

Veterinaria México

Volumen 37
Volume

Número 1
Number

Enero-Marzo 2006
January-March

Artículo:

Secreción de LH en cabras Boer inmunizadas activamente en contra de inhibina recombinante ovina subunida α

Derechos reservados, Copyright © 2006:
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

**Otras secciones de
este sitio:**

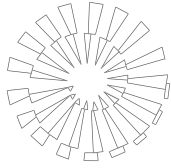
-  **Índice de este número**
-  **Más revistas**
-  **Búsqueda**

***Others sections in
this web site:***

-  ***Contents of this number***
-  ***More journals***
-  ***Search***



medigraphic.com



Secrecion de LH en cabras Boer inmunizadas activamente contra inhibina recombinante ovina subunidad

LH secretion in Boer goats actively immunized against recombinant ovine inhibin subunit

Gerardo R. Padilla-Rivas** Wolfgang Holtz*

Abstract

The objective of this study was to determine the LH secretion during the breeding and the anestrus season in Boer goats actively immunized against inhibin. In this experiment, 12 immunized and 12 non-immunized (control) Boer goat does were used. Permanently indwelling jugular catheters were placed permitting repeated blood collection for 6 h periods. During the breeding season, samples were taken during the luteal phase (days 10 to 16 of the cycle) on every other estrous cycle. During the non-breeding season, samplings were conducted every 6 weeks. Plasma LH concentrations were determined by means of ELISA. During the non-breeding season, immunized animals showed significantly lower LH concentrations than control animals ($P < 0.01$). During the breeding season, LH secretion was hardly affected by inhibin-immunization with only the pulse amplitude being slightly, though significantly reduced ($P < 0.01$). In both immunized and non-immunized animals, the pulse rate was significantly enhanced during the non-breeding season as compared to the breeding season ($P < 0.01$). In conclusion, during the breeding season goats showed lower plasma LH concentrations than during the non-breeding season. During the breeding season LH secretion is only slightly affected by active immunization, whereas during the non-breeding season the LH-suppressive effect of inhibin immunization was more pronounced.

Key words: LH, INTENSIVE SAMPLING, BREEDING SEASON, NON-BREEDING SEASON, ACTIVE IMMUNIZATION, INHIBIN

Resumen

El objetivo de este estudio fue determinar la secreción de LH durante la época reproductiva y anestro estacional en cabras Boer, inmunizadas activamente contra inhibina. Se utilizaron 12 cabras de la raza Boer, inmunizadas contra inhibina, y 12 cabras en el grupo testigo. Para cada muestreo intensivo de sangre se colocó un catéter en la vena yugular por seis horas. Durante la época reproductiva los muestreos se realizaron en la fase del cuerpo lúteo (días 10-16 del ciclo) cada segundo ciclo y durante el anestro estacional cada seis semanas. La concentración plasmática de LH se determinó mediante ELISA. En la época de anestro estacional, la secreción de LH fue significativamente menor ($P < 0.01$) en el grupo inmunizado que en el grupo testigo. En la época reproductiva la secreción de LH resultó poco afectada por la inmunización, sólo la amplitud del pulso fue significativamente menor ($P < 0.01$). Tanto en animales inmunizados como no inmunizados se encontró una diferencia significativa ($P < 0.01$) en el número de pulsos entre las épocas reproductiva y de anestro estacional. En conclusión, la concentración plasmática de LH fue menor en la época reproductiva que en la de anestro estacional, y en la época reproductiva la inmunización activa contra inhibina afectó de forma mínima la secreción de LH; mientras que en la época de anestro estacional, la inmunización activa contra inhibina sí la afectó.

Palabras clave: LH, MUESTREO INTENSIVO, ESTRO, ANESTRO ESTACIONAL, INMUNIZACIÓN ACTIVA, INHIBINA.

Recibido el 22 de marzo de 2005 y aceptado el 12 de septiembre de 2005.

*Institut fuer Tierzucht und Haustiergenetik Goettingen Universitaet, Albrecht Thaer Weg 3, D-37075 Germany. Correo electrónico: wholtz@gwdg.de

**Dirección actual y autor para correspondencia: Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, F. I. Madero esq. Dr E. Aguirre Pequeño, Col. Mitras, Monterrey, Nuevo León, México, Tel. 01 81 83 29 41 73 Fax: 01 81 83 33 77 47. Correo electrónico: gpadilla@fm.uanl.mx

Introduction

Active immunization against inhibin has been used as a superovulation method in certain cases; nevertheless, the endocrine mechanism that is set in motion by the active immunization against inhibin has yet to be discovered. Inhibin is a glucoprotein, with two subunits α and β ,^{1,2} that belongs to the family of β growth factors.³ This hormone is mainly related to follicle-stimulating hormone (FSH) as well as luteinizing hormone (LH) synthesis and secretion regulation.^{2,4,5}

In ewes, there is information on the effect of immunization on the LH secretion. On the other hand, in goat does, reports have been made on the effect of active immunization against inhibin on the level of preovulatory LH peak,⁶ although there are no reports in both species in relation to the effect of immunization against inhibin in the *corpus luteum* phase. Therefore, the objective of this work was to determine the LH secretion during the reproductive stage and during seasonal anoestrus in boer goat does actively immunized against inhibin.

Material and methods

This study was carried out in the Genetics and Animal Production Institute of Goettingen University in Germany. This city is found at 51° 23' latitude North and 9° 56' longitude East. Duration of light hours is 16 h 38 min during the month of June and 7 h 50 min during the month of December.

Twenty four Boer goat does, 12 to 24 months of age, with 55.7 kg average weight were used in this experiment. The animals were kept indoors in concrete pens with the floor covered with wheat straw. Feeding was based on 0.5 kg compressed concentrate (17%, crude protein; 3%, fat; 9%, ash; 0.7%, calcium; 0.4%, phosphorus; 0.2%, sodium; 0.2%, magnesium; 10 000 IU, vitamin A; 1 250 IU, vitamin D₃; 20 mg, vitamin E; and 0.2 mg, selenium) mixed with 0.5 kg of rolled oats. Individuals received wheat stubble, a portion of mineralized salt and water *ad libitum*. Immunization was performed in does that had at least one natural estrous cycle.

Results of immunization have been previously reported.⁷ Twelve goat does were immunized against recombinant ovine inhibin α subunit (r.oINH- α)*, during the reproductive season. In the first dose, 100 μ g of r.oINH- α were applied in oil diluted Montanide/Marcol adjuvant (1:9). Four weeks later a second subcutaneous injection was administered with 100 μ g of r.oINH- α . There were 12 goats in the control group, that were treated in parallel with 1

Introducción

La inmunización activa contra inhibina ha sido utilizada en algunos casos como método de superovulación; sin embargo, no se ha podido elucidar aún el mecanismo endocrino que se desencadena por la inmunización activa contra inhibina. Esta última constituye una glucoproteína con dos subunidades, α y β ,^{1,2} pertenece a la familia de los factores de crecimiento β .³ Esta hormona se relaciona con la regulación de la síntesis y secreción de la hormona folículo-estimulante (FSH) principalmente, así como con la hormona luteinizante (LH).^{2,4,5}

En borregas, existen antecedentes del efecto de la inmunización sobre la secreción de LH. Por otra parte, en cabras sólo se ha notificado que la inmunización activa contra inhibina afecta el nivel del pico preovulatorio de LH,⁶ aunque aún no se tienen informes de ambas especies respecto del efecto de la inmunización contra inhibina en la fase del cuerpo lúteo. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar la secreción de LH durante la época reproductiva y anestro estacional en cabras Boer inmunizadas activamente contra inhibina.

Material y métodos

El presente estudio se llevó a cabo en el Instituto de Producción Animal y Genética, de la Universidad de Goettingen, en Alemania. Dicha ciudad de encuentra en los 51° 23' latitud Norte y 9° 56' longitud Este. La duración de las horas luz es de 16 h 38 min en junio y 7 h 50 min en diciembre.

Para el experimento se usaron 24 cabras Boer con edad entre 12 y 24 meses y peso promedio de 55.7 kg. Los animales se encontraban estabulados en corrales de concreto cubiertos con paja de trigo. La alimentación se basó en 0.5 kg de concentrado comprimido (17%, proteína cruda; 3%, grasas; 9%, cenizas; 0.7%, calcio; 0.4%, fósforo; 0.2%, sodio; 0.2%, magnesio; 10 000 UI, vitamina A; 1 250 UI, vitamina D₃; 20 mg, vitamina E; y 0.2 mg, selenio) mezclado con 0.5 kg de avena prensada. A los sujetos se les proporcionó rastrojo de trigo, porción de sal mineralizada y agua *ad libitum*. La inmunización se efectuó en cabras que por lo menos habían manifestado un ciclo estral natural.

Los resultados de la inmunización fueron notificados con anterioridad.⁷ Durante la época reproductiva se inmunizaron 12 cabras contra inhibina recombinante ovina subunidad α * (r.oINH- α). En la primera dosis se aplicaron 100 μ g de r.oINH- α en adyuvante Montanide/Marcol (1:9) que se diluyeron

*Biotech Australia PTY.Ltd., Roseville, Australia

mL of the vehicle and blood samples were taken once a week to determine antibodies.

Twelve goats were immunized against inhibin with the purpose of determining the LH pulsatile secretion; also, 12 goats of the control group were followed-up,⁷ during the reproductive season in the *corpus luteum* phase (days 10-16 of the cycle), each second estrus cycle and during the seasonal anoestrus every six weeks. Intensive sampling of blood (every 15 min) was carried out during a 6 hour window, by means of a catheter placed in the jugular vein (polyethylene, internal diameter: 0.86 mm; and external: 1.52 mm).^{*} Blood sampling was begun one hour after having placed the catheter in the vein from 9:00 to 15:00 hours. A 4 mL sample was taken every 15 minutes⁸, in a glass tube with 38% sodium citrate and centrifuged at 1 000 g during ten minutes at 4°C. Plasma was then placed in 1.5 mL tubes and stored at -20°C until their analysis. At the end of each sampling, the catheter was removed from the jugular vein and each goat received 4 mL of penicillin and streptomycin^{**} subcutaneously. Also, 2 mL of iron dextran^{***} were applied. This post-sampling treatment was applied as prophylaxis against infections and anemia.

A total of 259 intensive blood samplings were performed, of these, 127 were practiced during the reproductive season (62 in the immunized group and 65 in the control group) and 132 during the seasonal anoestrus (68 in the first group and 64 in the second). Determination of blood LH levels was performed by ELISA.⁶ The variation coefficients within and between assays were 10% and 14%, respectively. The minimum detection level with 30 µL of plasma was 0.1 ng/mL. Crossed reaction with ovine FSH, bovine prolactin and bovine GH were less than 0.1%. Once LH values were obtained from each of the samples, the following parameters were estimated using the SIGMA PLOT,[†] computer program: mean concentration, basal level, number of pulses in 6 h, pulse amplitude, pulse duration, area under the curve.

Data was statistically analyzed by SAS[‡] software (version 6, 1993). Mean and standard error was estimated for each of the LH estimated parameters and a variance analysis was performed by the GLM procedure, for a lineal model that included as set effects: treatment (immunization/ without immunization) and the season (reproductive/seasonal anoestrus), and as random effects: the animal within treatment per season and experimental error, both with normal distribution and independently with distribution parameters: (0, σ^2). In view of the fact that response variables were recorded in different times, this effect was included in the model, as well as the different existing interactions. The differences of

en aceite. Cuatro semanas después se aplicó una segunda inyección subcutánea de 100 µg de r.oINH- α . El grupo testigo constó de 12 cabras que fueron tratadas, en forma paralela, con 1 mL del vehículo y se colectaron muestras de sangre una vez por semana para la determinación de los anticuerpos.

Con el propósito de determinar la secreción pulsátil de LH, se inmunizó a dos cabras contra inhibina; asimismo, se dio seguimiento a 12 cabras del grupo testigo,⁷ durante la época reproductiva dentro de la fase del cuerpo lúteo (días 10-16 del ciclo), cada segundo ciclo estral y durante la época de anestro estacional cada seis semanas. El muestreo intensivo de sangre (cada 15 min) se realizó durante seis horas (ventana) mediante un catéter colocado en la vena yugular (polietileno, diámetro interno: 0.86 mm; y externo: 1.52 mm).^{*} El muestreo de sangre inició una hora después de haber colocado el catéter en la vena, de las 9:00 a las 15:00 horas. Cada 15 minutos se obtuvo una muestra de 4 mL.⁸ Dicha muestra se tomó en un tubo de vidrio con citrato de sodio al 38% y se centrifugó a 1 000 g durante diez minutos a 4°C. El plasma se colocó en tubos de 1.5 mL y se almacenó a -20°C hasta su análisis. Al final de cada muestreo, el catéter fue retirado de la vena yugular y cada cabra recibió 4 mL de penicilina y estreptomicina^{**} vía subcutánea. También se les aplicaron 2 mL de hierro dextran.^{***} Este tratamiento posterior al muestreo se realizó como medida profiláctica contra infecciones y anemia.

En total se realizaron 259 muestreos intensivos de sangre, de éstos 127 se realizaron durante la época reproductiva (62 en el grupo inmunizado y 65 en el testigo) y 132 durante la época de anestro estacional (68 en el primer grupo y 64 en el segundo). La determinación de los niveles de LH en sangre se realizó mediante ELISA.⁶ El coeficiente de variación intra e interensayo fue de 10% y 14%, respectivamente. El nivel mínimo de detección con 30 µL de plasma fue de 0.1 ng/mL. La reacción cruzada con FSH ovina, prolactina bovina y GH bovina fueron menores a 0.1%. Una vez obtenidos los valores de LH para cada una de las muestras, al usar el paquete computacional SIGMA PLOT,[†] se calcularon los parámetros concentración media, nivel basal, número de pulsos en 6 h, amplitud del pulso, duración del pulso, área bajo la curva.

Los datos se analizaron estadísticamente por medio del software SAS[‡] (versión 6, 1993). Se calcularon la media y el error estándar para cada uno de los

^{*}Portex Limited, Hyte, Kent, Inglaterra.

^{**}Tardomycel Comp III Bayer, Leverkusen, Alemania.

^{***}100mg dextran complejo/mL, WDT, Garben, Alemania

[†]Sigma, Alemania

SAS. SAS/STAT. Guía para computadora personal, versión 6. SAS

[‡]Institute Inc. Cary NC., 1987.

significant effects means were analyzed by the Scheffé test.⁸

Results

Individual effects interaction only showed tendencies ($P < 0.10$), and for this reason the individual effects results are shown. There were no correlations ($P > 0.10$) between antibody levels and the different LH parameters.

LH mean concentration

Immunized animals during reproductive season had a mean LH of 0.264 ± 0.03 ng/mL (mean $\pm$ SEM), while the control group had 0.279 ± 0.03 ng/mL. These means were not significantly different ($P < 0.05$). During seasonal anoestrus, the mean LH in the immunized group was lower ($P < 0.01$) than the control group (Table 1). Finally, LH means of both groups during the reproductive season were significantly lower ($P < 0.01$) than the control group mean during the anoestrus season.

LH basal concentration

LH basal concentration of animals immunized during the reproductive season were 0.211 ± 0.03 ng/mL and 0.205 ± 0.02 ng/mL for the control group, without significant difference ($P > 0.05$). During the seasonal anoestrus, there was a significant difference ($P < 0.01$) between immunized animals and the control group (Table 1). LH basal concentration of the control group during seasonal anoestrus was twice as high ($P < 0.01$) than what was found in both groups during reproductive season.

Area under the LH curve

The value obtained for area under the LH curve in immunized animals during the reproductive season was 6.6 ± 0.7 and for the control group it was 6.9 ± 0.7 , without registering a significant difference ($P > 0.05$). During the seasonal anoestrus, the area under the curve in immunized animals was significantly lower ($P < 0.01$) than in the control group (Table 1). Area under the curve of the control group, during seasonal anoestrus was significantly higher to the values found in immunized animals, as well as the control group during reproductive season.

Number of pulses in six h

There was no significant difference found in the number of pulses between both experimental groups

parámetros estimados de LH y se realizó un análisis de varianza mediante el procedimiento GLM, para un modelo lineal que incluyó como efectos fijos al tratamiento (inmunización/sin inmunización) y la época (reproductiva/anoestro estacional), y como efectos aleatorios, al animal dentro de tratamiento por época y al error experimental, ambos con distribución normal y de manera independiente con parámetros de distribución: $(0, \delta^2)$. En virtud de que las variables de respuesta se registraron en diferentes tiempos se incluyó este efecto en el modelo, así como las diferentes interacciones existentes. Las diferencias de las medias de los efectos significativos se probaron mediante la prueba de Scheffé.⁸

Resultados

La interacción de los efectos individuales sólo mostró tendencias ($P < 0.10$), razón por lo que se presentan resultados de los efectos individuales. No se encontraron correlaciones ($P > 0.10$) entre los niveles de anticuerpos y los distintos parámetros de LH.

Concentración media de LH

Durante la época reproductiva los animales inmunizados presentaron una media de LH de 0.264 ± 0.03 ng/mL (media $\pm$ SEM), mientras que en el grupo testigo ésta fue de 0.279 ± 0.03 ng/mL, estas medias no fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$). En la época de anoestro estacional, la media de LH en el grupo inmunizado fue menor ($P < 0.01$) que en el testigo (Cuadro 1). Finalmente, las medias de LH de ambos grupos durante la época reproductiva fueron significativamente menores ($P < 0.01$) que la media del grupo testigo en la época de anoestro.

Concentración basal de LH

La concentración basal de LH en los animales inmunizados durante la época reproductiva fue de 0.211 ± 0.03 ng/mL y de 0.205 ± 0.02 ng/mL para el grupo testigo, sin diferencia significativa ($P > 0.05$). Durante la época de anoestro estacional, se encontró diferencia significativa ($P < 0.01$) entre los animales inmunizados y el grupo testigo (Cuadro 1). La concentración basal del grupo testigo en la época de anoestro estacional fue dos veces mayor ($P < 0.01$) que la encontrada en ambos grupos en la época reproductiva.

Área bajo la curva de LH

En los animales inmunizados, el valor obtenido para el área bajo la curva de LH durante la época reproductiva

during the reproductive season ($P > 0.05$). Immunized animals had 4.5 ± 0.3 and the control group 4.4 ± 0.3 pulses/six hr. During the seasonal anoestrus there was not significant difference ($P > 0.05$) between both groups (5.5 ± 0.3 y 5.4 ± 0.3 pulses / six hr, immunized and control, respectively). Pulse number during seasonal anoestrus of both experimental groups was significantly higher ($P < 0.01$) by one pulse (21%) than during reproductive season.

Pulse amplitude

Pulse amplitude was significantly lower in immunized animals ($P < 0.01$) than in the control group, during the reproductive season. (Table 2). Seasonal anoestrus had the same tendency. Pulse amplitude in immunized animals (0.508 ± 0.04 ng/mL) was significantly lower ($P < 0.01$) than in the control group (0.905 ± 0.07 ng/mL). Control group pulse amplitude during seasonal anoestrus was significantly higher ($P < 0.01$) than what was found in both groups during reproductive season.

Pulse duration

During reproductive season, no significant differences were found ($P > 0.05$) in pulse duration between both groups (37.2 ± 2.2 and 40.5 ± 2.7 min for immunized and control group, respectively). No significant differences were found also during seasonal anoestrus ($P > 0.05$). Immunized animals pulse duration was 38.9 ± 1.8 min, while in the control group it was 44.6 ± 2.4 min. A significant difference was only found in the pulse duration between the control group during seasonal anoestrus and the immunized group during reproductive season ($P < 0.01$).

Discussion

The results of this research demonstrated that active inhibin immunization in goats affect LH secretion during seasonal anoestrus; in an indirect manner, the effect of inhibin on the pulsatile secretion of LH was observed during this season. The results are contrasting with what has been described in most species, since it has been informed that inhibin exerts its greater effect on FSH secretion without affecting LH⁴; but this is not so in goats. In another research where goats were immunized against inhibin during reproductive season, a reduction of the pre-ovulation LH was reported in the immunized animals. This supports the results found in this species and it can be said that based on more scientific evidence, in goats, inhibin has an effect on LH in both seasonal periods (reproductive and anoestrus).

fue 6.6 ± 0.7 y para el grupo testigo fue de 6.9 ± 0.7 , sin que se registrara diferencia significativa ($P > 0.05$). Durante la época de anestro estacional el área bajo la curva en los animales inmunizados fue significativamente menor ($P < 0.01$) que en el grupo testigo (Cuadro 1). El área bajo la curva del grupo testigo en la época de anestro estacional fue significativamente mayor a los valores, tanto de los animales inmunizados como del grupo testigo en la época reproductiva.

Número de pulsos en seis h

En la época reproductiva no se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$) en el número de pulsos entre ambos grupos experimentales. Los animales inmunizados mostraron 4.5 ± 0.3 y el grupo testigo 4.4 ± 0.3 pulsos/seis h. En la época de anestro estacional tampoco se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$) entre ambos grupos (5.5 ± 0.3 y 5.4 ± 0.3 pulsos/seis h, inmunizados y testigo, respectivamente). El número de pulsos en la época de anestro estacional de ambos grupos experimentales fue significativamente mayor ($P < 0.01$) por un pulso (21%) que en la época reproductiva.

Amplitud del pulso

En los animales inmunizados, la amplitud del pulso fue significativamente menor ($P < 0.01$) que en el grupo testigo, esto última durante la época reproductiva (Cuadro 2). En la época de anestro estacional se presentó la misma tendencia. La amplitud del pulso en los animales inmunizados (0.508 ± 0.04 ng/mL) fue significativamente menor ($P < 0.01$) que en el grupo testigo (0.905 ± 0.07 ng/mL). La amplitud del pulso del grupo testigo en la época de anestro estacional fue significativamente mayor ($P < 0.01$) que la encontrada en ambos grupos durante la época reproductiva.

Duración del pulso

Durante la época reproductiva no se hallaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en la duración del pulso entre ambos grupos (37.2 ± 2.2 y 40.5 ± 2.7 min para los grupos inmunizado y testigo, respectivamente). En la época de anestro estacional tampoco se halló diferencia significativa ($P > 0.05$). La duración del pulso en los animales inmunizados fue 38.9 ± 1.8 min, mientras que en el grupo testigo fue 44.6 ± 2.4 min. Sólo se encontró diferencia significativa ($P < 0.01$) en la duración del pulso entre el grupo testigo en la época de anestro estacional y los animales inmunizados en la época reproductiva.

During the seasonal anoestrus period, active immunization against inhibin had a negative effect on LH secretion. With the exception of the pulse number and duration, the rest of the parameters of LH, in immunized animals, were significantly below the ones of the control group. (Table 1) Perhaps antibodies against inhibin generated by the immunized animals (data not shown⁷) neutralized endogenous inhibin and as a consequence the secretion of estradiol by the follicles present in the ovary increased. It must be mentioned that samples were not analyzed for estradiol in this study; therefore, this effect on LH secretion patterns that were observed is only mentioned as a hypothesis. Literature reports indicate that estradiol is an LH secretion inhibitor during seasonal anoestrus in ewes.¹⁴⁻¹⁶ On the other hand, it is known that inhibin increases LH secretion during the anoestrus period of ovariectomized ewes,^{17,18} and this effect was not detected in ewes immunized against inhibin.¹⁹

Immunization against roINH α exerted a minimum influence on LH secretion during reproductive season, since only the LH pulse amplitude was reduced significantly. (Table 2). These results are in agreement with that which was described in immunized ewes where there was a reduction of LH secretion in the *corpus luteum*²⁰⁻²¹ and follicular²¹ phases. This

Discusión

Los resultados de esta investigación hacen constar que la inmunización activa contra inhibina en caprinos afecta la secreción de LH durante la época de anestro estacional, se observó, de manera indirecta, que la inhibina presenta un efecto sobre la secreción pulsátil de LH en esta época. Los resultados son contrastantes con los descritos en la mayoría de las especies, ya que se informa que la inhibina ejerce su mayor efecto sobre la secreción de FSH sin afectar a LH,⁴ esto último no es así en caprinos. En otra investigación se notificó⁶ en cabras inmunizadas contra inhibina, durante la época reproductiva, reducción del pico preovulatorio de LH en los animales inmunizados, ello apoya los resultados encontrados en esta especie y se puede informar con mayor evidencia científica que en caprinos la inhibina tiene efecto sobre la secreción de LH en ambas épocas estacionales (reproductiva y anestro).

Durante la época de anestro estacional, la inmunización activa contra la inhibina ejerció un efecto negativo en la secreción de LH. Con excepción del número y la duración del pulso, el resto de los parámetros de LH en los animales inmunizados (Cuadro 1) fueron significativamente menores que

Cuadro 1
PARÁMETROS SIGNIFICATIVOS DE LH EN ANESTRO ESTACIONAL
SIGNIFICANT LH PARAMETERS DURING SEASONAL ANOESTRUS

Group	Mean concentration (ng/mL)		Basal concentration (ng/mL)		Area under the curve (ng/mL * min)	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
Immunized	0.343	0.03	0.273	0.03	8.7	0.8
Control	0.576	0.04*	0.453	0.03*	15.10	1.1*

*Variables within column are statistically different ($P < 0.01$).

Cuadro 2
AMPLITUD DEL PULSO DE LH EN LAS DOS ÉPOCAS REPRODUCTIVAS
LH PULSE AMPLITUDE IN BOTH REPRODUCTIVE PERIODS

Period	Immunized group (ng/mL)		Control group (ng/mL)	
	Mean	SEM	Mean	SEM
Estrus	0.399	0.03	0.583	0.04*
Seasonal anoestrus	0.508	0.04	0.905	0.07*

* Variables within row are statistically different ($P < 0.01$).

reduction was originated in a high estradiol secretion during the *corpus luteum* phase since the antibodies against inhibin produced by the immunization (data not shown⁷) could have blocked the negative feedback mechanism between inhibin and estradiol.

Another possible explanation for these results could be that inhibin exerts a direct influence on LH secretion through the hypophysis receptors and such influence was suppressed by the antibodies generated by immunization.

Different LH parameters values generated in the control group, give important information about this hormone secretion during the *corpus luteum* phase and seasonal anoestrus, since until the writing of this manuscript there has been no mention of such in the literature. Results given here for the control group coincide in part, with what has been recorded for goats in other breeds⁹ and ewes.¹⁰⁻¹³

In conclusion, LH plasma concentration in Boer goats is lower during the reproductive period than during seasonal anoestrus. In this last one, a negative effect was observed on LH pulsatile secretion as a consequence of immunization. During the reproductive period, active immunization against inhibin only affected LH pulse amplitude; therefore, LH secretion was little affected.

Referencias

1. Rivier C, Vale W, Rivier J. Studies of inhibin family of hormones: a review. *Horm Res* 1987;28:104-118.
2. De Jong FH. Inhibin. *Physiol Rev* 1988; 68:555-607.
3. Hsueh AW, Dahl KD, Vauchman J, Tucker E, Rivier J, Bardin CW, *et al.* Heterodimers and homodimers of inhibin subunits have different paracrine actions on the modulation of luteinizing hormone-stimulated androgen biosynthesis. *Proc Nat Acad Sci USA* 1987;84:5082-5086.
4. De Jong FH. Inhibin fact or fiction. *Mol Cell Endocrinol* 1979; 13:1-10.
5. Findlay JK. An update on the roles of inhibin, activin and follistatin as local regulators of folliculogenesis. *Biol Reprod* 1993;48:15-23.
6. Hennies M, Voglmayr JK, Dietrich E, Stollman M, Möller R, Holtz W. Hormonal responses of female goats to active immunization against a recombinant human inhibin α -subunit, and establishment of an enzyme-linked immunosorbent assay for caprine follicle stimulating hormone. *Reprod Domest Anim* 2001;36:67-71.
7. Padilla GR, Knight PG, Holtz W. Superovulation of Boer goats by active immunization against recombinant ovine inhibin. *Theriogenology* 2000;53:506 Abstract.
8. Scheffé H. Statistical methods for evaluation of several sets of constants and several sources of variability. *Chem Eng Prog* 1950;50:200-205.
9. Von Bodenhausen A. Auswirkungen von Tageslich-

los del grupo testigo. Quizá los anticuerpos contra la inhibina generados en los animales inmunizados (datos no mostrados⁷) neutralizaron la inhibina endógena y, como consecuencia de ello, la secreción de estradiol de los folículos presentes en el ovario haya aumentado. Cabe señalar que en este trabajo no se analizaron las muestras para estradiol, por lo que sólo se plantea de forma hipotética el efecto de éste sobre los patrones de secreción de LH obtenidos. En la literatura se informa que el estradiol representa un inhibidor de la secreción de LH en la época de anestro estacional en borregas.¹⁴⁻¹⁶ Por otra parte, se sabe que la inhibina incrementa la secreción de LH durante la época de anestro en borregas ovariectomizadas,^{17,18} y este efecto no se encontró en borregas inmunizadas contra la inhibina.¹⁹

La inmunización contra roINH α ejerció una influencia mínima sobre la secreción de LH durante la época reproductiva, ya que sólo la amplitud del pulso de LH (Cuadro 2) se vio reducida significativamente. Estos resultados concuerdan con lo descrito en borregas inmunizadas donde se registró reducción en la secreción de LH en las fases del cuerpo lúteo²⁰⁻²¹ y folicular.²¹ Esta reducción se originó en una elevada secreción de estradiol durante la fase del cuerpo lúteo, ya que los anticuerpos contra inhibina producidos por la inmunización (datos no mostrados⁷) pudieron haber bloqueado el mecanismo de retroalimentación negativa entre inhibina y estradiol.

Otra posible explicación para estos resultados pudiera ser que la inhibina en la cabra ejerza realmente una influencia directa sobre la secreción de LH a través de los receptores en la hipófisis, y que tal influencia se haya suprimido mediante los anticuerpos generados por la inmunización.

Los valores generados de los distintos parámetros de LH en el grupo testigo, aportan información importante acerca de la secreción de esta hormona durante la fase lútea y el anestro estacional, ya que hasta la elaboración de este manuscrito aún no se observa en la literatura. Aquí los resultados del grupo testigo coinciden, en parte, con lo registrado para cabras de otras razas⁹ y borregas.¹⁰⁻¹³

En conclusión, en cabras Boer la concentración plasmática de LH es menor en la época reproductiva que en la de anestro estacional. En ésta se observó un efecto negativo como consecuencia de la inmunización en la secreción pulsátil de LH. Durante la época reproductiva, la inmunización activa contra la inhibina sólo afectó la amplitud del pulso de LH, por lo que la secreción de LH resultó poco afectada.

tdauer einem Opiatantagonisten, Prolaktin und Melatonin auf Hormonverläufe und Zyklusaktivität bei

- der Ziege (tesis de doctorado). Goettingen Alemania: Universitaet Goettingen, 1990.
10. Yuthasastrakosol P, Palmer WM, Howland BE. Release of LH in anoestrous and cycling ewes. *J Reprod Fertil* 1977;50:319-321.
 11. Jackson GL, Davis SL. Comparison of luteinizing hormone and prolactin levels in cycling and aneestrous ewes. *Neuroendocrinology* 1979;28:256-263.
 12. Walton JS, Evins JD, Fitzgerald BP, Cunningham FJ. Abrupt increase in day-length and short-term changes in the plasma concentrations of FSH, LH and prolactin in anoestrous ewes. *J Reprod Fertil* 1980;59:163-171.
 13. Anson HI, Legan SJ. Does the first LH surge of the breeding season initiate the first full-length cycle in the ewe? *J Reprod* 1988;82:761-767.
 14. Goodman RL, Bittman EL, Douglas LF, Karsch FJ. Alterations in the control of luteinizing hormone pulse frequency underline the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. *Biol Reprod* 1982;27:580-589.
 15. Legan SJ, Karsch FJ, Foster DL. The endocrine control of seasonal reproductive function in the ewe: a marked change in response to the negative feedback action of estradiol on luteinizing hormone secretion. *Endocrinology* 1977;101:818-824.
 16. Karsch FJ, Cummins JT, Thomas GB, Clarke IJ. Steroid feedback inhibition of pulsatile secretion of gonadotrophin-releasing hormone in the ewe. *Biol Reprod* 1987; 36:1207-1218.
 17. McLeod BJ, McNeilly AS. Suppression of plasma FSH concentration with bovine follicular fluid blocks ovulation in GnRH-treated seasonally anoestrous ewes. *J Reprod Fertil* 1987;81:187-194.
 18. Knight PG, Castillo RJ. Effects of bovine follicular fluid on gonadotrophin secretion in intact and chronically ovariectomized ewes before and after desensitization of pituitary gonadotrophs to gonadotrophin-releasing hormone. *J Endocrinol* 1988;117:431-439.
 19. Muttukrishna S, Knight PG. Effects of crude and highly purified bovine inhibin (Mr32000 form) on gonadotrophin production by ovine pituitary cells *in vitro*: inhibin enhances gonadotrophin-releasing hormone-induced release LH. *J Endocrinol* 1990; 127:149-159.
 20. Wharhall JHM, McLeod BJ, Glencross RG, Beard AJ, Knight PG. Inhibin immunoneutralization by antibodies raised against synthetic peptide sequences of inhibin? subunit: effects on gonadotrophin concentrations and ovulation in sheep. *J Endocrinol* 1990;124:167-176.
 21. Meyer RL, Carlson KM, Rivier J, Wheaton JE. Antiserum to an inhibin alpha-chain peptide neutralizes inhibin bioactivity and increases ovulation rate in sheep. *J Anim Sci* 1991;69:747-754.