

## RESPUESTA HIPOFISARIA Y OVULATORIA DE CONEJAS NULÍPARAS ALIMENTADAS CON DIETAS SUPLEMENTADAS CON ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS n-3

Pascual, J.I.<sup>1</sup>, Millán, P.<sup>2</sup>, de la Riva, S.<sup>2</sup>, García-García R.M.<sup>1</sup>, Arias-Álvarez M.<sup>3</sup>, Rodríguez M.<sup>1</sup>, Lorenzo P.L.<sup>2</sup>, Rebollar, P.G.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, E.T.S.I. Agrónomos, UPM. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología (Fisiología animal), Facultad de Veterinaria, UCM. <sup>3</sup>Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, UCM. Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid.

[pilar.grebollar@upm.es](mailto:pilar.grebollar@upm.es)

### RESUMEN

Veinte conejas nulíparas se alimentaron *ad libitum* desde las 10 a las 16 semanas de edad con dos piensos isofibrosos, isoenergéticos e isoproteicos suplementados con dos fuentes de grasa diferentes: 0,75% de manteca para la dieta control (grupo C; n=10) ó 1,5% de un suplemento (Optomega-50; Optivite International Ltd., España) que contenía un 50% de extracto etéreo y 38% de ácidos grasos poli-insaturados n-3 (AG n-3) para la dieta experimental (grupo P; n=10). A las 16 semanas de edad se determinó el consumo de pienso, así como la tasa de ovulación y las concentraciones plasmáticas de progesterona y LH a 0, 60 min, 5, 7 y 9 días post-inducción de ovulación con 20 µg de Gonadorelina (Inducel-GnRH, Lab. Ovejero). El consumo de pienso (150,5 g/d), el pico preovulatorio de LH (149,7±10,9 ng/ml), la tasa de ovulación (95%) y el número de cuerpos lúteos (9,8±0,7) fueron similares entre tratamientos. Las concentraciones plasmáticas de progesterona aumentaron a los 60 minutos (7,13±1,9 ng/ml) y 5 días (13,3±1,9 ng/ml) con respecto al día 0 (0,7±1,9 ng/ml;  $P<0.05$ ), permaneciendo elevadas el día 9 en ambos grupos (19,4±1,9 ng/ml). Además, el día 5 y 7 post-inducción, las hembras alimentadas con la dieta P tendieron a tener niveles más elevados de progesterona en sangre que las alimentadas con la dieta C (16,6±1,9 vs.12,6±1,8 y 19,0±1,8 vs. 15,5±2,1 ng/ml,  $P=0,068$  y  $P=0,082$ ; respectivamente) que coinciden con el momento de la implantación embrionaria en esta especie. Por lo tanto, la suplementación con AG n-3 podría mejorar los niveles de progesterona en sangre y por lo tanto reducir la mortalidad embrionaria en este punto.

### SUMMARY

Twenty rabbit does were fed *ad libitum* from 10 to 16 weeks of age two isofibrous, isoenergetic and isoproteic diets (n=10) supplemented with two different fat sources: 0.75% lard for diet C (control) or 1.5% of a supplement (Optomega-50; Optivite International Ltd., Spain) containing a 50% of EE and 38% of n-3 polyunsaturated fatty acids for diet P (PUFA n-3). Does feed intake, ovulation rate and plasma progesterone and LH concentrations at 0, 60 min, 5, 7 and 9 days post-induction of ovulation with 20 µg of Gonadorelina (Inducel-GnRH, Lab. Ovejero) at 16 weeks of age were assessed. Average daily intake (150.5 g/d), ovulation rate (95%), preovulatory peak of plasma LH (149.7±10.9 ng/ml) and number of corpora lutea (9.8±0.7) were similar between dietary treatments. Plasma progesterone concentrations increased at 60 minutes (7.13±1.9 ng/ml) and 5 days (13.3±1.9 ng/ml) after induction with respect to day 0 (0.7±1.9 ng/ml;  $P<0.05$ ), remaining constant afterward in both groups (19.4±1.9 ng/ml). Moreover, plasma progesterone of does fed diet P tended to be higher than for diet C on day 5 and 7 post-induction (16.6±1.9 vs.12.6±1.8 and 19.0±1.8 vs. 15.5±2.1 ng/ml,  $P=0.068$  and  $P=0.082$ ; respectively). Therefore, PUFA n-3 supplementation in does rabbit diets might be related with high progesterone levels and reduced early embryo mortality.

**KEYWORDS:** LH, progesterone, PUFA n-3, rabbit

### INTRODUCCIÓN

Aumentar el número de gazapos destetados por coneja y parto es un objetivo importante para incrementar la rentabilidad del sector cunícola industrial con efectos directos. La mejora genética de la prolificidad en las líneas de madres ha demostrado ser una estrategia eficaz

para alcanzar este objetivo; sin embargo otras vías, como la influencia de diferentes fuentes de grasa en las dietas de conejas reproductoras, han sido muy poco estudiadas.

Los ácidos grasos (AG) n-3 interfieren en la fisiología reproductiva porque pueden modular los enzimas involucrados en el metabolismo de las prostaglandinas y del colesterol que es el precursor de los esteroides como la progesterona (revisado en Gulliver et al., 2012). El objetivo de este trabajo es estudiar si la suplementación con AG poliinsaturados n-3 en las dietas de conejas durante la recría puede afectar a la secreción de LH hipofisaria, a la tasa de ovulación y a la síntesis esteroidogénica ovárica determinando las concentraciones de progesterona plasmática.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 20 conejas (*Oryctolagus cuniculus*) híbridas (Neozelandés blanco x Californiano), alojadas en la granja experimental de la E.T.S.I. Agrónomos de Madrid (20-25°C, 16HL:8HO) se distribuyeron al azar en dos grupos desde las 10 hasta las 16 semanas de edad, suministrándoles *ad libitum* dos piensos con igual composición en ingredientes y valor nutritivo (2400 kcal ED/kg, 37% FND y 16% PB) pero suplementados con diferentes fuentes de grasa. En el grupo P (PUFA, poliinsaturated fatty acids n-3, n=10) se incluyó un 1,5% de un suplemento (Optomega 50, Optivite, International Ltd., España), con un 50% de extracto etéreo, concentrado en AG n-3 [13% DHA (C22:6 n-3), 3% DAPA (C22:5 n-3), 7% EPA (C20:5 n-3), 7% C18:4 n-3 y 2% Linolénico (C18:3 n-3)] a partir de aceite refinado de salmón, y en el grupo C (control, n=10) se utilizó un 0,75% de manteca.

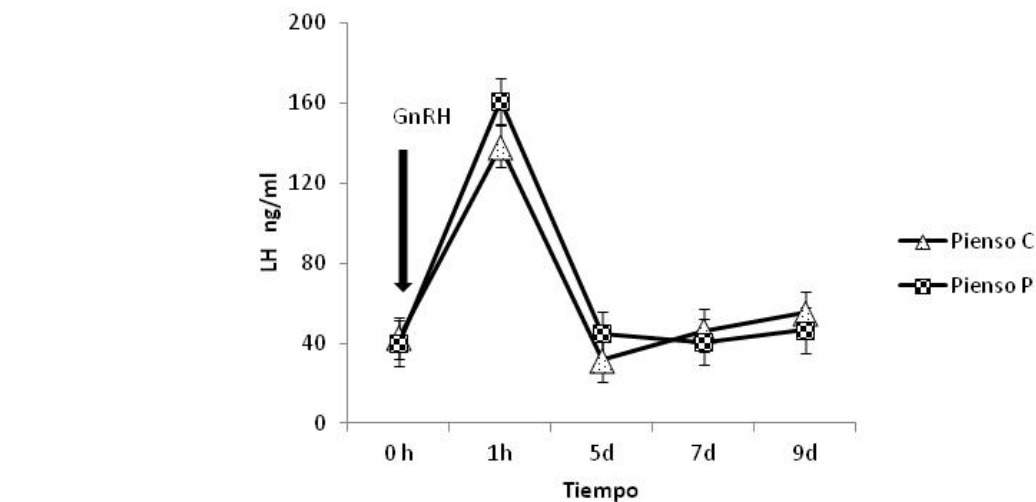
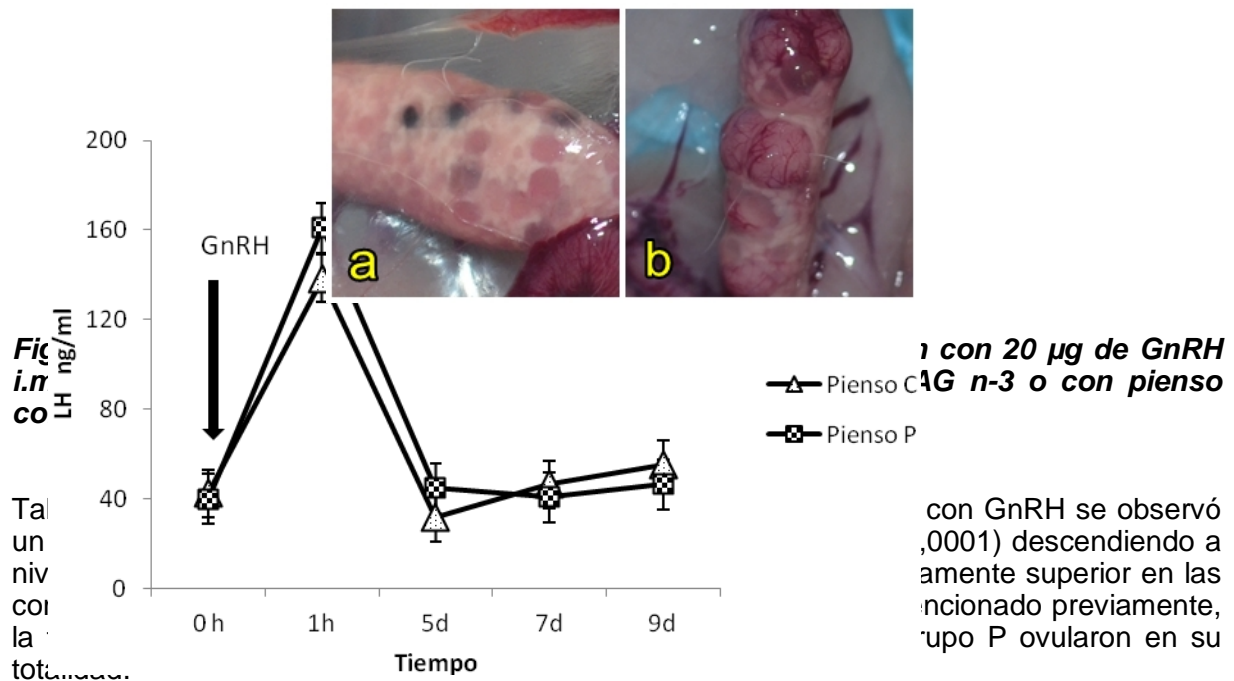
Durante el experimento, se controló el consumo y el incremento de peso de los animales. Para estudiar la respuesta hipofisaria y ovárica, a las 16 semanas de edad y con un peso medio de 4691±82,8 g, todas las conejas se trataron con 20 µg de GnRH, i.m. (Inducel-GnRH Lab. Ovejero) para inducirles la ovulación. Se tomaron un total de 5 muestras de sangre por punción de la arteria medial de la oreja (10:00-11:00 a.m.), antes de la inducción, una hora después, y los días 5, 7 y 9 de pseudogestación. Cada muestra de sangre se recogió en tubos con EDTA, se centrifugaron a 3.500 r.p.m durante 10 min y el plasma se congeló a -20°C. Posteriormente, mediante enzimoimmunoanálisis, se analizaron las concentraciones de progesterona con un kit comercial (Progesterone ELISA, Demeditec Diagnostics GmbH, Germany) y las de LH siguiendo el protocolo de Rebollar et al. (2011). Todos los animales se sacrificaron el día 9 post-inducción de ovulación para determinar si habían ovulado o no y la tasa de ovulación (mediante el recuento de los cuerpos lúteos (CL) en la superficie ovárica).

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., 2001). Se estudió el efecto de las dietas sobre la tasa de ovulación con un test Chi<sup>2</sup> utilizando el proc catmod y sobre el consumo de pienso y el nº de CL con un análisis de varianza de una vía (tipo de dieta) con el proc glm. Las concentraciones de LH y progesterona se analizaron con un modelo de medidas repetidas (proc mixed) con la coneja como efecto fijo y el tipo de dieta como efecto principal.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las conejas que recibieron el pienso suplementado con AG n-3 tendieron a consumir más que las del grupo control (199,6 ± 6,0 vs. 185,5 ± 6,0 gMS/día, respectivamente; P=0,077), pero no se observaron diferencias en el incremento medio diario de peso de los animales entre tratamientos (23,3 y 19,1 g/día para los piensos P y C, respectivamente; P=0,125).

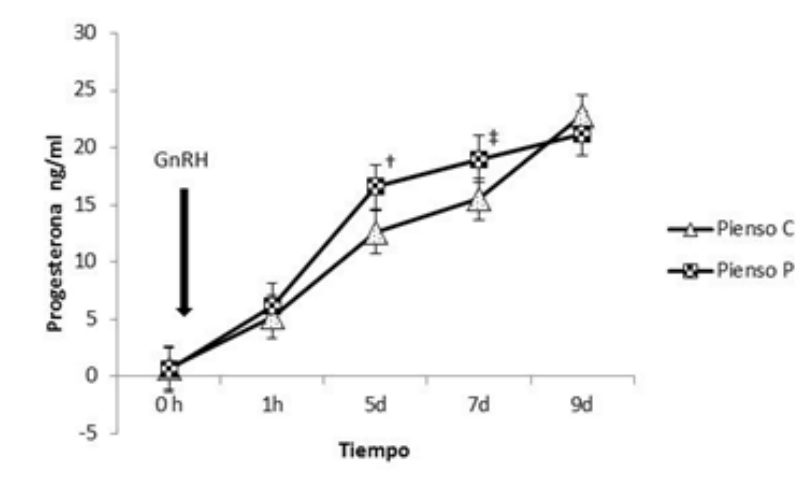
El 100% de las conejas alimentadas con el pienso suplementado con AG n-3 ovularon y el 90,0%, con el pienso control (P=0,33). La tasa de ovulación fue similar en los dos grupos (9,6±0,9 y 10,1±1,0 CL en el grupo P y C, respectivamente; P=0,686). La ausencia de diferencias significativas en estos parámetros se ha observado también en otras especies de ovulación espontánea alimentadas con este tipo de dietas (Childs et al., 2008).



**Figura 2. Evolución de la LH plasmática tras la inducción de ovulación con 20 µg de GnRH i.m. en conejas alimentadas con un pienso enriquecido con AG n-3 (P) o con pienso comercial (C).**

Las concentraciones plasmáticas de progesterona de las conejas de los dos grupos aumentaron significativamente ( $P < 0,05$ ) en respuesta a la GnRH una hora y 5 días después de la inducción de ovulación (0h), manteniéndose altas también los días 7 y 9 (Figura 3). Sin embargo, las conejas alimentadas con el pienso suplementado con AG n-3 tendieron a presentar concentraciones de progesterona superiores a las del grupo C en el día 5 y 7 post-inducción ( $P = 0,068$  y  $P = 0,082$ ; respectivamente). A pesar de que los AG n-3 se asocian con bajos niveles de colesterol, precursor de la progesterona, esta última no sólo no se ve afectada sino que incluso puede aumentar. Esto puede ser debido a que los AG n-3 inhiben la síntesis de  $PgF_2\alpha$  interviniendo en el metabolismo y síntesis de su precursor, el ácido araquidónico (Cheng et al., 2001, 2005). Otros trabajos en vacuno han demostrado *in vitro*

(Mattos et al., 2003) e *in vivo* (Mattos et al., 2004; Childs et al., 2008) que los AG n-3 reducen la acción luteolítica de la PgF<sub>2</sub>α en los primeros días de formación de los CL, favoreciendo que éstos produzcan más progesterona y disminuyan la mortalidad embrionaria. Hallazgos similares también se han descrito en cerdas (Smits et al., 2010, 2011).



**Figura 3. Evolución de la progesterona plasmática tras la inducción de ovulación con 20 µg de GnRH *i.m.* en conejas alimentadas con un pienso enriquecido con AG n-3 (P) o con pienso comercial (C). (Diferencias entre medias, †: P=0,068; ‡: P=0,082).**

De estos resultados se concluye que la suplementación con AG n-3 de las dietas de conejas nulíparas no afecta significativamente al consumo de pienso, ni a la respuesta hipofisaria, ni a su tasa de ovulación, pero mejora los niveles de progesterona en los primeros días tras la inducción de ovulación. Una mayor progesteronemia podría favorecer los mecanismos fisiológicos involucrados en la implantación embrionaria que en la coneja acontecen en torno al día 7 post-cubrición, evitando la consiguiente reabsorción embrionaria temprana.

**Agradecimientos:** Agradecemos la ayuda técnica y colaboración de la Ing. Agrícola Beatriz Velasco. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL-2011 23822.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cheng, Z., Robinson, R.S., Pushpakumara, P.G., Mansbridge, R.J., Wathes, D.C. 2001 J. Endocrinol. 171: 463-473.
- Cheng, Z.G, Abayasekara, D.R.E., Wathes, D.C. 2005. Mol. Cell Biol. Lipids 1736: 128-135.
- Childs, S., Carter, F., Lynch, C.O., Sreenan, J.M., Lonergan, P., Hennessy, A.A., Kenny, DA. 2008. Theriogenol. 70: 992-1003.
- Gulliver, C.E., Friend, M.A., B.J. King, Clayton, E.H. 2012. Animal Reprod. Sc. 131: 9-22.
- Mattos, R., Guzeloglu, A., Badinga, L., Staples, C.R., Thatcher, W.W. 2003. Biol. Reprod. 69: 780-787.
- Mattos, R., Staples, C.R., Arteché, A., Wiltbank, M.C., Díaz, F.J., Jenkins, T.C., Thatcher, W.W. 2004 J. Dairy Sc., 87: 921-932.
- Rebollar, P.G., Dal Bosco, A., Millán, P., Cardinali, R., Brecchia, G., Sylla, L., Lorenzo, P.L., Castellini C. 2011. Theriogenology 77 292–298.
- SAS Institute. SAS/STAT User's Guide (Release 8.2).
- SAS Institute Inc., 2001.
- Smits, M., Patterson, J. L., Webel, S.K., O'Donoghue, R.A., Foxcroft, G.R. 2010 Proc. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada-July 18-21, 2010. pp 58.
- Smits, R.J., Luxford, B.G., Mitchell, M., Nottle, M.B. 2011 Midwest ADSA and ASAS. Des Moines, Iowa. March 14-16, 2011. Abstr. 192.