, F.F. Casanueva. 1999. Growth hormone secretagogues: the clinical future. *Hormone Research*. 51: 29-33.
- Neary, N.M., C.J. Small, A.M. Wren, J.L. Lee, M.R. Druce, C. Palmieri, G.S. Frost, M.A. Ghatei, R.C. Coombes and S.R. Bloom. 2004. Ghrelin Increases Energy Intake in Cancer Patients with Impaired Appetite: Acute, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 89: 2832-2836.
- Otto, Bärbel, J. Spranger, S. C. Benoit, D. J. Clegg and M.H. Tschöp. 2005. The many faces of ghrelin: new perspectives for nutrition research. *British Journal of Nutrition* 93: 765-771.
- [Patchett](#), A.A. [R. P. Nargund](#), [J. R. Tata](#), [M. H. Chen](#), [K. J. Barakat](#), [D. B. Johnston](#), [K. Cheng](#), [W. W. Chan](#), [B. Butler](#) and [G. Hickey](#). 1995. Design and biological activities of L-163,191 (MK-0677): A potent, orally active growth hormone secretagogue. *National Academy of Science*. 92: 7001-7005.
- Peeters, T.L. 2005. Ghrelin. A new player in the control of gastrointestinal functions. *Gut*. 54: 1638-1649.
- Petersen, K.F. and G.I. Shulman. 2006. Etiology of insulin resistance. *The American Journal of Medicine*. 119: 10S-16S.
- Rindi, G., A. Torsello, V. Locatelli and E. Solcia. 2004. Ghrelin expression and Actions: a Novel peptide for an Old Cell Type of the Diffuse Endocrine System. *Experimental Biology and Medicine*. 229: 1007-1016.
- [Robinson, I.C.](#) 2000. Control of growth hormone (GH) release by GH secretagogues. [Novartis Foundation Symposium](#). 227: 206-20.
- Rodriguez-Barbero, J., E.L. Marino and A. Dominguez-Gil. 1985. Pharmacokinetics of Cefmetazole Administered Intramuscularly and

Intravenously to Healthy Adults. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 28: 544-547.

- Saito, E-S., H. Kaiya, T. Tachibana, S. Tomonaga, D.M. Denbow, K. Kangawa and M. Furuse. 2005. Inhibitory effect of ghrelin on food intake is mediated by the corticotropin-releasing factor system in neonatal chicks. *Regulatory Peptides*. 125: 201-208.
- Salfen, B.E., J.A. Carroll, D.H. Keisler and T.A. Strauch. 2004. *Journal of Animal Science* 82: 1957-1966.
- SAS. SAS/STAT User's Guide (Release 9.1.3): SAS Inst. Inc., Cary NC, USA 2008.
- Schwartz, M.W., S.C. Woods, D. Porte Jr., R.J. Seeley and D.G. Baskin. 2000. Central nervous system control of food intake. *Macmillan Magazines Ltd. Nature* 404: 661-671.
- Seoane, L.M., M. Lage, O. Al-Massadi, C. Diéguez and F.F. Casanueva. 2004. Papel de la ghrelina en la fisiopatología del comportamiento alimentario. *Revista Medica de la Universidad Navarra*. 48: 11-17.
- [Smith R.G.](#), O.C. [Palyha](#), S.D. [Feighner](#), C.P. [Tan](#), K.K. [McKee](#), D.L. [Hreniuk](#), L. [Yang](#), G. [Morriello](#), R. [Nargund](#), A.A. [Patchett](#), A.D. [Howard](#). 1999. Growth hormone releasing substances: types and their receptors. [Hormone Research](#). 51: 1-8.
- Smith R.G., S. Feighner, K. Prendergast, X. Guan and A. Howard. 1999. A new orphan receptor involved in pulsatile growth hormone release. *Trends Endocrinology and Metabolism*. 10: 128–135.
- St-Pierre, D.H., L. Wang and Y. Taché. 2003. Ghrelin: a novel player in the gut-brain regulation of growth hormone and energy balance. *News Physiology Science*. 18: 242-246.
- Strader, A.D. and S. C. Woods. 2005. Gastrointestinal hormones and Food Intake. *Gastroenterology*. 128: 175-191.
- Sumano, H. S., L. Ocampo. 1997. *Farmacología Veterinaria*. 2ª edición México DF., Mexico. Mc Graw-Hill. Libro. 36-39.

- Sun Y., Pei Wang, H. Zheng and R.G. Smith. 2004. Ghrelin stimulation of growth hormone release and appetite is mediated through the growth hormone secretagogue receptor. *Physiology*. 101: 4679-4684.
- Tang-Christensen, M., N. Vrang, S. Ortmann, M. Bidlingmaier, T.I. Horvath and M. Tschöp. 2004. Central administration of ghrelin and agouti-related protein (83–132) increases food intake and decreases spontaneous locomotor activity in rats. *Endocrinology*. 145: 4645–4652.
- ThidarMyint, H., H. Kuwayama. 2008. Role for des-acyl ghrelin in the responsiveness of plasma hormones and metabolites to ghrelin in Holstein steers. *Domestic Animal Endocrinology* 35:190–197
- Thorner, M.O., I.M. Chapman, B.D. Gaylinn, S.S. Pezzoli and M.L. Hartman. 1997. Growth hormone-releasing hormone and growth hormone-releasing peptide as therapeutic agents to enhance growth hormone secretion in disease and aging. *Recent Progress in Hormone Research*. 52: 215-244.
- Tschöp, M., M.A. Statnick, T.M. Suter and M.L. Heiman. 2002. GH-releasing peptide-2 Increases fat mass in mice lacking NPY: Indication for a crucial mediating role of hypothalamic Agouti-Related protein. *Endocrinology*. 143: 558–568
- Unniappan S. and R.E. Peter. 2005. Structure, distribution and physiological functions of ghrelin in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. 140: 3396-408.
- Wertz-Lutz, A. E., T.J. Knight, R.H. Pritchard, J.A. Daniel, J.A. Clapper, A.J. Smart, A. Trenkle and D.C. Beitz. 2006. Circulating ghrelin concentrations fluctuate relative to nutritional status and influence feeding behavior in cattle. *Journal of Animal Science*. 84: 3285-3300.
- Wren A.M., C.J. Small, C.R. Abbott, S. R. Bloom, W.S. Dhillon, L.J. Seal, M.A. Cohen, R. L. Batterham, S. Taheri, S.A. Stanley and M.A. Ghatei. 2001. Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes*. 50: 2540-2547.
- Wren A.M., C.J. Small, H.L. Ward, K.G. Murphy, C.L. Dakin, S. Taheri, A.R. Kennedy, G.H. Roberts, D.G.A. Morgan, M.A. Ghatei and S.R. Bloom

2000. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology*. 141: 4325-4328.

- Wynne, K. Giannitsopoulou, C.J. Small, M. Patterson, G. Frost, M.A. Ghatei, E.A. Brown, S.R. Bloom and Peter Choi. 2005. Subcutaneous ghrelin enhances acute food intake in malnourished patients who receive maintenance peritoneal dialysis: A randomized, placebo-controlled trial. *Journal of American Society of Nephrology*. 16: 2111–2118.
- Wynne, K., S. Stanley, B. McGowan, S. Bloom. 2005. Appetite control. *Journal of Endocrinology* 184: 291-318.