

INDUCCIÓN DE LA ACTIVIDAD FOLICULAR OVÁRICA EN CABRAS TRATADAS CON DOS RECONSTITUYENTES METABÓLICOS Y SUPLEMENTADAS CON GLUTAMATO DE SODIO

Guzmán Solórzano, Rocío (1), Álvarez Cardona, Gloria Fernanda (2), Cadena Villegas, Said (3), Hernández-Marín, José Antonio (1)

1 [Programa Educativo de Medicina Veterinaria Y Zootecnia, División de Ciencias De La Vida, Universidad de Guanajuato] | [rocio_geminis1997@hotmail.com]

2 [Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria, Campus Irapuato-Salamanca, División de Ciencias de La Vida, Universidad de Guanajuato] | [fermustang@hotmail.com]

3 [Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo] | [scadena@colpos.mx]

1 [Departamento de Veterinaria y Zootecnia, Campus Irapuato-Salamanca, División de Ciencias De La Vida, Universidad de Guanajuato] | [jahmarin@ugto.mx]

Resumen

Con el objetivo de evaluar la respuesta de la acción de los aminoácidos neuroestimuladores (AANE; Factor A) contenidos en un reconstituyente energético comercial (Metabolase®; MET) y de la suplementación con con glutamato monosódico en la dieta (GLU; Factor B) para estimular el desarrollo (diámetro en mm) y la cantidad de los folículos ováricos (FO), dieciséis hembras Nubia se asignaron a un diseño completo con tratamientos aleatorizados en un arreglo factorial 2*2, las cuales se evaluaron mediante ultrasonografía transrectal y posterior a 21 d por tratamiento. El Factor MET influyó en los FO de 2 a 3 mm y >6 mm de diámetro ($P < 0.05$), mientras que el efecto del Factor GLU se observó para los FO de 4 a 5 mm de diámetro ($P < 0.05$). La mayor cantidad de FO de 2 a 3 mm de diámetro se obtuvo con la respuesta del MET ($P < 0.05$), mientras que la cantidad de FO >6 mm de diámetro se encontró con la interacción de GLU*MET. Suplementar glutamato de sodio en la dieta de cabras Nubia y suministrarles un reconstituyente energético comercial mejora la actividad ovárica y aumenta la cantidad de folículos ováricos mayores de 6 mm de diámetro.

Abstract

In order to evaluate the action response of the neurostimulatory aminoacids (NEAA, Factor A) contained in a commercial energetic reconstituant (Metabolase®, MET) and of the supplementation with monosodium glutamate in the diet (GLU; Factor B) to stimulate the development (diameter in mm) and the number of ovarian follicles (OF), sixteen Nubian females were assigned to a complete design with randomized treatments in a factorial arrangement 2*2, which were evaluated by transrectal ultrasonography and after 21 d by treatment. The MET factor influenced the OF from 2 to 3 mm and >6 mm in diameter ($P < 0.05$), while the effect of GLU factor was observed for OF from 4 to 5 mm in diameter ($P < 0.05$). The largest amount of OF from 2 to 3 mm in diameter was obtained with the response of the MET ($P < 0.05$), while the amount of OF >6 mm in diameter was found with the interaction of GLU*MET. Supplementing sodium glutamate in the diet of Nubian goats and providing a commercial energetic restorative improves ovarian activity and increases the number of ovarian follicles larger than 6 mm in diameter.

INTRODUCCIÓN

Estudios en pequeños rumiantes consideraron prácticas de manejo para mejorar la eficiencia productiva de los rebaños de manera técnica y económica, en los cuales se pretende eliminar la manipulación farmacológica de los animales [1]. Estas metodologías se basan en el conocimiento de los eventos reproductivos y los efectos de la nutrición [2], como la alimentación focalizada, a partir de complementos energéticos y proteínicos destinados en los momentos críticos de la reproducción. El número de ovulaciones durante el ciclo sexual, inmediatamente después de la luteólisis, está relacionado con el número de folículos que se desarrollan hasta alcanzar el estadio preovulatorio. A su vez, la dinámica de crecimiento de estos folículos está condicionada por un equilibrio entre mecanismos de estimulación y de inhibición del crecimiento folicular, que pueden actuar tanto a nivel sistémico como intraovárico [3]. En pequeños rumiantes, la actividad ovárica responde a la adecuada secreción de la LH y de la FSH en la adenohipófisis, por la secreción de la GnRH en el hipotálamo. Esta comunicación endócrina también ocurre por la acción de compuestos que actúan como neurotransmisores, a partir del suministro de aminoácidos neuroestimuladores (AANE) que favorecen la secreción pulsátil de la GnRH y la LH [4], como el glutamato, el ácido aspártico y la arginina. La gran mayoría de la comunicación entre las neuronas del SNC se realiza por aminoácidos neurotransmisores (AAN). Los AAN son cinco: ácido γ -aminobutírico (GABA), glicina, taurina, ácido glutámico y ácido aspártico. Los tres primeros tienen efectos predominantemente inhibitorios, mientras que los dos últimos son normalmente excitatorios. De todos ellos, los más abundantes y fisiológicamente más importantes, son glutamato y GABA. El glutamato regula en la mayoría de las transmisiones sinápticas excitatorias en el cerebro [5]. El Glutamato monosódico (GMS), es una sal de sodio del aminoácido natural L-glutamato y es ampliamente utilizado como un potenciador de sabor por la industria alimentaria [6]. La administración de GMS en los alimentos tiene un efecto directo en los receptores del hipotálamo, por ejemplo, la activación de NMDA resulta en la liberación de GnRH [7]. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar la respuesta de la suplementación con glutamato monosódico en la dieta y la acción de los aminoácidos neuroestimuladores contenidos en un reconstituyente energético para estimular el desarrollo de folículos ovárico en cabras Nubia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó de enero a marzo de 2018 en el Rancho "Los Mogotes", localizado en el ejido de Aldama, municipio de Irapuato, Guanajuato (20° 49' N, 101° 19' O y 1777 m de altitud). Se usaron 16 cabras Nubia de 245±8.3 d de edad y 30.40±5.58 kg de peso. Cada cabra recibió 3.5 kg d⁻¹ de una dieta elaborada con heno de alfalfa (60 %) mezclado con un concentrado comercial (40 %) con 15 % proteína cruda y 2.9 Mcal EM kg⁻¹, sales minerales y agua a libre acceso. Las cabras se alojaron en corrales con una superficie de 36 m², provistos de sombra, comedero, bebedero y piso de tierra. El manejo de los animales experimentales se realizó de acuerdo con la norma mexicana NOM-062-ZOO-1999 que procura las 5 libertades del bienestar animal, emitida por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación [8]. El diseño experimental fue con un arreglo de dos factores, cada uno a dos niveles (2X2): Factor A, sin (s) y con (c) el reconstituyente energético comercial (MET, Metabolase®); y factor B, sin (s) y con (c) el glutamato de sodio (GLU). Esto generó cuatro tratamientos (T): T1 (n=4) cabras testigo, sin el suministro del MET y sin la suplementación de GLU en la dieta (sMETsGLU); T2 (n=4) cabras sin el suministro del MET y suplementadas con 500 mg kg⁻¹ peso vivo de GLU en la dieta (sMETcGLU) durante 21 d; T3 (n=4) cabras suministradas vía subcutánea con 100 mL del MET cada tercer día durante 21 d y sin el GLU (cMETsGLU); y T4 (n=4) cabras suministradas vía subcutánea con 100 mL del MET cada tercer día durante 21 d y con el GLU (cMETcGLU). Todas las cabras se pesaron cada semana para determinar el total de kilogramos de peso vivo por tratamientos. Las hembras de los tratamientos T2 (sMETcGLU) y T4 (cMETcGLU) recibieron 500 mg kg⁻¹

animal⁻¹ d⁻¹ de GLU (99% pureza, AJI-NO-MOTO®; AJINOMOTO, MÉXICO), por lo cual se estimó la cantidad total en gramos ofrecidos de GLU por tratamiento cada semana, donde se empleó una balanza de precisión (Marca Radwag, Modelo: PS/C1; E.U.A, 2013). La cantidad de GLU a adicionar en la dieta se basó en los 500 mg de L-Arginina kg⁻¹ de peso vivo oveja⁻¹ día⁻¹ ofrecida por [9] en la dieta de ovejas Awassi prepúberes, cantidad mayor que el contenido de L-arginina en el grano de *Lupinus* sp. (300 mg kg⁻¹ de peso vivo oveja⁻¹). El MET se suministró vía subcutánea con agujas de calibre 18 y jeringas de 50 mL. El MET (Metabolase®; Schütze-Segen, Italia) contenía en cada 100 mL: L-carnitina (613.3 mg), ácido tióctico (20 mg), piridoxina (15 mg), cianocobalamina (3 mg), acetilmetionina (2000 mg), L-arginina (240 mg), L-ornitina (153.2 mg), L-citrulina (120 mg), L-lisina (62.5 mg), glicina (150 mg), ácido aspártico (150 mg), ácido glutámico (150 mg), fructosa (5000 mg) y sorbitol (8000 mg). A todas las cabras se les observaron los ovarios mediante un transductor transrectal de 7.5 Mhz, integrado a un equipo de ultrasonografía (Marca Chison, modelo: Eco 2 Vet, 2017; China). Los folículos ováricos se cuantificaron y se clasificaron según su diámetro de 2 a 3 mm, de 4 a 5 mm y mayores de 6 mm [10]. Se utilizó el software Statistical Analysis Systems® [11] para el análisis de los datos. Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar que los datos provinieran de una población distribuida normalmente. La cantidad de folículos ováricos se analizaron con el procedimiento GLM, en un diseño completo con tratamientos aleatorizados con efectos fijos en arreglo factorial 2*2, y se utilizó la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para la comparación múltiple de medias cuando la interacción entre factores (A*B) no fue significativa al 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos de los folículos ováricos de diferente diámetro (2 a 3 mm, 4 a 5 mm, y > 6 mm) presentaron distribución normal ($P > 0.05$). Se observó efecto del factor A: suministro del reconstituyente energético (MET) para la cantidad de folículos de 2 a 3 mm y > 6 mm de diámetro ($P < 0.05$). Es posible que esta respuesta sea por la acción de los aminoácidos excitadores contenidos en el reconstituyente energético comercial, los cuales estimularon el desarrollo de los folículos ováricos y por lo tanto, favorecieron el aumento en la cantidad de folículos de 2 a 3 mm y > 6 mm de diámetro de las cabras Nubia suministradas vía subcutánea. Debido a que los aminoácidos excitadores (AAE) aumentan su efecto estimulador sobre la secreción de la GnRH-LH durante la maduración sexual mediante el incremento en la liberación de aspartato y glutamato, AAE involucrados en la secreción de la GnRH, así como con el aumento de la sensibilidad de los receptores NMDA a dichos aminoácidos [12]. Se encontró efecto del factor B: suplementación con glutamato monosódico en la dieta (GLU) para la cantidad de los folículos de 4 a 5 mm de diámetro ($P < 0.05$). Estos resultados establecen una función importante del glutamato en la interpretación de la regulación del eje neuroendocrino reproductivo al demostrar que la suplementación con glutamato monosódico en la dieta, promovió un efecto positivo en la cantidad de folículos ováricos de 4 a 5 mm de diámetro en las cabras Nubia suplementadas. Es posible que la dinámica de crecimiento de estos folículos ováricos dependa de los mecanismos de estimulación y de inhibición del crecimiento folicular, los cuales pueden actuar a nivel sistémico como intraovario. Los factores sistémicos son aquellos pertenecientes al eje hipotálamohipófisis-ovario; destacan las gonadotropinas hipofisarias (FSH y LH), con acción estimulante, y el estradiol y la inhibina, con acción inhibitoria [3]. La interacción de los factores MET*GLU no tuvo efecto en la cantidad de folículos ováricos de ningún diámetro ($P > 0.05$). Posiblemente, el efecto de la interacción A*B: suministro del reconstituyente energético y la suplementación con glutamato de sodio en la dieta, en la cantidad de los folículos ováricos de las cabras Nubia, solo responden como efectos principales, aunque quizás la cantidad de animales experimentales deba aumentarse. En contraparte, se ha reportado una relación positiva entre los niveles de energía y la actividad ovárica, independientemente del nivel de proteína consumido. Por lo tanto, se sugiere que la actividad ovárica responde a la acción de los nutrientes durante la foliculogénesis, y que la condición corporal favorece los folículos de mayor diámetro, aunque la cantidad no aumente en respuesta a la suplementación [2]. Al analizar los datos sin los efectos principales de los factores, se observó que la cantidad de folículos ováricos de 2 a 3 mm y mayores que 6 mm de diámetro fue diferente ($P < 0.05$) en respuesta a la acción de los AAN contenidos en el MET y a la suplementación con GLU en la dieta de las cabras Nubia. No obstante, esta respuesta fue similar ($P > 0.05$) en la cantidad de folículos ováricos de 4 a 5 mm de diámetro (Tabla 1).

Tabla 1. Cantidad de folículos ováricos en cabras Nubia en respuesta al suministro del reconstituyente energético comercial (MET) y a la suplementación con glutamato monosódico (GLU) en la dieta.

Tratamientos	n	Folículos ováricos (n) [†]		
		2 a 3 mm	4 a 5 mm	>6 mm
T1: Cabras sin MET y sin GLU	4	7.25±1.49 a	3.75±1.10 a	2.00±0.57 a
T2: Cabras sin MET y con GLU	4	6.50±0.64 ab	6.50±0.64 a	2.25±0.47 a
T3: Cabras con MET y sin GLU	4	2.50±0.86 b	4.50±0.95 a	3.75±0.85 ab
T4: Cabras con MET y con GLU	4	3.25±1.10 ab	6.50±0.64 a	5.50±1.04 b

a, b: Valores con distinta literal en la misma columna son diferentes ($P < 0.05$). †: Media \pm error estándar.

En el presente estudio, al no encontrar efecto de la interacción de los factores MET*GLU, se evaluó la respuesta individual de cada tratamiento para determinar la cantidad de folículos ováricos. Se observó que la respuesta de la suplementación con glutamato de sodio en la dieta de cabras Nubia suministradas con el reconstituyente energético comercial (Metabolase®) mejoró la cantidad de los folículos ováricos > 6 mm de diámetro. Estos resultados difieren con lo reportado por [13] quien suplementó cabras con 1% y 2 % de propionato de calcio y encontró diferencias en la cantidad de folículos de 4 a 5 mm y > 6 mm de diámetro, respectivamente. Además, se ha reportado que la aplicación endovenosa de 7 mg kg⁻¹ de peso vivo de L-glutamina, como sustrato para la biosíntesis del aminoácido excitador glutamato en los días 1, 9, 14 y 17 del ciclo estral, incrementó la actividad ovárica total en cabras adultas bajo fotoperiodo decreciente (noviembre) en la Comarca Lagunera (25° N). Dicho efecto, no fue mediado por diferencias en condición corporal, peso vivo, o régimen de alimentación de los animales en estudio [14]. Este efecto de la suplementación de glutamato en la reactivación de la función reproductiva se puede recomendar como una estrategia de manejo de gran utilidad, ya que a las cabras se les da la oportunidad de reactivar su función reproductiva sin requerir necesariamente de incrementos en peso vivo o en condición corporal. Al respecto, es posible que, el incremento temprano en el número y en el tamaño de los folículos ováricos se deba en parte, a los cambios en el patrón de secreción y la potencia de la FSH, mientras que este incrementado desarrollo en la población folicular es probablemente causado por aumentos en la frecuencia del pulso generador de GnRH y posteriormente de LH y FSH [15].

CONCLUSIONES

Suplementar glutamato monosódico en la dieta de cabras Nubia y suministrarles un reconstituyente energético comercial mejora la actividad ovárica y aumenta la cantidad de folículos ováricos mayores que 6 mm de diámetro.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guanajuato por el financiamiento mediante el **Apoyo a la INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA 2018**, al M.C. Óscar Guadalupe Barrón Bravo por el apoyo con la ultrasonografía y al Rancho “Los Mogotes”, ejido de Aldama, municipio de Irapuato, Guanajuato.

REFERENCIAS

- [1] Martin, G.B., Milton, J.T.B., Davidson, R.H., Banchemo, H.G.E., Lindsay, D.R., Blache, D. 2004. Natural methods of increasing reproductive efficiency in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*. 82-83: 231-245.
- [2] Scaramuzzi, R.J., Oujagir, L., Menassol, J.B., Freret, S., Piezel, A., Brown, H.M., Cognié, J., Fabre-Nys, C. 2013. The pattern of LH secretion and the ovarian response to the 'ram effect' in the anoestrous ewe is influenced by body condition but not by short-term nutritional supplementation. *Reproduction Fertility and Development*. 26(8): 1154-1165.
- [3] González-Bulnes, A., Santiago-Moreno, J., García-García, R.M., Cocero, M.J., López-Sebastian, A. 2002. Patrones y mecanismos de control del desarrollo folicular durante la administración de protocolos superovulatorios en pequeños rumiantes. *Inv. Agr. Prod. Anim.* 17(1-2): 37-48.
- [4] Mahesh, V.B., Braan, D.W. 2005. Regulatory role of excitatory amino acids in reproduction. *Endocrine*. 28(3): 271-280.
- [5] Luján, R. 2004. Bases moleculares de la señalización neuronal. *Ciencia al día Internacional. Ciencias Biológicas*. 5(2). [En línea] Disponible en: <http://www.ciencia.cl/CienciaAIDia/volumen5/numero2/articulos/articulo5.html> (Consultado el día 9 de Febrero de 2018).
- [6] Contini, M.C., Fabro, A., Millen, N., Benmelej, A., Mahieu, S. 2017. Adverse effects in kidney function, antioxidant systems and histopathology in rats receiving monosodium glutamate diet. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 69(7): 547-556.
- [7] Hankir, M.K., Parkinson, J.R., Bloom, S.R., Bell, J.D. 2012. The effects of glutamate receptor agonists and antagonists on mouse hypothalamic and hippocampal neuronal activity shown through manganese enhanced MRI. *NeuroImage*. 59(2): 968-978.
- [8] Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAE). 1999. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Adaptación de la Norma Oficial Mexicana sobre Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (NOM-062-ZOO-1999). *Diario Oficial de la Federación*. México, D.F.
- [9] Hamra, A.H., Al-Dabbas, F.M.A. Awawdeh, F.T. 2003. Effect of arginine supplementation on puberty and some reproductive traits in female Awassi sheep. *J. Agric. Inv.* 20: 82-85.
- [10] Bartlewski, P.M., Baby, T.E., Giffin, J.L. 2011. Reproductive cycles in sheep. *Anim. Rep. Sci.* 124(3-4): 259-268.
- [11] SAS Institute Inc. 2012. SAS user's Guide Statistics, version 9.4 (TS1MO). Cary, N.C. USA.
- [12] Moguilevsky, J.A., Wuttke, W. 2001. Changes in the control of gonadotrophin secretion by neurotransmitters during sexual development in rats. *Exp. Clin. Endocrinol Diabetes*. 109(4): 188-195.
- [13] Rodríguez-Ferretiz, F. 2013. Respuesta al estro y población folicular de cabras suplementadas con propionato de calcio en la estación reproductiva. Tesis Profesional de Licenciatura. Departamento de Agronomía y Veterinaria. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, México.
- [14] Meza-Herrera, C.A., Rivas Ibarra, V., Chávez Perches, J.G., Salinas González, H., Urrutia Morales, J. 2006. Aminoácidos excitadores, actividad ovárica y la función del eje somatotrópico en cabras. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas* 5: 67-74.
- [15] Rawlings, N.C., Evans, A.C.O., Honaramooz, A., Bartlewski, P.M. 2003. Antral follicle growth and endocrine changes in prepuberal cattle, sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.* 78(3-4): 259-270.