

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**INSTITUTO DE CIENCIAS AGRICOLAS**



**TESIS**

**EXPRESIÓN Y CONCENTRACIÓN DE FACTORES DE CRECIMIENTO EN  
CERDOS DESDE EL NACIMIENTO HASTA 180 DÍAS DE EDAD**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**PRESENTA:**

**ERNESTO AVELAR LOZANO**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**Dr. ADRIANA MORALES TREJO**

**MEXICALI, BC. FEBRERO DE 2011**

"Expresión y concentración de factores de crecimiento en cerdos desde el nacimiento hasta 180 días de edad", tesis presentada por Ernesto Avelar Lozano, como requisito parcial para obtener el Grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias, ha sido aprobado y aceptado por el comité revisor:

---

Dra. Adriana Morales Trejo  
PRESIDENTE

---

Dr. Miguel Cervantes Ramírez  
SECRETARIO

---

Dr. Hugo Bernal Barragán  
SINODAL

---

Dr. Alfonso Benedicto Araiza Piña  
SINODAL

---

Dr. Daniel González Mendoza  
SINODAL

## AGRADECIMIENTOS

Expreso mi más sincero agradecimiento:

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

A la Universidad Autónoma de Baja California (UABC).

Al Instituto de Ciencias Agrícolas (ICA).

A mi directora de tesis. Dra. Adriana Morales Trejo, por su dirección y apoyo, por darme la oportunidad de formarme y descubrir la investigación a su lado, por compartir conmigo su sabiduría, por su inagotable paciencia y porque sin ella esta tesis no hubiera sido posible, pero sobre todo, por ser una gran persona y por su amistad.

A mis tutores y asesores. Dr. Miguel Cervantes, Dr. B. Alfonso Araiza, Dr. Hugo Bernal, Dr. Daniel Gonzales, PhD. Ruurd T. Zijlstra y PhD. Willem Sauer. Ustedes quienes me han ayudado e instruido con paciencia y sabiduría, además me brindaron sus conocimientos. Permítanme la oportunidad de satisfacerlos con la aplicación y divulgación de los mismos.

Al M.C. J. Salome Saucedo Quintero, por su amistad.

A mis compañeros y amigos... Gracias. Por que juntos recorrimos este camino y permitirme compartir con ustedes experiencias personales y científicas. Jorge, Miguel, David, Martin, Juan, Estela, Vianey, Karina, Héctor, Pedro, Fernando, Néstor.

Y a todas aquellas personas que contribuyeron a la formación y culminación de mis estudios.

## MUCHAS GRACIAS

Este trabajo de investigación fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Convocatoria Ciencia Básica, CONACYT 2006. Proyecto No. 0061299 a cargo de la Dra. Adriana Morales Trejo investigadora del Instituto de Ciencias Agrícolas, de la Universidad Autónoma de Baja California.

DEDICATORIA

**A MI FAMILIA**

## RESUMEN

El control hormonal del crecimiento animal está mediado por la actividad de la hormona del crecimiento (GH) y del factor de crecimiento similar a insulina (IGF-1); la síntesis y liberación de estos factores puede ser variable dependiendo de la edad de los animales. Se evaluó la concentración sérica de GH e IGF-1 y la expresión de GH y de la proteína transportadora de IGF-1 (IGFBP) en cerdos desde el nacimiento hasta los 180 días de edad. Se sacrificaron cuatro cerdos machos de cada una de las siguientes edades: 1, 30, 60, 120 y 180 días. Al sacrificio, se tomaron muestras de hipófisis, hígado y músculos largo dorsal y semitendinoso. En cada muestra de tejido se analizó la expresión de GH e IGFBP mediante la técnica de PCR cuantitativo. La concentración sérica de GH e IGF se analizó, mediante ensayos de ELISA en 4 cerdos de cada una de las edades siguientes: 1, 30, 60, 120 y 180 días. La expresión y concentración de factores de crecimiento se regresaron y correlacionaron con la edad y peso de los animales. La concentración de GH mostró incrementó de manera cuadrática ( $P=0.035$ ); el valor máximo se observó a los 30 días. La concentración de IGF-1 mostró un comportamiento lineal ( $P<0.001$ ) y cuadrático ( $P<0.001$ ); el valor más bajo fue al nacimiento y se incrementó hasta 17.7 ng/ml a 120 d. La concentración de IGF-1 también estuvo relacionada con el peso al nacimiento ( $P=0.035$ ) y con peso al sacrificio ( $P<0.001$ ) de los cerdos. La expresión de GH fue mayor al nacimiento y disminuyó con el aumento en la edad de los individuos ( $P=0.054$ ). Además, la concentración de IGF-1 afectó negativamente ( $P=0.003$ ) la expresión de GH. La expresión de IGFBP se redujo en forma lineal conforme incrementaba la edad de los cerdos ( $P=0.009$ ); igualmente la concentración de IGF-1 redujo la expresión de su transportador ( $P<0.001$ ). En conclusión, las concentraciones séricas de GH e IGF-1 y la expresión de GH e IGFBP se encuentran relacionadas entre sí y se modifican conforme a la edad de los cerdos.

## SUMMARY

The hormonal control of animal growth is mediated by growth hormone (GH) and the insulin-like growth factor 1 (IGF-1); the synthesis and release of these factors can vary depending on the age of the animals. Serum concentration of GH and IGF-1, and the expression of GH and IGF binding protein-1 (IGFBP) in pigs from birth to 180 days of age were evaluated. Four pigs at each of the following ages were sacrificed: 1, 30, 60, 120 and 180 days. Tissue samples from hypophysis, liver, and longissimus dorsi and semitendinosus muscles were collected at slaughter. Each tissue samples was analyzed for GH and IGFBP expression using the quantitative PCR technique. Serum concentration of GH and IGF was analyzed in 4 pigs at each of the following ages 1, 30, 60, 120 and 180 days by ELISA. Regression and multiple correlation analyses were performed between expression, serum concentration, age, and weight of the animals. Concentration of GH in serum increased in a quadratic ( $P = 0,035$ ) fashion; the maximum levels was observed at 30 d of age. The concentration of IGF-1 linearly ( $P < 0.001$ ) and quadratically ( $P < 0.001$ ) increased; the lowest value was observed at birth and increased up to 17.7 ng/ml at the age of 120 d. The concentration of IGF-1 was also related with birth weight ( $P = 0.035$ ) and slaughter weight ( $P < 0.001$ ) of the pigs. The expression of GH was higher at birth and decreased as age of the pigs ( $P = 0.054$ ). The concentration of IGF-1 negatively affected ( $P = 0.003$ ) the expression of GH. IGFBP expression decreased linearly ( $P = 0.009$ ) as the age of pigs increased; also, the concentration of IGF-1 reduced the expression of its transporter ( $P < 0.001$ ). In conclusion, serum levels of GH and IGF-1 and GH and IGFBP expression are interrelated and are modified according to the age of the pigs.

## INDICE

RESUMEN .....	iv
SUMMARY .....	v
INDICE.....	vi
LISTA DE ABREVIACIONES .....	viii
LISTA DE CUADROS .....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xi
INTRODUCCION.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
Regulación del crecimiento .....	2
Crecimiento animal .....	3
Crecimiento muscular .....	4
Velocidad de crecimiento.....	5
Regulación del crecimiento .....	6
Proteína transportadora de la hormona del crecimiento (GHBP) .....	9
Vía JAK/STAT.....	11
Vía de MAPK (Mitogen Activated Protein Kinases) .....	13
Vía PI3K (Phosphoinositidol-3 kinase).....	13
Vía del sustrato del receptor de insulina (IRS).....	14
Factor de crecimiento similar a insulina tipo 1, IGF-1.....	17
Proteínas transportadoras de IGF (IGFBP) .....	19
Control de secreción y mecanismo de acción de GH e IGF-1 .....	24
OBJETIVOS .....	26
Objetivo general: .....	26
Objetivos específicos: .....	26
HIPÓTESIS.....	27
METODOLOGÍA .....	28
Área experimental .....	28
1. Sacrificios y toma de muestras .....	28
2. Purificación de RNA .....	29
3. Transcripción Reversa .....	29
4. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	30

5. Reacciones de PCR cuantitativo .....	31
<b>Concentración sérica de factores de crecimiento .....</b>	<b>32</b>
1. Animales y toma de muestras .....	32
<b>Análisis estadístico.....</b>	<b>33</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
<b>Concentración sérica de GH e IGF-1 respecto a la edad y peso de los cerdos .....</b>	<b>34</b>
<b>Relación entre concentración sérica de GH e IGF-1 y expresión de GH e IGFBP .....</b>	<b>36</b>
<b>Efecto de la edad y peso de los cerdos en la expresión relativa de GH e IGFBP .....</b>	<b>37</b>
<b>Correlaciones entre las variables edad, peso al nacimiento, peso al sacrificio y concentración sérica de GH e IGF-1 y expresión de GH e IGFBP .....</b>	<b>39</b>
<b>DISCUSION .....</b>	<b>41</b>
<b>Efecto de la edad y peso de los cerdos en la expresión relativa de GH e IGFBP .....</b>	<b>48</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>50</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>51</b>
<b>APÉNDICE.....</b>	<b>58</b>

## LISTA DE ABREVIACIONES

ACTH	Hormona adrenocorticotropica
ADN	Acido desoxirribonucleico
AKT	Activación de la proteína quinasa B
ALS	Subunidad del acidó lábil
BMK1	Quinasa mitogénicas grandes (Big Mitogen Kinase)
CNTRL	Grupo testigo
DX	Dexametasona
DXGH	Dexametasona con hormona de crecimiento
EGF	Factor de crecimiento epitelial
ERK1/2	Quinasa de regulación extracelular
FOXO	Fork head box protein O1
Grb-2	Receptor de la proteína adaptadora de crecimiento
GAS	Secuencias activadas por interferón Gamma
GH	Hormona del crecimiento
GHBP	Proteína transportadora de la hormona de crecimiento
GHR	Receptor de la hormona del crecimiento
GHRH	Hormona liberadora de hormona de crecimiento
IGF-1	Factor de crecimiento similar a insulina tipo I
IGF-2	Factor de crecimiento similar a insulina tipo 2
IGFs	Factores de crecimiento similar a insulina (insulin growth factors)
IGFBP	Proteína transportadora de factor de crecimiento similar a insulina
IGFR	Receptor del factor de crecimiento similar a insulina tipo 1
IRS	Sustrato del receptor de insulina
IP3K	Fosftidil inositol 3 quinasa
ISRE	Secuencias reguladoras especificas
JAK2	Janus Activating quinasa 2
JNK3	Jun N terminal Quinasa
KD	Kilo Dalton
MAPK	Proteínas quinasas activadas por mitógenos
MEK	Quinasas mitogénicas
mRNA	Mensajeros de RNA
mTOR	Blanco de la rapamicina en mamíferos
N	Nitrógeno
Na	Sodio
NaCl	Cloruro de Sodio
NPCs	Complejos de poros nucleares
P	Fosforo
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDK	Proteínas quinasas B o AKT
PH	Homologa pleckstrin
PIAS	Proteínas inhibidoras de los STAT activados
PIP3	Fosfatidil inositol, 3, 4, 5-trifosfato
PKC	Proteína quinasa C
PTEN	Proteína fosfatasa y homóloga tesina

Ran GTP	Proteína activadora de GTPasa y proteína de unión Ran
RNAm	Mensajeros del Acido Ribonucleico
RTK	Receptores tirosina quinasa
SAPK	Proteínas quinasas activadas por el estrés
SOCS	Supresor de la señalización de citoquinas
SS	Somatostatina
STAT	Transductor de la señal activadores de la transcripción
RNA	Acido Ribonucleico

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Oligonucleótidos empleados para amplificar los RNA mensajeros de los factores de crecimiento y RNA ribosomal porcinos.....	31
Cuadro 2. Concentración sérica de GH e IGF-1 [ng/ml] en cerdos de 1 a 180 d de edad.....	34
Cuadro 3. Regresión lineal y cuadrática entre la concentración de GH e IGF-1 y expresión de GH e IGFBP con edad, peso al nacimiento y peso al sacrificio .....	37
Cuadro 4. Expresión relativa de GH e IGFBP [(Moléculas de RNAm/ Moléculas de 18s)*1000] en cerdos de 1 a 180 d de edad .....	38
Cuadro 5. Coeficientes de correlaciones entre edad, peso al nacimiento, peso al sacrificio, concentración de GH e IGF-1 en suero, expresión de GH e IGFBP.....	40

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cascada de señalización de Hormona del crecimiento.....	11
Figura 2. Visión general de cascada de señalización JAK / STAT.....	12
Figura 3. Eje de acción de las somatomedinas.....	16
Figura 4. Estructura primaria del IGF-1.....	18
Figura 5. Estructura simplificada del IGF1R e Insulina.....	22
Figura 6. Vía de señalización de IGF-1.....	23
Figura 7. Transducción de señales a partir de IGF-IR.....	24
Figura 8. Concentración sérica de GH e IGF-1 en cerdos de 1 a 180 d de edad..	35

## APÉNDICE

Figura 9. Relación entre concentración sérica de GH y edad de los cerdos.....	58
Figura 10. Relación entre la concentración sérica de IGF-1 y edad de los cerdos.....	58
Figura 11. Relación entre la concentración sérica de IGF-1 y peso al momento del sacrificio (PSac).....	59
Figura 12. Relación entre la concentración sérica de GH y la concentración sérica de IGF-1. ....	59
Figura 13. Relación entre la concentración sérica de GH y su expresión en hipófisis.....	60
Figura 14. Relación entre la concentración sérica de GH y su expresión en hígado.....	60
Figura 15. Relación entre la concentración sérica de IGF-1 y la expresión de IGBP en hígado.....	61
Figura 16. Expresión relativa de GH en cerdos de 1 a 180 d de edad.....	61
Figura 17. Relación entre la edad de los cerdos y la expresión de GH en hipófisis....	61
Figura 18. Relación entre la expresión de GH y el peso de los cerdos al momento del sacrificio (PSac).....	62

Figura 19. Relación entre la edad de los cerdos y la de IGFBP en hígado.....62

Figura 20. Expresión relativa de IGFBP en cerdos de 1 a 180 d de edad.....62

## INTRODUCCION

El crecimiento animal está determinado por la edad, genética, factores alimenticios, ambientales y hormonales. La regulación hormonal, está controlada principalmente por la hormona de crecimiento (GH) y el factor de crecimiento similar a insulina tipo 1 (IGF-1), con sus proteínas transportadoras y receptores a nivel celular (GHBP, GHR, IGFBP, IGFR-1). El control de la secreción y mecanismo de acción de GH e IGF-1, ocurre mediante la cascada de señalización que inicia en el hipotálamo. El hipotálamo secreta a la hormona liberadora de GH (GHRH), a la hipófisis para liberar GH al torrente sanguíneo. Una vez en sangre, GH viaja a distintos tejidos y promueve la síntesis y secreción de IGF-1. Tanto GH como IGF-1 se unen a sus receptores en sus tejidos blanco, mismos que de esta manera son estimulados para continuar o mantener su crecimiento.

Hasta el momento, no se han determinado claramente los patrones de síntesis y secreción de los denominados factores de crecimiento en las especie animales de importancia zootécnica. Su conocimiento, específicamente en cerdos, brindará bases para formular estrategias que contribuyan a incrementar su velocidad de crecimiento y eficiencia alimenticia. El propósito de este documento es presentar los resultados del efecto de la concentración de GH e IGF-1 en suero y la expresión GH e IGFBP en cerdos desde el nacimiento hasta los 180 d, y su relación con la edad y peso de estos.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### **Regulación del crecimiento**

La productividad de los cerdos está determinada por la edad, genética, nutrición y factores hormonales; todos ellos se relacionan directamente con el crecimiento animal, mismo que se cuantifica con la ganancia de peso diaria y la eficiencia alimenticia. Diversos investigadores entre estos Brameld et al. (1999) mencionan que los factores alimenticios y hormonales son los principales determinantes del crecimiento animal. Dentro de la regulación hormonal encontramos los factores de crecimiento, dos de ellos son: Hormona de Crecimiento (GH) y el Factor de crecimiento similar a insulina (IGF), además de las proteínas asociadas a este último, la proteína transportadora de IGF (IGFBP) y su receptor tipo 1 de IGF (IGFR-1).

El control de la secreción y mecanismo de acción de IGF y GH, ocurre con una cascada de señalización que inicia en el hipotálamo y llega a sus tejidos blancos a través del torrente sanguíneo. En el hipotálamo se secreta la hormona liberadora de GH (GHRH) que llega a la hipófisis para estimular la secreción de GH al torrente sanguíneo. Una vez en sangre, la GH viaja al hígado y al resto de sus tejidos blanco. En estos tejidos, la GH, además del crecimiento y diferenciación celular, promueve la síntesis y liberación de IGF. La IGF es secretada y viaja hasta sus tejidos blanco en donde también favorece el crecimiento. Para que todo este proceso se lleve a cabo el IGF requiere unirse a su proteína transportadora (IGFBP) y su receptor (IGFR). Finalmente, cuando

existen en sangre niveles elevados de IGF, el hipotálamo secreta Somatostatina, que inhibe la liberación de GH en la hipófisis (Scarfó, 2004; Akers, 2006).

### **Crecimiento animal**

El crecimiento es un fenómeno biológico complejo a través del cual los seres vivos incrementan su masa corporal, maduran morfológicamente y adquieren progresivamente su plena capacidad funcional (Hernández, 1999). Mientras el animal crece, la tasa de crecimiento de cada una de sus partes partes es distinta, si bien los diferentes sistemas se desarrollan en forma paralela, la velocidad a la que lo hacen es distinta. Existe un orden estricto para el desarrollo de los órganos y sistemas en animales: el primero en terminar su desarrollo es el sistema nervioso, seguido del esqueleto, luego los músculos y por último se realiza la acumulación de tejido adiposo (Pereda, 2003).

El crecimiento de los animales da inicio en la etapa prenatal con la fecundación del óvulo y concluye cuando el organismo alcanza el peso adulto y la conformación propia de la especie. El aumento de peso se produce por tres causas: hiperplasia (multiplicación celular); hipertrofia (aumento del tamaño de las células) y metaplasia (transformación de las células) (Gómez et al., 2007). Cattani (2007) menciona que el crecimiento prenatal sigue una curva exponencial, incrementando lentamente durante las primeras 20 semanas, para luego aumentar en forma sostenida hasta el final de la gestación. Al término de la gestación el individuo alcanza aproximadamente el 5,7% de su peso, el 30% de la talla y el 63% del perímetro cefálico de un adulto. El crecimiento y desarrollo físico postnatal presenta características que son comunes a todos los

individuos, y que, analizadas en conjunto con el patrón genético familiar, nos permiten determinar si el crecimiento es normal (Cattani, 2007).

En animales de granja Pereda (2003), describe el crecimiento, como el aumento de talla y peso vivo así como los cambios de forma y composición corporal que los acompaña; este crecimiento tiene una gran importancia económica. Por consiguiente, el valor de un animal destinado a la producción de carne está estrechamente relacionado con la cantidad de músculo que contiene su canal, al igual que con la cantidad y localización de los depósitos adiposos.

Si bien es un proceso continuo, en el crecimiento pueden diferenciarse las siguientes cuatro etapas: primera, crecimiento libre del oocito, acontece desde la fecundación hasta la implantación del blastocito en el útero. Su duración difiere entre especies. Segunda etapa, crecimiento embrionario, corresponde al periodo de diferenciación de los principales sistemas y órganos. Tercer etapa, crecimiento fetal, está marcado por la finalización de las modificaciones de forma, la consecución de la diferenciación de los principales órganos y la aparición de la piel; esta etapa fetal es un periodo de multiplicación y crecimiento celular extremadamente intenso. Cuarta etapa, crecimiento postnatal, en la primera fase, el crecimiento depende exclusivamente de factores genéticos; siendo éstos los que más influyen en las dos siguientes, si bien toman importancia las relaciones feto-madre. Los factores maternos son de orden nutricional y hormonal.

### **Crecimiento muscular**

En los animales el crecimiento muscular después del nacimiento ocurre por hipertrofia, es decir por aumento del tamaño de sus fibras musculares. Este crecimiento muscular ocurre bajo un patrón genético predeterminado y está influenciado por las características raciales de cada individuo (Brito y Jiménez, 2004).

### **Crecimiento del tejido graso**

El tejido graso se desarrolla por último en el animal. Desde el punto de vista comercial la grasa subcutánea, la grasa intermuscular y la grasa intramuscular son los más importantes. De estos tres, la grasa intermuscular es la que se deposita primero (crecimiento rápido, muy temprano en la vida postnatal), seguida por la grasa subcutánea y finalmente por la grasa intramuscular. (Brito y Jiménez, 2004).

### **Velocidad de crecimiento**

La velocidad de crecimiento es definida como el incremento de talla en un determinado período y tiene variaciones significativas según edad, sexo y estación del año. En trabajos efectuados en humanos Cattani (2007), indica que según la edad se pueden distinguir tres períodos de crecimiento: el primer período de crecimiento rápido, que comprende los cuatro primeros años de vida, caracterizado por una disminución progresiva de la velocidad desde 25 cm el primer año a 12 cm el segundo, 10 cm el tercero y 8 cm el cuarto año. Un segundo período de crecimiento más lento y sostenido, desde los cuatro años hasta el inicio puberal, con una velocidad de crecimiento que varía entre 4,5 - 7,0 cm/año. Y un nuevo período rápido durante el desarrollo puberal, en que la velocidad de crecimiento máxima puede llegar hasta 12 cm/año en el varón y 9

cm/año en la mujer. Así mismo las diferencias relacionadas con el sexo, son evidentes en el momento de nacer: los varones tienen talla y peso mayores que las niñas. Sin embargo, esta diferencia disminuye después progresivamente y casi no se aprecia al año de edad. Las variaciones más notables en cuanto a sexo son las que ocurren durante la pubertad, y tienen relación tanto con el momento del inicio del incremento en talla como con su magnitud y duración.

También las diferencias estacionales influyen siendo que el máximo crecimiento ocurre durante la primavera y el verano, alcanzando en estos períodos velocidades hasta 2.5 veces mayores que en otoño e invierno. En evaluaciones realizadas con ganado de carne para evaluar la productividad Gómez et al. (2007), mencionan que si el proceso de crecimiento no tiene ningún factor inhibitor, normalmente el organismo sigue un mecanismo de multiplicación constante de las células, y una vez efectuada la multiplicación suficiente se produce la hipertrofia. Sin embargo, es posible que aparezcan factores inhibidores que detengan el proceso de hiperplasia y así el crecimiento se anula.

### **Regulación del crecimiento**

Como se mencionó, el crecimiento es un proceso multifactorial, que depende de la interacción de factores genéticos, nutricionales, emocionales, ambientales y neuroendocrinos.

Las hormonas son ejecutantes del programa genético y juegan un papel fundamental en el crecimiento animal (Cattani, 2007). El papel de las distintas hormonas sobre el crecimiento es diferente según se trate de crecimiento pre- o postnatal. En el crecimiento prenatal influyen insulina, factor de crecimiento

similar a insulina tipo II, lactógeno placentario y factores de crecimiento tisular (Gluckman y Harding, 1994). El crecimiento postnatal es regulado principalmente por hormona de crecimiento (GH), factor de crecimiento similar a insulina tipo I (IGF-I) (Le Roith et al., 2001) y hormonas tiroideas, interviniendo además la hormona paratiroidea y la vitamina D en el desarrollo esquelético, además de los esteroides sexuales (Cattani, 2007).

En cuanto a la regulación exógena del crecimiento animal, se considera a la alimentación como el principal factor a considerar; aunque influyen el manejo, el estado de salud, aspectos climatológicos y del animal (Kiviste et al., 2002). En consecuencia, la suplementación con alimentos ricos en proteínas de buena calidad se asocia con una mejora en la supervivencia de los lechones, crecimiento óptimo y, por tanto, elevada tasa de síntesis de proteína muscular (Burrin et al., 1997). Además, Cattani, (2007), menciona que factores ambientales como físicos y psicosociales, también influyen en la tasa de crecimiento de los individuos.

Finalmente, los cuidados que se presten a los factores que afectan el crecimiento de los animales, contribuirán a mejorar el comportamiento productivo y calidad de vida de los animales. En este contexto, debido a su importancia en la modulación del crecimiento se prestará atención a la GH y al IGF.

### **Hormona del crecimiento (GH)**

La hormona de crecimiento (GH) es un polipéptido secretado por la glándula pituitaria anterior encargada de regular el crecimiento, (Li et al. 2006) el desarrollo y diversas actividades metabólicas (Sterle et al., 1995). Estos efectos

resultan de la unión de la GH con su receptor (GHR) que un miembro de los receptores de citocinas (Waters et al., 2006).

En cuanto a su estructura molecular, GH es una proteína de 191 aminoácidos y un peso molecular de 22.124 Dalton, aunque presenta 2 formas moleculares de 22kD y 20KD. La estructura de GH consta de cuatro hélices necesarias para la interacción funcional con su receptor.

El control de la secreción de GH, que es bastante complejo, se lleva a cabo con la participación de dos péptidos hipotalámicos, la hormona liberadora de GH (GHRH), que tiene un efecto estimulador y la Somatostatina (SS) que la inhibe (Ramírez, 2007). No obstante, diversos neuropéptidos y neurotransmisores, hormonas y señales metabólicas periféricas interfieren en la dinámica de secreción de GH modulando la liberación hipotalámica de GHRH o de Somatostatina, o actuando directamente a nivel hipofisario. Además, existe un control a partir de los denominados factores de crecimiento similares a insulina (IGFs) siendo IGF-I el mayormente asociado con esta regulación (Anderson et al., 2004; Ramírez, 2007).

El patrón de secreción de GH es pulsátil, los intervalos entre los pulsos varían según las especies y son aproximadamente de 2h. Este patrón es sexualmente di mórfico, en el que los machos exhiben pulsos mayores (Umaña et al., 2003), y es influenciado por los esteroides sexuales. Los andrógenos regulan la amplitud del pulso, mientras que los estrógenos regulan la secreción basal (Recabarren et al., 1998). En humanos un pico en la liberación de GH se

asocia al sueño profundo (estados III y IV) y el 70% de ésta ocurre durante la noche (Argente et al., 1995).

### **Proteína transportadora de la hormona del crecimiento (GHBP)**

GH es secretada al torrente sanguíneo y más del 50% de ésta viaja unida a su proteína transportadora específica (GHBP) (Kratzsch et al., 1997). Se conocen varias proteínas con función de GHBPs, éstas son solubles y corresponden al dominio extracelular del receptor de GH (GHR) en los tejidos, por lo que además de transportarla, regulan su actividad (Cattani, 2007). Esas proteínas transportadoras se han conservado a través de la evolución en vertebrados y se producen en diferentes tejidos; como el tejido adiposo, el músculo, los riñones y el hígado, siendo éste último el más importante para la síntesis de GHBP (Kratzsch et al., 1997).

Como la GH tiene una vida media en circulación de 15 a 20 minutos, las GHBPs prolongan su vida media presumiblemente al impedir su filtración glomerular y modular la unión a su receptor específico (Escobar, 2005). La síntesis y liberación de GHBPs depende del estado de desarrollo y nutricional de cada individuo (Mericq y Cassorla, 1997).

### **Receptor de la hormona del crecimiento (GHR)**

El receptor de GH es una proteína transmembrana que se une a la hormona con alta afinidad y, por tanto, es responsable de la respuesta celular a GH (Escobar, 2005). El GHR pertenece a la superfamilia de receptores de citocinas que comprende receptores con un único dominio transmembrana (Talamantes y Ortiz, 2002). Este receptor ha sido detectado en una gran variedad de tejidos, incluyendo hígado, en donde es más abundante, pero

además en músculo estriado, riñón, pulmón, glándula mamaria, placenta, tejido adiposo, linfocitos, hueso, cartílago, células primordiales y células del sistema nervioso central (Parkinson y Trainer, 1999). Los receptores de GH se asocian por su porción intracitoplasmática, conocida como Box-1, a una proteína con actividad tirosina quinasa, denominada Janus Kinase (JAK), así inicia la transducción de la señal intracelular producida en respuesta a GH (Rosenfeld y Hwa, 2009).

### **Cascada de señalización de GH**

El primer y crucial paso en la transducción de la señal de la GH consiste en la dimerización del receptor inducida por la unión de la hormona, por los sitios 1 y 2 específicos, a dos moléculas del GHR (Figura 1). Luego de la misma ocurre una interacción entre las proteínas JAK-2, acopladas a la región Box-1 de cada una de las moléculas del receptor (Umaña et al., 2003). Esta proximidad entre las JAKs lleva a la fosforilación mutua de residuos de tirosina localizados en el dominio quinasa de las mismas. Una vez fosforilada JAK 2, el GHR y la JAK-2 pueden activar o reprimir la actividad de otras proteínas como las proteínas STATs (signal transducer and activators of transcription), las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), los dos sustratos del receptor insulínico (IRS-1 y 2), la fosfatidil inositol-3 quinasa (IP3K), y la proteína quinasa C (PKC); todas importantes para los efectos metabólicos y proliferativos de la GH (Umaña et al., 2003).

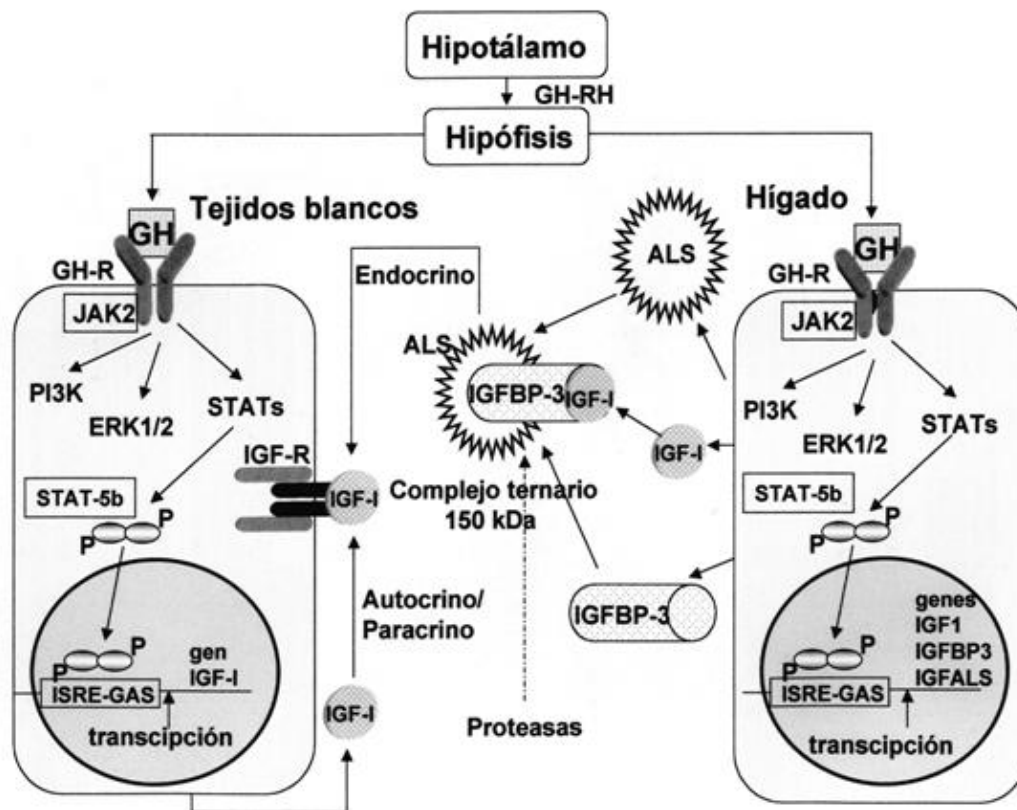


Figura 1. Cascada de señalización de hormona del crecimiento. La activación del GH-R, induce la fosforilación de JAK2 (Janus tirosina quinasa) y activación de las proteína fosfatidil-inositol 3-quinasa (PI3K), quinasa de regulación extracelular (ERK1/2) y traductores de señal y reguladores de transcripción (STATs). STAT-5b se dimeriza, se transloca al núcleo y se une a los promotores de genes específicos como IGF-1, IGFBP-3 y ALS, promoviendo su transcripción. Fuente: (Domené et al., 2005).

### Vía JAK/STAT

Varias proteínas STATs son activadas luego de la dimerización del GHR, principalmente STAT 5a y 5b (Umaña et al., 2003). La vía de señalización JAK/STAT se conserva en todos los vertebrados y también se puede encontrar en algunos metazoos, ésta desempeña un papel central en la regulación de la proliferación, diferenciación, migración celular y apoptosis (Schindler et al., 2007). En los mamíferos se han identificado cuatro quinasa JAK (JAK1, JAK2, JAK3 y Tyk2) y siete STAT (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b y

STAT6) (Rawlings et al., 2004). De acuerdo con Pfeifer et al. (2008) la vía JAK/STAT (Figura 2) se activa a través de receptores de superficie celular. La unión del ligando al dominio extracelular del receptor conduce a cambios en la conformación del dominio intracelular, esto provoca la transfosforilación de JAK. A continuación JAK fosforila uno de los residuos de serina de las proteínas STAT provocando su dimerización y activación, preparándolos para su translocación al núcleo a través de los complejos de poros nucleares (NPCs), mediante un mecanismo regulado por importinas y por las proteínas RanGTP y RanGTPasa (Geydan et al., 2010). En el núcleo, los dímeros de STAT, junto con otros cofactores, se unen al ADN y activan la transcripción de genes específicos entre los que se encuentran IGF-1, IGFBP, MAPK, AKT, STAT, FOXO1, IRS, EGF, NOS3 (Pfeifer et al., 2008).

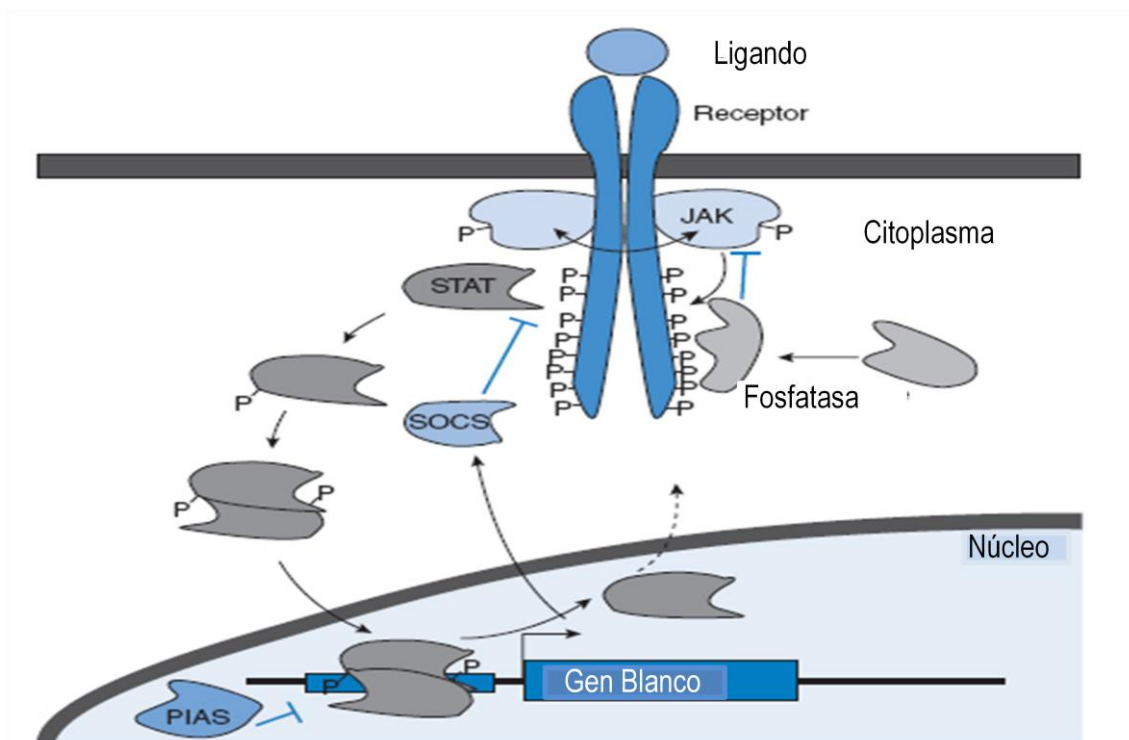


Figura 2. Visión general de cascada de señalización JAK / STAT. Los pasos de la vía JAK / STAT se muestran, incluyendo la retroalimentación negativa a través de fosfatasas, proteínas SOCS y PIAS. (Pfeifer et al., 2008).

## **Vía de MAPK (Mitogen Activated Protein Kinases)**

Las proteínas MAPK son quinasas mitogénicas que participan en señalización para el inicio de respuestas celulares ante estímulos mitogénicos y apoptóticos; además modulan la función de ciertas proteínas y la expresión de genes específicos en el núcleo (Juo et al., 1997). La actividad de MAPK depende de la señal activada por receptores de crecimiento, hormonales, citocinas y proteínas G, además del estrés. Las proteínas de esta familia que se dividen en: a) quinasas que responden a señales extracelulares (ERK1 y ERK2, Extracellular Regulated Kinase); b) quinasas que fosforilan el extremo N-terminal de Jun (JNK1, JNK2 y JNK3, Jun Nterminal Kinase); c) quinasas que responden a estrés p38, también conocidas como SAPK (Stress Activated Protein Kinase); d) ERK5 o BMK1 (Big Mitogen Kinase), (Fukuhara et al., 2000; Ji et al., 2009). Cada miembro de la familia MAPK es activado por una cascada de señalización que se compone de al menos tres quinasas de serina/treonina (MAPKKK, MAPKK y MAPK) que se fosforilan y activan secuencialmente, amplificando la señal (Juo et al., 1997).

## **Vía PI3K (Phosphoinositidol-3 kinase)**

La ruta PI3K/Akt activada se inicia a través del reclutamiento de PI3K a la membrana plasmática a través de la unión de su dominio SH2 a proteínas tirosina fosforiladas (Paez y Sellers, 2002). PI3K es un heterodímero que consiste en una subunidad reguladora, p85; y una subunidad catalítica, pi 10, encargada de transferir el grupo fosfato y del ATP al fosfatidil inositol, 4,5-bifosfato (PIP2), generando el fosfatidil inositol, 3, 4, 5-trifosfato (PIP3) y ADP. La proteína

PTEN (phosphatase and tensin homolog) desfosforila PIP3, regulando la ruta de señalización de PI3K. PIP3 sirve como ligando para reclutar a la proteína quinasa serina/treonina Akt (c-Akt, también llamada proteína-quinasa B, PKB) hacia a la membrana plasmática a través de la interacción directa con el dominio PH (homologa pleckstrin) de Akt, activando a esta Akt (Paez y Sellers, 2002). La activación de Akt controla la supervivencia celular a través de la fosforilación de las dianas que dependen de ella, con el resultado neto del incremento en la supervivencia celular, proliferación, crecimiento y metabolismo. (Guinea et al., 2005).

#### **Vía del sustrato del receptor de insulina (IRS)**

El IRS (Insulin Receptor Substrate) activa dos importantes vías de señalización celular, PI3K/Akt y Ras/MAPK. Estas cascadas regulan diversos procesos celulares, como la expresión de genes, la síntesis de proteínas, y el tráfico en vesículas, que se traducen en la regulación de la glucosa, lípidos y metabolismo de las proteínas, el crecimiento y la diferenciación celular (Chiu y Cline, 2010).

#### **Acciones Biológicas de la hormona del crecimiento**

La hormona de crecimiento, GH, ejerce múltiples acciones metabólicas y anabólicas a través de la unión a receptores específicos de GH que se encuentran en cada célula del organismo (Holt, 2004). A nivel celular, GH inicia su acción uniéndose a un receptor específico en la membrana de la célula, el receptor del GH (GHR) (Kelly, et al., 1991). GH es el regulador principal postnatal del crecimiento, y sus efectos se miden principalmente por el factor de

crecimiento similar a insulina I (insulin like growth factor I, IGF-1), que se sintetiza en el hígado (Le Roith et al., 2001) bajo control de la GH y se secreta a circulación sanguínea (Brameld et al., 1999).

Existen diversos factores que afectan la producción y actividad adecuada de GH. Uno de ellos es su insuficiencia de GH en la infancia, misma que puede ser originada por estímulo o anomalías funcionales que impiden la acción del GHRH endógeno sobre la síntesis de GH; o bien por deficiencia de hormonas tiroideas, nivel de IGFs circulantes, glucocorticoides, esteroides gonadales (Shalet et al., 1998; Rodríguez y Rodríguez, 1999). Otro factor importante en la regulación de la síntesis y secreción de GH es el estado nutricional del individuo (Brameld et al., 1999).

Scarfó (2004) resume las acciones de GH en los siguientes efectos: regulación del crecimiento de los huesos, disminución de la síntesis de glucógeno, aumento de la síntesis de proteína, aumento de la utilización de los ácidos grasos, disminución de la lipogénesis, aumento en la retención de N, Na y P; y aumento en la liberación de IGF-I. Ésta última hormona regulada por GH, también estimula la transcripción e induce la multiplicación celular.

### **Factor de crecimiento similar a insulina (IGF)**

En la Figura 3 se muestra un esquema sobre el mecanismo de acción de las somatomedinas presentada por Akers (2006). En esta figura, la GH, secretada por la pituitaria, estimula la secreción del factor de crecimiento similar a insulina tipo 1 (IGF-1) en hígado y en otros tejidos diana. El efecto metabólico de ambos factores es promover el crecimiento, proliferación y supervivencia del organismo. Además, se presenta la participación de otras



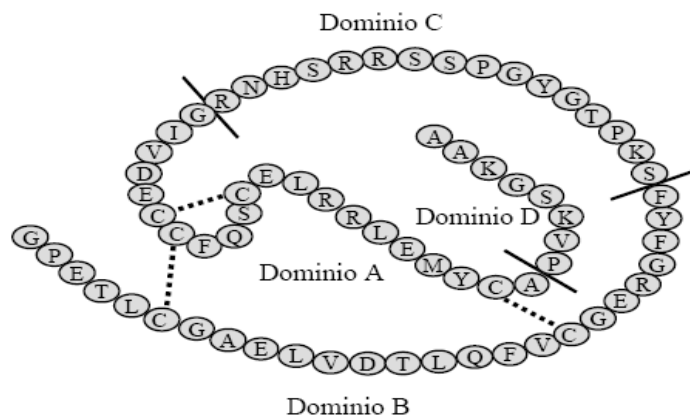
restante que circula libre tiene una vida media corta de apenas unos minutos (Cattani, 2007).

El estado nutricional del individuo es importante para la correcta síntesis y secreción de IGF. La desnutrición, principalmente de tipo proteica, inhibe la secreción de IGF, aún cuando los niveles plasmáticos de GH estén elevados. Además existen otros factores que modifican los niveles normales de IGF, tales como el exceso de glucocorticoides, la presencia de enfermedades sistémicas, e insuficiencia hepática, así como el nivel de insulina en sangre (Cattani, 2007).

### **Factor de crecimiento similar a insulina tipo 1, IGF-1**

IGF-1 es un factor proteico de 7.5 KDa producido principalmente en hígado y otros tejidos bajo el estímulo de GH, especialmente durante el desarrollo postnatal (Daughaday y Rotwein, 1989). Este factor es un polipéptido de cadena única de 70 aminoácidos con tres puentes disulfuro; además posee del 60-70% de homología con los dominios A y B de insulina en su secuencia de amino ácidos (Figura 4). El IGF-1 se sintetiza en forma de prohormona, y posee cuatro dominios: A, B, C y D (Arias et al., 1997).

La concentración de IGF-1 depende, a su vez, de la concentración de GH, y que varía con la edad y el estadio de desarrollo (Rodríguez y Rodríguez, 1999). Algunos autores indican que no es clara la correlación entre los niveles de IGF-1 y GH (Rodríguez y Rodríguez, 1999; Scarfo, 2004). En un trabajo en humanos con deficiencia de GH, el 18 % de los pacientes mostraron niveles normales de IGF-1, mientras que el 32 % de los sujetos que presentaron crecimiento normal mostraron niveles bajos de IGF-1 (Scarfo, 2004).



**Figura 4** - Estructura primaria del IGF-1. Las líneas continuas indican los dominios y las líneas punteadas muestran los puentes disulfuro (Arias et al., 1997).

Además de hígado, el IGF-1 se produce en otros tejidos como el músculo, corazón, riñón, bazo y tejido graso (Peterson et al., 2005); y su aporte de esos tejidos es tan importante como el de hígado (Butler y Le Roith, 2001). En ratones knock out para el gen de IGF-1 en hígado, no se presentaron diferencias en su peso corporal durante un período de seis semanas cuando se compararon con ratones normales; tampoco se encontró diferencia en la concentración plasmática de IGF-1 entre ambos grupos (Butler y Le Roith, 2001).

Scarfó (2004), menciona que la IGF-1 es la principal proteína implicada en la respuesta de las células a la acción de GH, y señala que IGF-1 promueve la diferenciación y proliferación celular; la miogénesis en músculo esquelético; la actividad autócrina/parácrina en el músculo esquelético; facilita el transporte de aminoácidos y glucosa; y la síntesis de glucógeno, además que provoca un balance positivo de nitrógeno.

Además de IGF-1, el IGF-2 participa en el desarrollo y diferenciación de músculo esquelético, aunque IGF-2 es especialmente importante durante la etapa fetal (Gerrard et al., 1998). En cerdos se observó la expresión de IGF-1 desde los 30 d de gestación hasta los seis meses de edad; y se encontró que IGF-1 presenta su expresión más alta al nacimiento y disminuye conforme los individuos se acercan a la edad adulta; mientras tanto, IGF-2 presenta su máxima expresión alrededor del día 59 de gestación, momento en el cual comienza a disminuir su expresión hasta el nacimiento y la edad adulta (Gerrard et al., 1998).

Durante la etapa fetal los cambios en los niveles de IGF-1 e IGF-2 parecen ser importantes para el desarrollo de las fibras musculares. La concentración de IGFs en cordón umbilical se correlaciona con el peso al nacimiento, con la edad del feto y con el grado de diferenciación y desarrollo muscular (Gerrard et al., 1998). Otro factor que interviene en el desarrollo muscular en el feto es la disponibilidad de nutrientes que se asocia con una disminución en la secreción de IGF-1 y por tanto con un retardo en su crecimiento.

### **Proteínas transportadoras de IGF (IGFBP)**

Los IGF circulan unidos a sus proteínas transportadoras conocidas como IGFBP (IGF binding protein); éstas proteínas de 22-31 kDa se localizan en circulación sanguínea y en fluidos extravasculares (Rodgers et al., 2008). Las IGFBP se sintetizan en el hígado y forman una familia de 6 proteínas transportadoras, IGFBP 1-6 (Hwa, et al. 1999; Subramani et al., 2007). La proteína transportadora de IGF más importante es la IGFBP-3 (Firth and Baxter

2002), más del 95% del IGF del organismo se encuentra unida a esta proteína (Cattani, 2007). Además, para su circulación el complejo IGF-1 acoplado a IGFBP-3 se une además a la denominada subunidad ácido lábil (ALS) formando una molécula de 88 kDa (Lewitt et al., 1994).

La IGFBP además de transportarlo también aumenta la vida media de IGF. En forma libre, la vida media del IGF-1 es de 10 minutos, se incrementa a 30 minutos en los complejos binarios y hasta a 12-15 horas en los complejos ternarios (IGF-1-IGFBP-3-ALS). Los complejos ternarios no atraviesan los capilares, y es así como estabilizan al IGF-1 extendiendo su vida media. Con esto contribuyen a la formación de un reservorio circulante de IGF-1 (Domenne' 2005). La síntesis de IGFBP-1 es regulada por la insulina e IGF-1 (Laron et al., 1992), mientras que la síntesis de IGFBP-3 se regula principalmente por GH e IGF-1 (Kenety et al., 1993).

### **Receptor de IGF (IGFR)**

El receptor de IGF-1 (IGF-1R o IGFR) es una proteína transmembrana que pertenece a clase II de los receptores de la familia de receptores tirosina cinasa (RTK), similares al receptor de insulina (Laron, 2001). El receptor específico de IGF-1 es estructural y funcionalmente similar al receptor de la insulina, con un 70% de homología, especialmente en el dominio tirosina cinasa (84%), pero también es marcadamente distinto en otras regiones, como en la región carboxi-terminal (44%) y en el domino transmembrana (22-26%) (Ullrich et al., 1986).

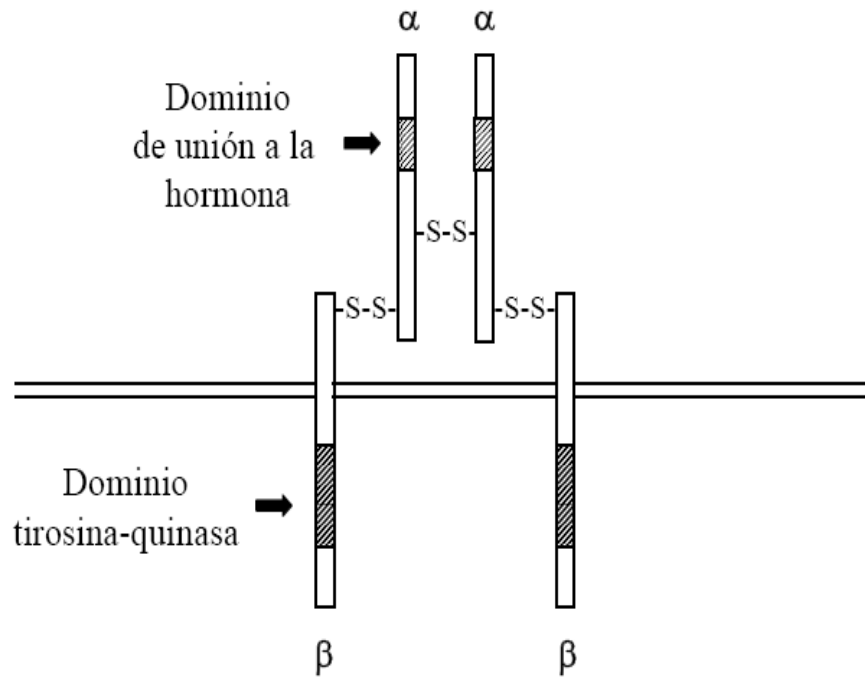
El IGFR se compone de dos subunidades extracelulares alfa que son los sitios de unión de IGF-1 y dos subunidades beta transmembrana que transmiten

la señal inducida por el ligando al inicio de la señalización intracelular (Figura 5). Las subunidades beta contienen 3 dominios principales: el dominio juxtamembrana, el dominio tirosina-cinasa y el dominio carboxiterminal (Arias et al., 1997).

Los mecanismos de señalización de los receptores de IGF-1 e insulina son similares, y la actividad de tirosina quinasa de ambos receptores tiene como blanco al sustrato del receptor de insulina-1 o IRS-1. En condiciones fisiológicas normales IGF-1 actúa a través de su receptor específico IGFR, pero cuando se incrementa la concentración de IGF-1 es probable que éste se una y active al receptor de la insulina (Laron, 2001). Se pueden encontrar receptores de IGF-1 en las células de la mayoría de los tejidos incluidos hígado, músculo, tejido adiposo, huesos, etc. En todos ellos IGF activa el metabolismo celular permitiendo su crecimiento y funcionamiento adecuado (Bosch et al., 2009).

#### **Cascada de señalización intracelular de IGF**

Cuando el IGF se une a su receptor, el IGFR, desencadena una compleja cascada de señalización intracelular (Figura 6) donde ligandos y receptores se van activando consecutivamente para culminar con la transcripción de genes específicos para mantener el crecimiento, proliferación y supervivencia celular (Bosch et al., 2009). La señalización de IGF, a través del IGFR inicia con la fosforilación de la fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K) que activa a su vez a la proteína quinasa-B (Akt/PBK) o bien por la vía de la Ras-MAP quinasa (LeRoith et al., 2001).



**Figura 5:** Estructura simplificada del IGF1R. (Arias et al., 1997).

Cuando el IGF-1 se une al IGF-1R se activa tirosina quinasa intrínseca del receptor, lo que conlleva su autofosforilación y la fosforilación del sustrato receptor de insulina (IRS). Una vez fosforilado, el IRS, es capaz de activar a la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K), provocando, a su vez, la activación de la proteína quinasa B (PKB, también denominada Akt) (Himpi y Kooijiman, 2009). La Akt es una serina/treonina quinasa con varias proteínas sustrato entre las que se incluye el blanco de la rapamicina en mamíferos (mTOR); ésta media la activación de la p70S6K y de la 4E-BP1 implicadas, en el inicio de la síntesis de proteínas, así mismo las Akt también pueden fosforilar en tirosina/quinasa a algunos factores de transcripción, los cuales contribuyen a promover la entrada al ciclo celular (Fernández et al., 2007).

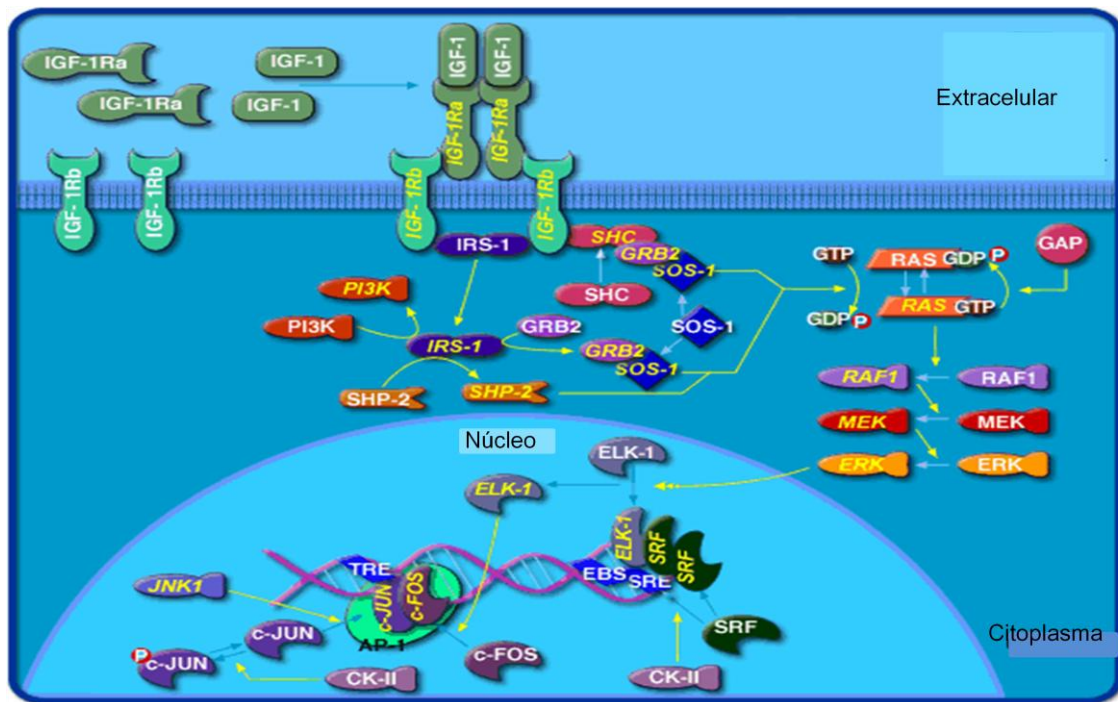


Figura 6. Vía de señalización de IGF-1. A través de la ruta IRS altera activa las cascadas de MAPK y PI3 K, que traslocan en el núcleo para favorecer el crecimiento, proliferación y supervivencia celular. (National Cancer Institute, 2008).

Una segunda vía conocida es la activación de los quinasa extracelular-regulada (ERK) 1 y 2, isoformas de la familia de las proteínas MAPK. La activación de MAPKs, consecuencia de la unión del IGF-1 con su receptor se logra por la interacción de la proteína adaptadora Grb-2 con las tirosinas fosforiladas del IGF-1R o del IRS (Laron, 2001). A su vez, Grb-2 se une a mSOS, una molécula intercambiadora de los nucleótidos de guanina de la proteína Ras, activada por esta acción. La forma Ras-GTP se une a Raf, que fosforila a la quinasa MEK, y activa a Erk-1/2. La activación de las Erks conduce a la activación de p90RSK, y ambas p90RSK y Erks de se traslocan al núcleo. En el núcleo activan a algunos factores de transcripción favoreciendo la transcripción de diversos genes como el de insulina (Fernández et al., 2009).

Himpe and Kooijman, (2009), describen que la vía JAK/STAT (Figura 7), se activa a través de la unión del IGF-a su receptor. Este evento provoca transfosforilación de las JAK, quinasas Janus (JAK1, JAK2, JAK3 y Tyk2), que se fosforilan entre sí activando a otras moléculas incluyendo a las STAT 1-6. A continuación, las moléculas STAT se dimerizan y traslocan al núcleo donde actúan como factores de transcripción.

La activación de la ruta de las MAPKs y de la PI3K es un requisito esencial para la mitogénesis de la mayoría de las células de los mamíferos (Fernández et al., 2007).

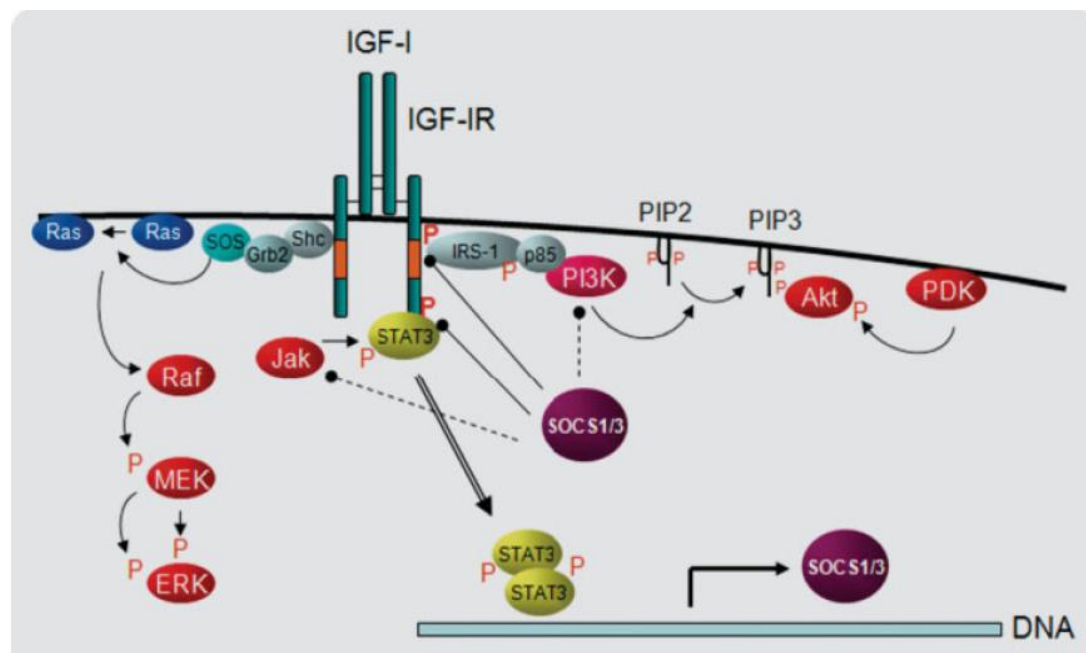


Figura 7. Transducción de señales a partir de IGF-IR. Se muestran las cascadas de señalización de IGF-IR a través de la vía PI3K/Akt y el ras-vía Raf-MEK-ERK, además de la ruta de señalización JAK-STAT. (Himpi y Kooijman, 2009).

### Control de secreción y mecanismo de acción de GH e IGF-1

Uno de los resultados de la actividad de GH es la producción de IGF en sus tejidos blanco (hueso, músculo, cartílago) a través de la señal iniciada con su

unión a su receptor, GHR (Waters et al., 2006). Los órganos que producen IGF-1 lo liberan a circulación para promover el crecimiento de otros órganos y tejidos. Una vez en circulación y cumplida su acción, el IGF-1 en sangre también estimula a la pituitaria para inhibir la producción de GH (Scarfó, 2004 y Akers, 2006). Flores et al. (2006) mencionan que IGF-1 también inhibe la secreción de GHRH, y estimula la secreción de Somatostatina, estableciendo un fenómeno de retroalimentación negativa (*feedback*) sobre este eje.

### **Respuesta a la administración exógena de GH**

Existe gran cantidad de trabajos en los que se busca probar el efecto de la administración de GH exógena en animales, su relación con IGF y su efecto en la producción y crecimiento animal. En cerdos la administración de GH produce un aumento en la masa muscular y una reducción en la acumulación de grasa, mejorando el índice de conversión y la ganancia diaria de peso (Fernández et al., 2001). Costine et al., (2005) administraron GH a borregas al momento de la monta, y encontraron un incremento en la concentración de IGF-1 en los fetos y el útero, así como un mayor peso en los fetos cuyas madres habían recibido el tratamiento con GH. En vacas tratadas con GH se encontró un incremento en la concentración de IGF-1 y en la expresión de GHR en hígado (Jiang et al., 2007). Todos estos resultados demuestran la asociación y regulación que existe entre ambos factores de crecimiento.

## OBJETIVOS

### **Objetivo general:**

Estudiar el patrón de expresión y liberación de factores de crecimiento en cerdos desde su nacimiento hasta los 180 días de edad.

### **Objetivos específicos:**

1) Evaluar la expresión de la hormona del crecimiento (GH), factor de crecimiento similar a insulina 1 (IGF-1), proteína ligadora de IGF (IGFBP) y del receptor tipo 1 de IGF (IGFR1) en cerdos desde el nacimiento hasta los 180 días de edad.

2) Evaluar la concentración de GH e IGF-1 en suero de cerdos desde el nacimiento hasta 180 días de edad.

3) Correlacionar la expresión de factores de crecimiento con la concentración sérica de GH e IGF-1 en cerdos desde el nacimiento hasta los 180 días de edad.

## HIPÓTESIS

La expresión y concentración de las proteínas asociadas con el crecimiento del cerdo (GH, IGF-1, IGFBP e IGFR), varían de acuerdo a la edad del cerdo.

## METODOLOGÍA

### **Área experimental**

El presente trabajo se realizó en la Granja Experimental de Cerdos y en el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California, en el Ejido Nuevo León, Mexicali, B.C., México.

### **Animales**

Se utilizaron 24 cerdos machos (Landrace x Yorkshire x Duroc), bajo manejo típico de una granja comercial. Los cerdos se mantuvieron en la granja desde su nacimiento hasta los 180 días de edad, de acuerdo al protocolo descrito a continuación para la toma de muestras.

### **Expresión de factores de crecimiento**

#### **1. Sacrificios y toma de muestras**

Para la evaluación de la expresión de los factores de crecimiento se realizó el sacrificio, por aturdimiento con descarga eléctrica, de 4 cerdos elegidos al azar en cada una de las siguientes edades: 1, 30, 60, 120 y 180 días. Inmediatamente después del sacrificio se colectó la hipófisis completa de cada individuo para determinar la expresión de GH, así como tres muestras de 0.5 gr de cada uno de los siguientes tejidos: músculo largo dorsal, músculo semitendinoso e hígado para determinar la expresión de IGF, IGFBP e IGFR. Todas las muestras fueron tomadas en microtubos de 2.0 ml y congeladas inmediatamente en nitrógeno líquido, posteriormente se conservaron a -80 °C.

## 2. Purificación de RNA

Se realizó la extracción de RNA total de todas las muestras de tejido de acuerdo con la siguiente metodología: en nitrógeno líquido se pulverizó 0.1 g de cada muestra, el polvo se transfirió a un microtubo limpio y frío de 2 ml y se añadió 1ml de Trizol (Invitrogen, USA) para favorecer la lisis celular. Posteriormente se centrifugó el material lisado durante 10 minutos a 10,000 rpm a 4°C. El sobrenadante se transfirió a un tubo nuevo, se incubó 5 minutos a temperatura ambiente y se le adicionaron 200µl de cloroformo; se agitó manual y vigorosamente y se incubó 2-3 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugó a 10,000 rpm por 15 minutos a 4°C, la fase superior se transfirió a un tubo nuevo y se adicionaron 0.5 ml de isopropanol; esta solución se incubó 10 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Se decantó el sobrenadante, se lavó la pastilla de ácido nucleico con 1 ml de etanol al 70% en agitación, y se centrifugó a 8,500 rpm por 5 minutos a 4°C; se decantó el líquido y se dejó secar la pastilla a temperatura ambiente. El RNA se re suspendió en 50 µl de agua estéril tratada con DEPC. Para comprobar la integridad del RNA total se corrió un gel de agarosa al 1.0% con 15 µl de bromuro de etidio 5 mg/ml.

## 3. Transcripción Reversa

Las muestras de RNA purificado se emplearon para sintetizar cDNA por medio de la técnica de retro transcripción (RT) con la enzima transcriptasa reversa RT-Superscript II (Invitrogen), que se describe a continuación: en un

microtubo de 500µl se colocaron 5µl de RNA recién purificado, 6µl de Buffer RT 5x, 0.75µl de DNAsa (1U/µl), y 30 µl de agua tratada con DEPC; la reacción se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos y después a 70 °C durante 5 minutos. Se añadió 1µl de random primer (150 µg/µl, Invitrogen), 1µl de DNTPs con 10µM de cada uno; y se incubó a temperatura ambiente durante 5 minutos; luego se colocó en hielo y se añadieron 2 µl Buffer 5x, 3µl DTT (0.1M) y 1µl inhibidor de RNasa (10 U/µl). Se homogenizó la reacción e incubó a 42 °C durante 2 minutos, y finalmente se añadió 1µl (5 U/µl) de transcriptasa reversa e incubó a 42 °C durante 50 minutos, y a 70 °C durante 15 minutos. La reacción se estabilizó en hielo y se conservó en congelación a -20 °C para su uso posterior.

#### 4. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se amplificaron fragmentos de aproximadamente 300 pb de cada uno de los mensajeros para los factores de crecimiento en estudio además del gen de RNA ribosomal 18S de cerdo que se empleó como gen constitutivo. Los oligonucleótidos específicos diseñados para cada uno de los factores de crecimiento y RNA ribosomal 18S, se muestran en el cuadro 1. Mediante ensayos de estandarización con PCR punto final se establecieron las condiciones óptimas de amplificación (temperatura de alineación y concentración de MgCl) de cada mensajero, mismas que posteriormente se emplearon para llevar a cabo los ensayos de PCR cuantitativo.

Cuadro 1. Oligonucleótidos empleados para amplificar los RNA mensajeros de los factores de crecimiento y RNA ribosomal porcinos.

Gen	Dirección	Secuencia	Producto
Hormona de Crecimiento, GH (NM213869.1)	Sentido	CAGAACGCCCAGGCTGCC	287 pb
	Antisentido	GGTTTGCTTGAGGATCTGTC	
Factor de crecimiento similar a insulina, IGF (NM214256.1)	Sentido	CATCACATCCTCTTCGCATC	247 pb
	Antisentido	ACATCTCCAGCCTCCTCAGA	
Proteína ligadora de IGF, IGFBP (NM214003.1)	Sentido	ACGTGAACTTGTTGGGAGGT	340 pb
	Antisentido	CTGCCATTTCAGAGACATCT	
Receptor de IGF, IGF1R (NM214172.1)	Sentido	TGCAGAAGGAGCAGATGACA	302 pb
	Antisentido	GTTTTGGCCTGGACGTAGAA	
RNA Ribosomal 18S (AY265350)	Sentido	GGCTCACTAAACCATCCAA	295 pb
	Antisentido	TAGAGGGACAAGTGGCGTTC	

## 5. Reacciones de PCR cuantitativo

Por medio de la técnica de PCR cuantitativo (Hockett, 1999) en un termociclador de tiempo real se analizó la expresión relativa a RNA ribosomal 18S de cada una de las proteínas en estudio (GH, IGF-1, IGFBP, IGF1R). El cDNA se amplificó con sus oligonucleótidos específicos y se emplearon los reactivos del kit de Máxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix 2x (Fermentas, Canadá). Este proceso se llevó a cabo en el equipo Chromo 4 (Bio Rad, USA) acoplado a un termociclador DNA-Engine (Bio Rad) y los resultados se analizaron con el programa Opticon Monitor 3 (Bio Rad). La mezcla de reacción se realizó con un volumen final de 25µl y contenía 1.5µl de oligonucleótidos (5 µM) para los genes descritos previamente, 1µl de cDNA y 12.5µl de la mezcla de reacción 2X que contiene la enzima polimerasa, SYBR Green/ROX, nucleótidos y buffer con MgCl<sub>2</sub> 2.5 mM. El programa de amplificación consistió en: 45 ciclos de amplificación

con desnaturalización a 95 °C por 30 segundos, alineación a temperaturas de 56 a 58 °C, dependiendo del gen a amplificar, durante 15 segundos, elongación a 72 °C durante 30 segundos, al final de cada ciclo se cuantificaba la fluorescencia del DNA amplificado. Al final de los 45 ciclos, se desnaturalizó el DNA lentamente hasta 95 °C con lecturas de fluorescencia cada 0.2°C para establecer la curva de desnaturalización de los productos amplificados. Posteriormente se verificó la especificidad de los productos del PCR mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5%, teñidos con 30 µl bromuro de etidio (0.5 µg/ml). El gen de RNA ribosomal 18S se empleó para normalizar la expresión de cada mensajero y para calcular su expresión relativa.

### **Concentración sérica de factores de crecimiento**

#### **1. Animales y toma de muestras**

Se utilizaron 24 cerdos machos manejados en condiciones similares al experimento anterior. Se tomaron muestras sanguíneas de los cerdos a las edades de 1, 30, 60, 120 y 180 días. Para corregir las variaciones en la concentración de GH, debido a su secreción pulsátil, se tomaron muestras de 1 a 3 ml de sangre cada 2 horas durante 8 horas continuas, a partir de las 0800h. El muestreo sanguíneo se realizó con tubos vacutainer y agujas calibre 18 a 21 dependiendo del grosor del vaso sanguíneo. Una vez tomadas las muestras sanguíneas se mantuvieron en hielo durante su traslado al laboratorio, en donde fueron centrifugados a 3,000 rpm durante 10 min para separar el suero del paquete celular. Submuestras del mismo volumen de

suero (300 µl, aprox.) de todos los muestreos del mismo animal a la misma edad fueron mezcladas y conservadas a -80 °C para realizar inmunoensayos ligados a enzima (ELISA) y así determinar la concentración sérica de GH e IGF-1. Para los ensayos de ELISA se emplearon los kits comerciales de RayBioTech, Inc. (ELH-GH-001 para GH; y ELH-IGFI-001 para IGF-1); y se siguieron los protocolos descritos por el fabricante. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado. Finalmente, la concentración de cada factor de crecimiento fue calculada en un lector de placas de ELISA modelo Multiskan EX (Thermo electron, USA).

#### Análisis estadístico.

Los resultados de expresión relativa de RNA mensajeros para las proteínas en estudio y concentración sérica de factores de crecimiento fueron sometidos a un análisis de regresión y correlación entre éstos y la edad y peso de los animales. El paquete empleado para los análisis estadísticos fue Statistix 9 (Analytical software, 2008).

## RESULTADOS

### Concentración sérica de GH e IGF-1 respecto a la edad y peso de los cerdos

La concentración de GH e IGF-1 en suero de cerdos en edades de 1 a 180 d se presentan en el Cuadro 2. Los valores de concentración de GH fluctuaron de 16.2 a 23 ng/ml, los cuales correspondieron a las edades de 1 y 30 d, respectivamente. Asimismo, los valores de IGF-1 en suero fluctuaron de 6.9 a 17.7 ng/ml, que correspondieron a las edades de 1 y 120, respectivamente.

Cuadro 2. Concentración sérica de GH e IGF-1 [ng/ml] en cerdos de 1 a 180 d de edad

Variable	Edad (d)					
	1	30	60	120	180	EE
GH	16.2	23.0	21.0	19.7	20.4	0.78
IGF-1	6.9	12.2	12.8	17.7	14.7	0.92

En la Figura 8 se ilustran los cambios en la concentración de GH e IGF-1 en suero respecto a la edad de los cerdos. En la concentración de GH se observó un respuesta cuadrática ( $P = 0.035$ ). Este modelo explica el 26% de la variación en la concentración de GH debido a la edad de los cerdos ( $r^2 = 0.26$ ). Por otra parte, la variación en la concentración de IGF-1 en respuesta a aumento en la edad de los cerdos fue similar a la observada para GH, IGF-1 en suero incrementó de manera lineal ( $P < 0.001$ ;  $r^2 = 0.50$ ) y cuadrática ( $P < 0.001$ ;  $r^2 = 0.75$ ) conforme a la edad de los cerdos.

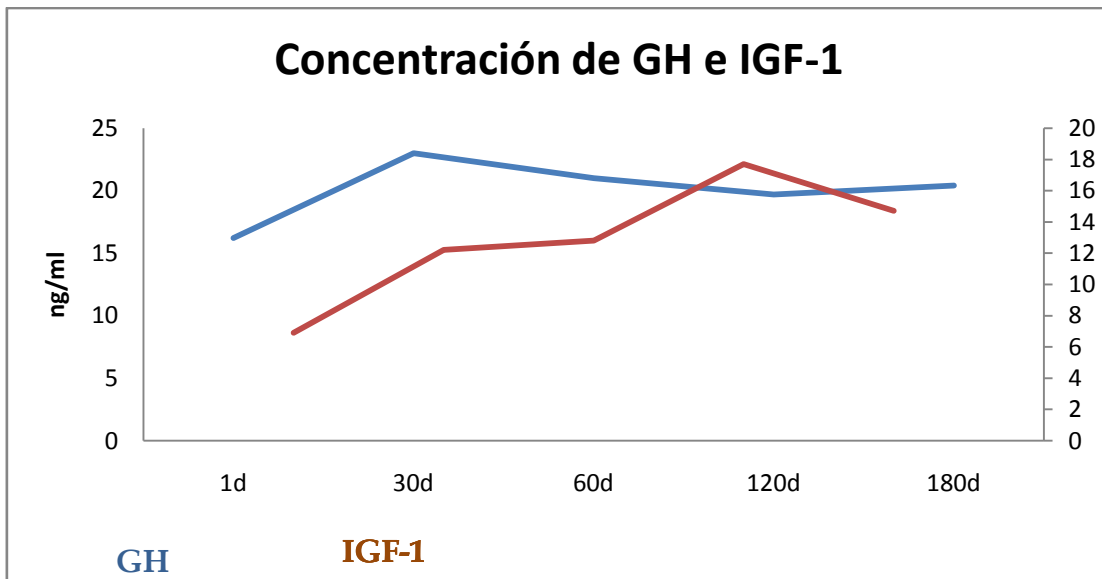


Figura 8. Concentración sérica de GH e IGF-1 en cerdos de 1 a 180 d de edad.

Por análisis de regresión polinomial se evaluó la relación entre la concentración sérica de GH e IGF-1 con peso al nacimiento y al sacrificio de los cerdos. El efecto del peso al nacimiento y al sacrificio sobre la concentración de GH e IGF-1 se muestra en el cuadro 3. Respecto a GH el peso al nacimiento no presentó relación ( $P = 0.245$ ;  $r^2 = 0.06$ ) con la concentración sérica de GH. De igual forma, la concentración de GH no estuvo relacionada con el peso al sacrificio ( $P = 0.766$ ;  $r^2 = 0.01$ ). Sin embargo, la variación en la concentración de IGF-1 se relacionó en un 19% con el peso al nacimiento de los cerdos ( $P = 0.035$ ;  $r^2 = 0.19$ ); mientras que con el peso al sacrificio la relación mostró una tendencia lineal ( $P = 0.008$ ,  $r^2 = 0.33$ ) y cuadrática ( $P < 0.001$ ;  $r^2 = 0.68$ ), este modelo explica casi el 70% de la variación de la concentración sérica de IGF-1 en respuesta al peso que tuvieron los cerdos al momento del sacrificio.

Al analizar la relación entre las concentraciones séricas de GH e IGF-1 se observó que ambos factores se relacionan de forma cuadrática ( $P < 0.001$ ;

$r^2=0.54$ ), en este modelo el 54% de la variación en uno de los factores es explicada por el otro factor.

### **Relación entre concentración sérica de GH e IGF-1 y expresión de GH e IGFBP**

Los resultados de los análisis de regresión múltiple entre la concentración de GH e IGF-1 y expresión de GH e IGFBP en los cerdos de 1 a 180 días de edad, se presentan el cuadro 3. La concentración y expresión de GH se relacionaron mostrando una tendencia lineal ( $P=0.051$ ;  $r^2 = 0.20$ ) y cuadrática ( $P=0.044$ ;  $r^2 = 0.37$ ). Este resultado indica que la concentración de GH en suero depende de la expresión de sus ARN mensajeros en hipófisis y consecuentemente estaría relacionada con su liberación a circulación sistémica. Igualmente la concentración de IGF-1 y la expresión de GH se relacionaron presentando tendencia lineal ( $P=0.004$ ;  $r^2 = 0.45$ ) y cuadrática ( $P=0.011$ ;  $r^2 = 0.50$ ). Con este modelo se explica que la concentración de IGF-1 depende de la expresión de GH ARN mensajero en hígado, así podría estar inmiscuido con su secreción al sistema circulatorio.

En cuando a la expresión de IGFBP en respuesta a la concentración sérica de GH, se observó una respuesta cuadrática ( $P=0.022$ ), que explica que el 27% de la expresión de IGFBP dependió de la concentración sérica de GH ( $r^2 = 0.27$ ). Así mismo la expresión de IGFBP manifestó tendencia lineal ( $P<0.001$ ;  $r^2 = 0.49$ ) y cuadrática ( $P=0.046$ ;  $r^2 = 0.60$ ) como respuesta a la concentración sérica de IGF-1, este resultado deriva de la respuesta celular a la concentración sanguínea de IGF.

Cuadro 3. Regresión lineal y cuadrática entre la concentración de GH e IGF-1 y expresión de GH e IGFBP con edad, peso al nacimiento y peso al sacrificio

Variables		Lineal		Cuadrática	
Dependiente	Independiente	r <sup>2</sup>	P =	r <sup>2</sup>	P =
Peso al sacrificio	Edad	0.94	<0.001		
	Peso al nacimiento	0.05	0.337	0.08	0.593
Concentración GH	Edad	0.04	0.414	0.26	0.035
	Peso al nacimiento	0.06	0.245	0.17	0.306
	Peso al sacrificio	0.01	0.766	0.05	0.427
	Concentración de IGF1	0.13	0.113	0.54	<0.001
	Expresión de GH	0.20	0.051	0.37	0.044
	Expresión de IGFBP	0.18	0.061	0.27	0.022
Concentración de IGF1	Edad	0.50	<0.001	0.75	<0.001
	Peso al nacimiento	0.19	0.035	0.21	0.210
	Peso al sacrificio	0.33	0.008	0.68	<0.001
	Expresión de GH	0.45	0.004	0.50	0.011
	Expresión de IGFBP	0.49	<0.001	0.60	0.046
Expresión de GH	Edad	0.30	0.013	0.16	0.949
	Peso al nacimiento	0.01	0.693	0.03	0.798
	Peso al sacrificio	0.27	0.019	0.17	0.704
Expresión de IGFBP	Edad	0.32	0.009	0.25	0.074
	Peso al nacimiento	0.02	0.563	0.06	0.652
	Peso al sacrificio	0.25	0.050	0.53	0.008

### **Efecto de la edad y peso de los cerdos en la expresión relativa de GH e IGFBP**

En el Cuadro 4 se muestran los resultados de expresión relativa (moléculas de RNAm/moléculas de RNAr 18s) de GH en hipófisis e IGFBP en hígado de los cerdos a las edades de 1 a 180 d. La expresión de GH fluctuó de 758 a 8331 moléculas respecto a la expresión del gen constitutivo RNAr 18s, correspondientes a las edades 180 y 1 d respectivamente; es decir la variación en la expresión de GH puede reducirse hasta casi en un 90 % desde el nacimiento hasta la edad adulta. En el patrón de expresión de GH también se observó una reducción importante correspondiente al 37 % de su expresión inicial al día 30

de edad, inmediatamente después del destete de los lechones.

Cuadro 4. Expresión relativa de GH e IGFBP [(Moléculas de RNAm/Moléculas de 18s)\*1000] en cerdos de 1 a 180 d de edad

Variable	Edad (d)					
	1	30	60	120	180	EE
GH RNAm	8331	3092	6287	1676	758	1880
IGFBP RNAm	213	90	85	37	67	26

Del mismo modo los valores de expresión relativa de IGFBP fluctuaron de 37 a 213 moléculas respecto a la expresión del gen constitutivo RNAr 18s, mismas que corresponde a los 120 y 1 d de edad, respectivamente; la expresión en este caso se redujo casi el 83 % del nacimiento a la edad de 120 d. Adicionalmente se observó un incremento importante en la expresión de IGFBP a los 180 d de edad, misma que representó el 181 % de su expresión a los 120 d.

Los resultados de los análisis de regresión polinomial para la expresión de GH e IGFBP con respecto a la edad, peso al nacimiento, peso al sacrificio y concentración sérica de GH e IGF-1 se presentan en el Cuadro 3. La expresión de GH respecto a la edad de los cerdos, mostró una tendencia lineal ( $P=0.013$ ); este resultado explica que el 30% de la variación en la expresión de GH ( $r^2 = 0.30$ ) es debida al crecimiento de los animales. La expresión de GH no fue afectada por el peso al nacimiento de los cerdos ( $P=0.693$ ), sin embargo con el peso al sacrificio, la expresión de GH mostró una tendencia lineal ( $P=0.019$ ;  $r^2=0.27$ ).

Así mismo la variación de la expresión de IGFBP en respuesta a la edad de los cerdos presentó una tendencia lineal ( $P= 0.009$ ), misma que explica en aproximadamente 25% la variación en su expresión ( $r^2 = 0.25$ ). La expresión de

IGFBP no fue afectada por el peso al nacimiento de los cerdos ( $P=0.563$ ,  $r^2=0.02$ ). Por el contrario la expresión de IGFBP fue afectada por el peso al sacrificio, presentó comportamiento lineal ( $P=0.050$ ,  $r^2=0.25$ ) y cuadrática ( $P=0.008$ ,  $r^2=0.53$ ), este modelo explica casi el 60% de la variación de la expresión de IGFBP en respuesta al peso que tuvieron los cerdos al momento del sacrificio.

### **Correlaciones entre las variables edad, peso al nacimiento, peso al sacrificio y concentración sérica de GH e IGF-1 y expresión de GH e IGFBP**

Mediante pruebas de correlación de Pearson se analizó la relación entre las variables analizadas (Cuadro 5).

No se observó correlación entre la edad de los cerdos y la concentración sérica de GH ( $P = 0.170$ ;  $r = 0.29$ ), sin embargo la correlación entre edad y concentración sérica de IGF-1 fue altamente significativa ( $P < 0.001$ ;  $r = 0.71$ ), lo que indica que a medida que el cerdo crece, se incrementa la concentración de IGF. Además, se observó una tendencia positiva ( $P = 0.057$ ;  $r = 0.40$ ) al analizar la concentración de GH con respecto a la concentración de IGF-1, es decir, aparentemente hubo una respuesta en la secreción de IGF-1 dirigida por la concentración de GH circulante.

Respecto a las correlaciones entre la edad y expresión de factores de crecimiento, se observó una tendencia negativa en la expresión de GH ( $P = 0.054$ ;  $r = -0.40$ ); la expresión de IGFBP presentó una tendencia similar ( $P = 0.085$ ;  $r = -0.36$ ). Esta respuesta indica que a medida que el cerdo crece la expresión de sus factores de crecimiento disminuye.

La concentración sérica de GH no estuvo correlacionada con su expresión ( $P = 0.124$ ;  $r = -0.32$ ) ni con la expresión de IGFBP ( $P = 0.254$ ;  $r = -0.24$ ). Por el contrario, la concentración de IGF-1 circulante provocó una disminución en la expresión de los factores de crecimiento, GH ( $P = 0.003$ ;  $r = -0.58$ ) e IGFBP ( $P = 0.004$ ;  $r = -0.56$ ). Finalmente, no se observó relación entre la expresión de GH e IGFBP ( $P = 0.108$ ;  $r = 0.34$ ).

Cuadro 5. Coeficientes de correlaciones entre edad, peso al nacimiento, peso al sacrificio, concentración de GH e IGF-1 en suero, expresión de GH e IGFBP

	Edad	Peso al nacimiento	Peso al sacrificio	Concentración sérica GH	Concentración sérica IGF-1	Expresión de GH RNAm
Peso al nacimiento	$r=0.38$ $P=0.067$					
Peso al sacrificio	$r=0.97$ $P<0.001$	$r=0.29$ $P=0.167$				
Concentración sérica GH	$r=0.29$ $P=0.170$	$r=0.25$ $P=0.245$	$r=0.16$ $P=0.446$			
Concentración sérica IGF-1	$r=0.71$ $P<0.001$	$r=0.43$ $P=0.035$	$r=0.59$ $P=0.002$	$r=0.40$ $P=0.057$		
Expresión de GH RNAm	$r=-0.40$ $P=0.054$	$r=-0.09$ $P=0.69$	$r=-0.40$ $P=0.053$	$r=-0.32$ $P=0.124$	$r=-0.58$ $P=0.003$	
Expresión de IGFBP RNAm	$r=-0.36$ $P=0.085$	$r=-0.12$ $P=0.563$	$r=-0.28$ $P=0.191$	$r=-0.24$ $P=0.254$	$r=-0.56$ $P=0.004$	$r=0.34$ $P=0.108$

## DISCUSION

Los estudios sobre concentración de GH e IGF-1 en cerdos son escasos, y en particular relacionados con la edad y el peso al nacimiento y al sacrificio. Los resultados de la concentración sérica de GH e IGF-1 permitieron establecer la variación con la edad de los animales.

### **Concentración sérica de GH e IGF-1 respecto a la edad y peso de los cerdos.**

En el presente trabajo se observó que la concentración de GH en suero tiene un comportamiento cuadrático que disminuye al incrementar la edad de los cerdos. Después del nacimiento se observó un incremento en la concentración de GH hasta los 30 d de edad, misma que posteriormente disminuyó gradualmente hasta los 180 d de edad. La disminución de la secreción de GH conforme los cerdos crecían y alcanzaban su edad adulta, concuerda con lo encontrado en borregos por Recabarren et al. (1998), estos autores demostraron que en ovinos la secreción de GH disminuye durante el desarrollo prepuberal, aunque mencionan que las razones fisiológicas de esta disminución no son claras.

Poco después del nacimiento la tasa de secreción de GH es alta y posteriormente baja durante el período neonatal a niveles similares a los observados hasta la pubertad (Martha et al 1996). La síntesis y secreción de GH está regulada principalmente por los péptidos GHRH y Somatostatina, además puede estar regulada por varias hormonas como IGF-1, hormona tiroidea (T3) y glucocorticoides. La disminución en la secreción de GH que ocurre en forma dependiente de la edad, es secundaria a una disminución de la GHRH y a un

aumento en la secreción de Somatostatina a nivel hipotalámico (Giustina y Valdhuis, 1998). Por otra parte, un nivel elevado de IGF-1 en suero inhibe la liberación de GHRH y, por tanto, también de GH (Giustina y Valdheius, 1998). Además, al parecer, los glucocorticoides y la hormona T3 interactúan con el gen GH y estimulan su transcripción (Flores et al., 2006).

El nivel de GH también se incrementa en respuesta al estrés, ejercicio, horas de sueño, concentración de aminoácidos en sangre, hipoglucemia, esteroides sexuales,  $\alpha$  agonistas adrenérgicos, dopamina y ayuno; mientras que los  $\beta$  agonistas adrenérgicos, glutamato, hiperglucemia y alto contenido de ácidos grasos volátiles disminuyen los niveles séricos de GH (Gillies, 1997). Aunque muchos de los mecanismos moleculares que explicarían estos efectos no han sido elucidados por completo, si se conoce que los aminoácidos y otros nutrientes actúan como estímulo para la secreción de GH sobre todo en dietas balanceadas y ricas en proteína (Isidori et al., 1981).

En este trabajo la concentración de IGF-1, aumentó conforme al crecimiento de los cerdos. Se observó un incremento importante en la concentración de IGF-1 en suero en el período posterior al destete, mismo que continuó elevándose ligeramente hasta los 120 d de edad, momento en el cual comenzó a decrecer hasta los 180 d. Estany et al. (2007), en trabajos con cerdos mencionan que el IGF-1 en plasma mostro un aumento constante de los 35 a los 160 d y un atendencia a la baja en la edad avanzada 185 d, coincidiendo con los datos encontrados en este trabajo. Asimismo Noble et al. (2007) mencionan que en equinos la concentración de IGF-1 mostró una disminución gradual con la

edad. Cheng et al. (2005), observaron que en roedores, IGF-1 regula la longevidad del individuo, y que sus niveles sanguíneos disminuyen significativamente con la edad.

En estudios realizados por Gerrard et al. (1998), en cerdos se observó la expresión de IGF-1 desde los 30 d de gestación hasta los seis meses de edad; y se encontró que IGF-1 presenta su expresión más alta a los 21 d después del nacimiento y disminuye conforme los individuos se acercan a la edad adulta a los seis meses de edad. Este efecto no fue observado en el presente trabajo, y aunque no se evaluó el nivel de IGF-1 a los 21 d de edad, sino a los 30 d de edad, dos días después del destete de los lechones. En este sentido, se ha visto que el estrés debido al destete provoca una disminución en los niveles de factores de crecimiento en sangre, y específicamente en IGF-1 (Cervantes, 2009), por lo que no sería descartable el hecho de que dos o tres días antes los lechones pudieran haber presentado niveles superiores de IGF-1 en suero.

Muñoz et al. (2010) señalan que existen otros factores que afectan significativamente las concentraciones circulantes de IGF-1; entre las más importantes se encuentra la raza, sexo, edad y alimentación. Respecto a la raza del cerdo, se ha encontrado que las concentraciones de IGF-1 en cerdos miniatura es menor que la concentración en cerdos de razas de tamaño estándar (Buonomo et al., 1987). También está bien documentado que los machos presentan concentraciones superiores que las hembras (Noble et al., 2007). Del mismo modo el tipo de alimentación influye sobre la concentración de IGF-1 en

suero, las dietas ricas en carbohidratos provocan concentración más altas de IGF-1 en comparación con dietas ricas en grasa (Treiber et al., 2005).

Los patrones de concentración de GH e IGF-1 en suero del nacimiento a la edad adulta de los cerdos fueron similares. Aparentemente, los incrementos en el nivel de GH también provocaron un incremento en la secreción de IGF-1. Sherlock y Toogood, (2007), indicaron que durante la pubertad, reconocida como el período de mayor crecimiento, la secreción de GH alcanza su nivel más alto causando también un incremento en la secreción de IGF-I. Una vez que el individuo alcanzó su edad adulta disminuye la secreción de GH y de IGF-I, esto inicia el proceso de envejecimiento caracterizado por una pérdida progresiva de masa y fuerza muscular, disminución en el rendimiento físico, aumento en la grasa corporal y disminución en la densidad mineral ósea (Giustina et al., 2008).

La GH induce la síntesis de IGF-1 principalmente en el hígado, y en menor proporción en otros tejidos, la función de este IGF-1 es actuar como hormona circulante y como factor de crecimiento local bajo el control de diversas hormonas (Lanning y Carter-Su, 2006). Así mismo Simmen et al. (1998) menciona que la concentración de GH e Insulina regulan los mecanismos moleculares del gen para la síntesis de IGF-1. En presente trabajo se confirmó que la GH estimula la síntesis de IGF, y que el incremento en la concentración de GH conforme crecen los cerdos, también induce la síntesis de IGF-1, causando el crecimiento de los cerdos, pero que además responde a otros factores de similar importancia tales como la alimentación, ambiente y la señalización causada por otras hormonas. La concentración de IGF-1 regula la

proliferación celular en células del músculo liso del cerdo (Duan y Clemmons, 1998).

Los resultados de este trabajo demostraron que la relación entre las concentraciones séricas de GH e IGF-1 se debe a la variación de uno de los factores, ya que al incrementar la concentración de GH se produce un aumento en la concentración de IGF-1 en sangre. En un trabajo llevado a cabo por Wester et al. (1998), encontraron que la administración de pGH exógena a cerdos recién nacidos provoca un estímulo al eje somatotrópico, notable incremento en aproximadamente el 300% en la concentración de IGF-1 circulante en comparación con la concentración del grupo testigo.

En este estudio no se observó relación entre el peso al nacimiento o al sacrificio con la concentración sérica de GH, lo que indica que la secreción de GH no está determinada únicamente por el peso del cerdo, sino por una serie de acciones hormonales y de respuesta celular del mismo. En este sentido, Müller et al. (1999) mencionaron que el índice de masa corporal se correlacionó negativamente con la secreción de GH, es decir que animales más grandes presentan niveles inferiores de esta hormona.

Por el contrario la concentración sérica de IGF-1 se relacionó significativamente con el peso al nacimiento y al sacrificio en los cerdos en este estudio. Estos resultados coinciden con lo señalado por Muñoz et al. (2010), esos autores mencionan que existe una correlación positiva entre tamaño corporal y la concentración sanguínea de IGF-1 en cerdos. Estany et al. (2007) también observaron una asociación positiva entre el peso vivo y la concentración de IGF-

1 en cerdos de 35 d de edad, esta asociación también se observó cuando los cerdos alcanzaron el peso al mercado.

### **Concentración sérica de GH e IGF-1 y expresión de GH e IGFBP**

Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que la variación en la concentración de GH e IGF-1 en suero aumenta con la edad de los cerdos, mientras que la expresión en hipófisis de GH disminuye, y que la expresión de GH está relacionada con concentración de IGF-1, pudiendo entonces influir en la secreción de éste último. Como se ha mencionado, la concentración de GH en suero depende de su expresión en hipófisis, su síntesis y secreción a circulación sistémica (Giustina y Valdhuis, 1998). Entonces GH es transportada a sus tejidos blancos por la GHBP para activar la cascada de señalización que activa al gene que codifica IGF-1 (Kratzsch et al., 1997). Como consecuencia a la expresión de IGF-1 ocurre la síntesis y secreción de la misma hacia la sangre, en donde es transportado por IGFBP y activa a sus receptores, IGFR, en los tejidos blanco promoviendo el crecimiento de los cerdos (Domené et al., 2005).

Respecto a la correlación positiva observada entre la concentración de IGF-1 y la expresión de GH, Voss et al. (2001), mostraron que un incremento en la concentración de IGF-1 en el medio de cultivo de células somatotropas de pituitaria de rata expuestos por 5 d a 90 nM IGF-1 provoca una disminución en la expresión de GH, por tanto IGF-1 estaría regulando la expresión de GH, aunque estos autores indican que pudiera haber varias explicaciones para la regulación de la expresión de GH por IGF-1. Una de ellas responde a los mecanismos intracelulares que regulan la formación del complejo de la transcripción y traducción de GH, o que inhiben la expresión de GH por algún

otro mecanismo; ya que se ha sugerido que los complejos de transcripción montados sobre un número de genes se activan en un interruptor de todo o nada. En este trabajo la expresión de IGFBP disminuyó conforme aumentaba la concentración sérica de GH e IGF-1, este comportamiento deriva de la respuesta celular a la concentración sanguínea de IGF-1. Debido a que la actividad de muchos factores de transcripción está regulada desde el medio extracelular a través de señales hormonales, estas vías podrían responder positiva o negativamente a las concentraciones de éstas y otras hormonas en suero modificando la actividad celular (Koshland, 1998). Por el contrario, a lo observado en este trabajo, Canalys et al. (1993) observaron que el IGF-1 circulante estimula la expresión de IGFBP en el hueso, mientras que otros factores de crecimiento con actividad mitógena lo inhiben. Duan y Clemmons (1998) trabajaron con células vasculares de músculo liso de cerdo y reportan que la expresión de IGFBP fue regulada directamente por la secreción autocrina/paracrina de IGF-1.

### **Expresión relativa de GH e IGFBP**

En este trabajo se observó que la edad de los cerdos se correlaciona negativamente con la expresión de GH. Estos datos indican que conforme los cerdos y aumentan de peso, la expresión de GH decrece, puede ser por la disminución en el número de receptores en el hígado debido a la disminución de GH e IGF-1 circulantes (Breirer et al., 1994).

Al parecer, el destete también afectó la expresión de GH, ya que en este estudio los cerdos de 30 d redujeron en un 63% la expresión de GH respecto a los cerdos de un día de edad. Estos resultados coinciden con lo presentado por

Cervantes (2009) en donde observó una disminución del 95% en la expresión de GH por efecto del destete de los lechones, este efecto se puede atribuir a la disminución en el consumo de alimento ocurrido en esta etapa, mismo que afectó la síntesis y liberación de GH (Weller et al., 1994).

### **Efecto de la edad y peso de los cerdos en la expresión relativa de GH e IGFBP**

La edad de los cerdos afectó negativamente la expresión de IGFBP, esta caída en la expresión de IGFBP inició al nacimiento, aunque se observó el nivel más bajo a los 120 d de edad, es decir, alrededor de la pubertad. A continuación los animales llegados a la edad adulta mostraron un incremento en la expresión de IGFBP. Como se mencionó anteriormente, la expresión de esta proteína ligadora está correlacionada negativamente con la concentración de su ligando, mismo que fue en incremento del nacimiento hacia la pubertad.

En este trabajo se demostró que el peso al nacimiento no influye sobre la expresión de GH e IGFBP. López et al. (2004), señalaron que el crecimiento fetal tiene baja dependencia de GH, como consecuencia de la expresión tardía y la maduración progresiva de sus receptores, esto parece reflejar un estado de resistencia a la hormona durante esta etapa temprana de la vida, y que probablemente el peso al nacimiento sea independiente de la concentración de la misma.

Posterior al nacimiento, los resultados de este trabajo demuestran que el peso de los cerdos fue afectado por la expresión de GH e IGFBP, a medida que éstos crecen y van alcanzando su peso adulto la expresión de GH e IGFBP

disminuyen de forma lineal. Blüher et al. (2005), mencionan que tanto la GH como IGF-1 tienen efecto anabólico en la síntesis de proteína, ambas hormonas participan activamente en la regulación del crecimiento aumentando la masa corporal magra y disminuyendo la acumulación del tejido graso.

## CONCLUSIONES

Las concentraciones séricas de GH e IGF-1 y la expresión de GH e IGFBP se encuentran relacionadas entre sí y se modifican conforme a la edad de los cerdos.

La mayor expresión y concentración sérica de GH se observa durante el primer mes de vida del cerdo, ésta disminuye paulatinamente conforme el cerdo va alcanzando la edad adulta, y es afectada negativamente por la concentración sérica de IGF-1.

La concentración de IGF-1 en sangre se incrementa paulatinamente del nacimiento hacia los 120 días de edad, mientras que la expresión de su transportador, el IGFBP se reduce.

## LITERATURA CITADA

- Akers, R. M. 2006. Major advances associated with hormone and growth factor, regulation of mammary growth and lactation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:1222-1234.
- Anderson, L., S. Jeftinija, and C.G. Scanes. 2004. Growth hormone secretion: molecular and cellular mechanisms and in vivo approaches. *Exp Biol Med* 229:291-302
- Argente, J., A. Carrascosa y R. Gracia. 1995. Pruebas funcionales en endocrinología pediátrica y de la adolescencia. Edimsa. Madrid. 1075-1117.
- Arias, P. M. 1997. Tratado de endocrinología pediátrica. Segunda edición. Ed. Madrid. pp 220.
- Blüher, S., J. Kratzsch and W. Kiess. 2005. Insulin-like growth factor I, growth hormone and insulin in white adipose tissue. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* Vol. 19, No. 4, pp. 577-587
- Bosch-Barrera, J., A. Hernández, L.E. Abella. 2009. Insulin and insulin-like growth factor pathway, a new targeted therapy in oncology. *An. Sist. Sanit. Navar.* 2009, Vol. 32, N° 3
- Bowen, R. 2002. Somatostatin. *Books pathphys endocrine somatostatin.*
- Brameld, J.M., R.S. Gilmour and P. J. Buttery. 1999. Glucose and amino acids interact with hormones to control expression of insulin-like growth factor-1 and growth hormone receptor mRNA in cultured pig hematocytes. *J. Nutr.* 129:1298-1306.
- Breier, B.H., G.R. Ambler, H. Sauerwein, A. Surus, P.D. Gluckman. 1994. The induction of hepatic somatotrophic receptors after birth in sheep is dependent on parturition-associated mechanisms. *J. Endocrinol.* 141: 101-108.
- Brito, G. y C. A. Jiménez. 2004. El crecimiento de los diferentes tejidos en el animal y su efecto en la composición de la canal. Jornada de Jóvenes en el Prado. Universidad del Uruguay.
- Buonomo, F.C., T.J. Lauterio, C.A. Baile and D.R. Champion. 1987. Determination of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and IGF-binding protein levels in swine. *Domest. Anim. Endocrinol.* 4: 23-31.
- Burrin, D.G., T.A. Davis, M.L. Fiorotto and P.J. Reeds. 1997. Role of milk-borne vs endogenous insulin-like growth factor I in neonatal growth *J Anim. Sci.* 75:2739-2743.
- Butler, A. A. and D. Le Roith. 2001. Control of growth by the somatotrophic axis: Growth Hormone and the Insulin-Like Growth Factors Have Related and Independent Roles. *Annu. Rev. Physiol.* 63:141-64.
- Butler, A.A. and D. LeRoith. 2001. Minireview: Tissue-specific versus generalized gene targeting of the *igf1* and *IGF1R* genes and their roles in insulin-like growth factor physiology. *J. Endocrinology* vol. 142 N 5.
- Canalis, E., J. Pash, B. Gabbitas, S. Rydziel and S. Varghese. 1993. Growth factors regulate the synthesis of insulin-like growth factor-I in bone cell cultures. *Endocrinology* 133:33-38.

- Cattani, A.O. 2007. Características del crecimiento y desarrollo físico. Manual pediátrico. Esc. Med. Pub. Cl. Pg. 123-138.
- Cervantes, G.D. 2009. Efecto del destete en la expresión de factores de crecimiento en lechones. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Baja California. Mexicali, B.C. México.
- Cheng, C.L., T. Q. Gao, Z. Wang and D.D. Li. 2005. Role of insulin/insulin-like growth factor 1 signaling pathway in Longevity. *World J. Gastroenterol.* Vo. 11 Num. 13.
- Chomczynski, P. and N. Sacchi. 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162: 156-159.
- Chiu, S.L. and H. T. Cline. 2010. Insulin receptor signaling in the development of neuronal structure and function. *Neural Development* 5:7
- Costine, B.A., E.K. Inskeep and M.E. Wilson. 2005. Growth hormone at breeding modifies conceptus development and postnatal growth in sheep. *J. Anim. Sci.* 83:810-815.
- Daughaday WH and P. Rotwein. 1989, Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations, *Endocr Rev*, 10, 68-91.
- Delany, A.M., D. Durant and E. Canalis. 2001. Glucocorticoid suppression of IGF-I transcription in osteoblasts. *Mol Endocrinol* 15:1781-1789.
- Domené, H. M., V.S. Bengolea, y H.G. Jasper. 2005. Consecuencias endocrinas y metabólicas de la deficiencia de la subunidad ácido lábil del complejo circulante de los factores de crecimiento insulino similares. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo.* Vol. 42, No. 4.
- Domenne', H. M. 2005. Transporte de GH y de IGF-1. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo.* Vol. 42. No. 4.
- Duan, C. and D.R. Clemmons. 1998. Differential expression and biological effects of insulin-like growth factor-binding protein-4 and -5 in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 273:16836-16842
- Escobar, M.L. 2005. Efectos de la hormona de crecimiento (gh) en el metabolismo intermedio. *Fisiología Endocrina y de la Sangre*, Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires (UBA).
- Estany, J., M. Tor, D. Villalba, L. Bosch, D. Gallardo, N. Jimenez, L. Altet, J.L. Noguera, J. Reixach, M. Amills and A. Sanchez. 2007. Association of CA repeat polymorphism at intron 1 of insulin-like growth factor (IGF-I) gene with circulating IGF-I concentration, growth, and fatness in swine. *Physiol Genomics* 31: 236-243.
- Fernández E. M., M. A. Martín y C.A. Álvarez. 2007. Efecto de la subnutrición materna sobre el desarrollo, crecimiento y funcionalidad de las células  $\beta$  pancreáticas en el feto: implicación del sistema de IGFs. *An. R. Acad. Nac. Farm.* 73: 453-492.

- Fernández, A., C. Olivó, C. Rodríguez y L. Silió. 2001. Hal polymorphism of growth hormone gene Iberian pigs: relation with productive traits. [www.dcam.upv.es/acteon/docs/ghiber.pdf](http://www.dcam.upv.es/acteon/docs/ghiber.pdf).
- Firth, M.S. and R. C. Baxter. 2002. Cellular Actions of the Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins. *Endocr. Rev.* 23: 824-854,
- Flores, M.A., C.J. Greenhalgh, G. Norstedt and E. Rico-Bautista. 2006. Negative regulation of growth hormone receptor signaling. *Molecular Endocrinology* 20:241-253.
- Fukuhara, S., M. J. Marinissen, M. Chiariello and J. S. Gutkind. 2000. Signaling from G protein-coupled receptors to ERK5/Big MAPK Involves Gaq and Ga12/13 families of heterotrimeric G proteins. *J. of Biological Chemistry* Vol. 275, No. 28, pp. 21730-21736.
- Gerrard, D. E., C. S. Okamura, M.A.M. Ranalletta, and A. L. Grant. 1998. Developmental expression and location of IGF-I and IGF-II mRNA and protein in skeletal muscle. *J. Anim. Sci.* 76:1004-1011.
- Geydan, T.D., C. Garzón-Coral, C. Fajardo, and C. Spinel. 2010. Dynamics of nuclear pore complex. *Acta biol. Colomb.*, Vol. 15 N.º 1, 281 - 288.
- Gillies, G. 1997. Somatostatin: the neuroendocrine story. *Trdens Pharmacol Sci.* 18:87-95.
- Giustina, A., G. Mazziotti and E. Canalis. 2008. Growth hormone, insulin-like growth factors, and the skeleton. *Endocrine Reviews* 29(5):535-559.
- Giustina, A. and J.D. Veldhuis. 1998. Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocr Rev* 19:717-797.
- Gluckman, P.D. and J.E. Harding. 1994. Nutritional and hormonal regulation of fetal growth-evolving concepts. *Acta Paediatr; Suppl* 399: 60-63.
- Gómez, A., M. F. Cerón and L. F. Restrepo. 2007. Modeling of growth functions applied to animal production. *Rev Col Cienc Pec;* 20:157-173.
- Guinea, J.V., N. Martínez, C. I. Aceves, E. Galán Moya, M. A. de la Cruz, J. L. Callejas Valera, A. Arraiga Aragón, C. Ramírez-Castillejo, M. V. Villas Sánchez, J. M. Rojas, y R. Sánchez-Prieto. 2005. PKB/Akt media la radio sensibilidad asociada a Ataxia Telangiectasia. *Oncología;* 28 (7):329-337
- Hammon, H.M., Y. Zbinden, H. Sauerwein, B.H. Breier, J.W. Blum and S.S. Donkin. 2003. The response of the hepatic insulin-like growth factor system to growth hormone and dexamethasone in calves. *J. of Endocrinolog* .179, 427-435
- Haugk, K.L. H. Wilson, K. Swisshelm, and L.S. Quinn. 2000. Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-related protein-1: an autocrine/paracrine factor that inhibits skeletal myoblast differentiation but permits proliferation in response to IGF. *Endocrinology*. Vol. 141 No.1
- Hernández, M. 1999. El patrón de crecimiento humano. Factores que regulan el crecimiento. *Métodos de evaluación. An Esp Pediatr:* 36; Suppl 50: 9-18.
- Himpe, E. and R. Kooijman. 2009. Insulin-like growth factor-i receptor signal transduction and the janus kinase/signal transducer and activator of transcription (JAK-STAT) pathway. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology, Inc. Volume 35, Number 1, Pages 76-81.*

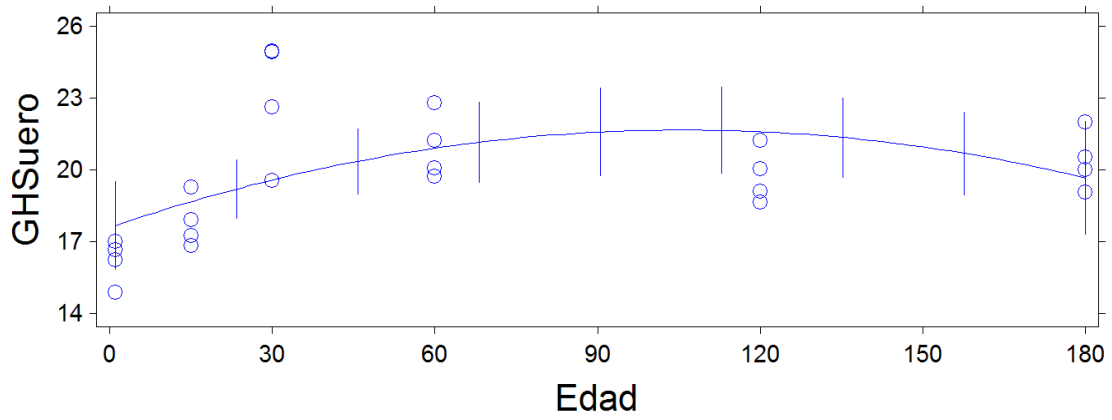
- Hockett RD. 1999. Adaption of existing pcr protocols for the light cycler system. Roche Molecular Biochemicals. No 3.
- Holt, R.I.G. 2004. The metabolic effects of growth hormone. *CME Bull, Endocrinol Diabet* 5: 11-17.
- Hwa, V., Y. Oh and R.G. Rosenfeld. 1999. The insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) superfamily. *J. Endocr Rev*; 20: 761-8.
- Isidori, A., A. Lomonaco, and M. Cappa. 1981. A study of growth hormone release in man after oral administration of amino acids. *Curr. Med. Res. Opin.* 7: 475-481.
- Jiang, H., Y. Wang, M. Wu, Z. Gu, S. J. Frank and R. Torres-Diaz. 2007. Growth hormone stimulates hepatic expression of bovine growth hormone receptor messenger ribonucleic acid through signal transducer and activator of transcription 5 activation of a major growth hormone receptor gene promoter. *Endocrinology* Vol. 148, No. 7 3307-3315.
- Juo, P. C. J. Kuo, S. E. Reynolds, R. Richard, F. Konz, J. L. Raingeaud, R. J. Davis, H. P. Biemann and J. Blenis. 1997. Fas activation of the p38 mitogen-activated protein kinase signalling pathway requires ICE/CED-3 family proteases. *Molecular and Cellular Biology*. Vol. 17, No. 1
- Kelly, P.A., J. Djiane, M. C. Postel-Vinay and M. Ederly. 1991. The prolactin/growth hormone receptor family. *Endocrine Reviews*, Vol 12, 235-251.
- Oksbjerg, N., Gondret F. and Vestergaard M. 2004. Basic principles of muscle development and growth in meat-producing mammals as affected by the insulin-like growth factor (IGF) system. *Domestic Animal Endocrinology*. 27:3, 219-240.
- Kanety, H., A. Karasik, and B. Klinger. 1993. Long-term treatment of Laron type dwarfs with insulin-like growth factor I increases serum insulin-like growth factor-binding protein 3 in the absence of growth hormone activity. *Acta Endocrinol*; 128: 144-9.
- Kiviste, A., G. Álvarez, A. Rojo y G. Ruiz. 2002. Funciones de crecimiento de aplicación en el ámbito forestal. Madrid: Instituto nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria.
- Koshland, D.E. 1998. The era of pathway quantification. *Science* 280: 5365-852.
- Kratzsch, J., B. Dehmel, F. Pulzer, E. Keller, P. Englard, W.F. Blum, and M. Wabitsch. 1997. Increased serum GHBP levels in obese pubertal children and adolescents: relationship to body composition, leptin and indicators of metabolic disturbances. *International J. of Obesity* .21: ps1130-1136.
- Lanning, N.J., and Carter-Su C. 2006. Recent advances in growth hormone signaling. *Rev Endocr Metab Disord* 7:225-235
- Laron, Z. 2001. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth Hormone. *J Clin. Pathol: Mol Pathol* 2001; 54:311-316.
- Laron, Z., A.M. Suikkairi and M, B. Klinger .1992. Growth hormone and insulin-like growth factor regulate insulin-like growth factor-binding protein-1 in Laron type dwarfism, growth hormone deficiency and constitutional short stature. *Acta Endocrinol*; 127:351-8.

- Lewitt, M.S., H. Saunders and J.L. Phuyal. 1994. Complex formation by human insulin-like growth factor-binding protein-3 and human acid-labile subunit in growth hormone-deficient rats. *Endocrinology*; 134:2402-9.
- Le Roith D., C. Bondy, S. Yakar, J.L. Liu, and A. Butler. 2001. The somatomedin hypothesis: *Endocr Rev* 22: 53-74.
- Le Roith, D., L. Scavo and A. Butler. 2001. What is the rol of circulating igf-1? *Endocr Metab. Mar*; 12(2):48-52.
- Li, J., X.Q. Ran and J.F. Wang. 2006. Identification and function of the growth hormone gene in Rongjiang pig of China. *Acta Physiologica Sinica*, 58 (3): 217-224.
- López, M.E., O. Muñoz, A.A. Torres y E.M. Muñoz. 2004. Hormona del crecimiento, destete y estado nutritivo. *An. R. Acad. Nac. Farm.* 70: 695-725.
- Martha, P.M.Jr, A.D. Rogol, J.D. Veldhuis and R.M. Blizzard. 1996. A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. II. The neuroendocrine growth hormone axis during late puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 81:4068-4074
- Mericq, V.G. y F.G. Cassorla. 1997. Sistema hormona del crecimiento-efector y su rol en el crecimiento infantil. *Rev. Chll. Pediatr.* 68 (1); 27-37.
- Müller, E.E., V. Locatelli, and D. Cocchi. 1999. Neuroendocrine Control of Growth Hormone Secretion. *Physiological Reviews* Vol. 79, No. 2.
- Muñoz, A. C. Riber, P. Trigo y F.M. Castejón. 2010. Acciones biológicas y factores determinantes de las concentraciones del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-1) en el caballo. *REDVET.* 1695-7504. Vol. 11 Núm. 06.
- Noble, G. K., E. Houghton, C. J. Roberts, J. Faustino-Kemp, S. S. de Kock, B. C. Swanepoel and M. N. Sillence. 2007. Effect of exercise, training, circadian rhythm, age, and sex on insulin-like growth factor-1 in the horse. *J Anim. Sci.* 85:163-171
- Páez, J.G. and W.R. Sellers. 2002. PI3K/PTEN/AKT pathway. A critical mediator of oncogenic signaling. T.H.E. Editor(s) (ed.), Book title, 1-6. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- Parkinson, C. and P.J. Trainer. 1999. Growth hormone receptor antagonists therapy for acromegaly. *Clinical Endocrinology and Metabolism* Vol. 13, No. 3, pp. 419-430.
- Pereda, S. M.E. 2003. Growth and development in farm species. *Agrofaz: ISSN* 1665-8892, Vol. 3, N°.1, pgs. 213-220
- Peterson, B. C, G. C. Waldbieser, and L. Bilodeau. 2005. Effects of recombinant bovine somatotropin on growth and abundance of mRNA for IGF-I and IGF-II in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) *J. Anim. Sci.* 83:816-824.
- Pfeifer, A.C., J. Timmer† and U. Klingmüller. 2008. Systems biology of JAK/STAT signaling. *Essays in Biochemistry* volume 45:110-120.
- Ramirez, L.N. 2007. Somatotrofina, somatoropina (STH) u hormona de crecimiento (GH) en animales domésticos. *Mundo Pecuario*, III, N° 2 y 3, 45-54.

- Rawlings, J.S., K.M. Rosler and D.A. Harrison. 2004. The JAK/STAT signaling pathway. *J. Cell Sci* 117:1281.
- Recabarren, S.E, A.L. Lobos, J. Ramírez, P. Orellana, J. Parilo, I. Agrón. y G. Iñiguez. 1998. Secreción pulsátil diurna y nocturna de hormona del crecimiento en ovejas prepúberes con y sin restricción alimentaria. *Arch. med. vet.* v.30 n.2
- Rodgers, D. B., E. H. Roalson and C. Thompson. 2008. Phylogenetic Analysis of the insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) and IGFBP-related protein gene families. *Gen Comp Endocrinol.* 155(1): 201–207.
- Rodríguez, A.D.M. y J. A. Rodríguez. 1999. Estudios analíticos y de imagen en el déficit de crecimiento. *Endocrinología básica y clínica. Síntesis, Madrid España.*
- Rosenfeld, G.R. and V. Hwa. 2009. The growth hormone cascade and its role in mammalian growth. *Horm. Res.* 71 (suppl 2):36-40.
- Sambrook J, Russell DW. 2001. *Molecular cloning: A Laboratory Manual.* Cold Spring Harbor Laboratory Press. 3rd edition. p 999. U.S.A.
- Scarfó, R. L. 2004. Factores de crecimiento muscular y entrenamiento de fuerza. *Fiscoculturismo.* Vol. 45, 456 - 470.
- Shalet, S.M., A. Toogood, A. Rahim and B.M.D. Brennan. 1998. The diagnosis of growth hormone deficiency in children and adults. *Endocrine Reviews,* 19:203.
- Schindler, C., D.E. Levy, and T. Decker. 2007. JAK-STAT Signaling: from interferons to cytokines. *J. of Biological Chemistry.* Vol. 282. Number 2
- Sherlock, M. and A. A. Toogood. 2007. Aging and the growth hormone/insulin like growth factor-I axis. *Pituitary* 10:189–203.
- Simmen, F.A., L Badinga, M. L. Green, I. Kwak, S. Song and R. C. M. Simmen. 1998. The porcine insulin-like growth factor system: at the interface of nutrition, growth and reproduction1, 2. *J. Nutr.* 128: 315S–320S.
- Statistix 9. 2008. Analytical software, Tallahassee FL 32317 USA.
- Sterle, J.A., T.C. Cantley, W.R. Lamberson, M.C. Lucy, D.E. Gerrard, R.L. Matteri, and B.N. Day. 1995. Effects of recombinant porcine somatotropin on placental size, fetal growth, and IGF-I and IGF-II concentrations in pigs. *J Anim Sci;* 73: 2980-2985.
- Subramani, T., A. Sakkarai, K. Senthilkumar, S. Periasamy, G. Abraham & S. Rao. 2007. Expression of insulin like growth factor binding protein-5 in drug induced human gingival overgrowth. *Indian J. Med. Res.* 125, pp 43-48.
- Talamantes, F. and R. Ortiz. 2002. Structure and regulation of expression of the mouse GH receptor. *J. of Endocrinology.* 175: 55–59.
- Treiber, K.H., Kronfeld, D.S., Staniar, W.B., Boston, R.C., Harris, P.A. 2005. Growth hormone and IGF-1 in thoroughbred weanlings are affected by diet. *En: Meeting on milk-fed farm and companion animals: basic aspects and practice for the future.* Bern, Switzerland, pp. 10-12.
- Ullrich, A., A. Gray, A. W. Tam, T. Yang-Feng, M. Tsubokawa, C. Collins, W. Henzel, T. Le Bon, S. Kathuria, E. Chen, S. Jacobs, U. Francke, J. Ramachandran and Y. Fujita-Yamaguchi. 1986. Insulin-like growth factor I receptor primary structure: comparison with insulin receptor suggests

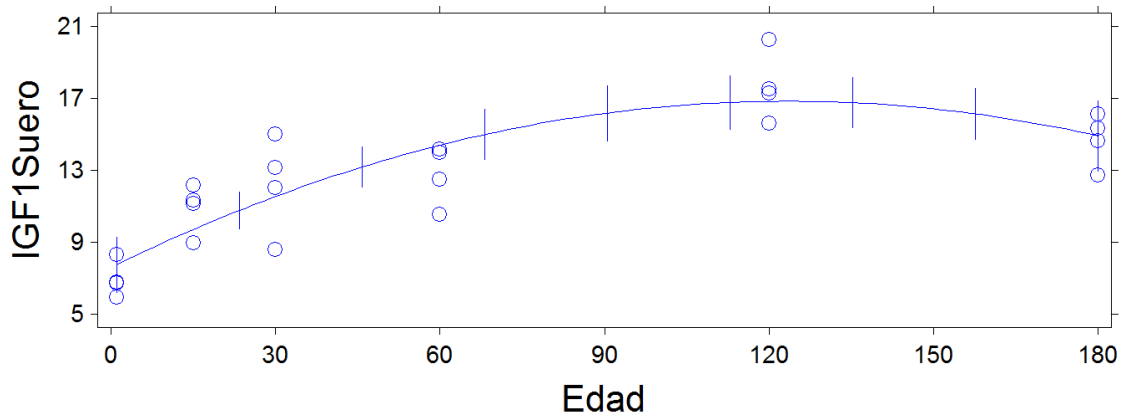
- structural determinants that define functional specificity. *The EMBO J.* vol.5 no. 10 pp. 2503 - 2512.
- Umaña, A. Carrasco S. y Sánchez M. 2003. Papel de la proteína supresora de la señalización por citocinas -3 (SOCS3) en la resistencia de la hormona del crecimiento inducida por malnutrición. *Biomédica* 23:301-8.
- Voss, T.C., M. Flynn and D.L. Hurley. 2001. IGF-I Causes an ultrasensitive reduction in GH mRNA levels via an extracellular mechanism involving IGF binding proteins. *Molecular Endocrinology* 15(9):1549-1558.
- Waters, M. J., H. N. Hoang, D. P. Fairlie, R. A. Pelekanos and R. J. Brown. 2006. New insights into growth hormone action. *J. Molecular Endocrinology.* 36:1-7.
- Weller, P.A., M.J. Dauncey, P.C. Bates, J.M. Brameld, P.J. Buttery and R.S. Gilmour. 1994. Regulation of porcine insulin-like growth factor I and growth hormone receptor mRNA expression by energy status. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 266: E776-E785.
- Wester, T.J., T.A. Davis, M.L. Fiorotto and D.G. Burrin. 1998. Exogenous growth hormone stimulates somatotrophic axis function and growth in neonatal pigs. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 274:29-37.

## APÉNDICE



$$GHSuero = 17.599 + 0.0768 * Edad - 3.63E-04 * Edad^2$$

Figura 9. Relación entre concentración sérica de GH y edad de los cerdos. Los valores corresponden al análisis de regresión múltiple.



$$IGF1Suero = 7.6045 + 0.1495 * Edad - 6.05E-04 * Edad^2$$

Figura 10. Relación entre la concentración sérica de IGF-1 y edad de los cerdos. Los valores corresponden al análisis de regresión múltiple.

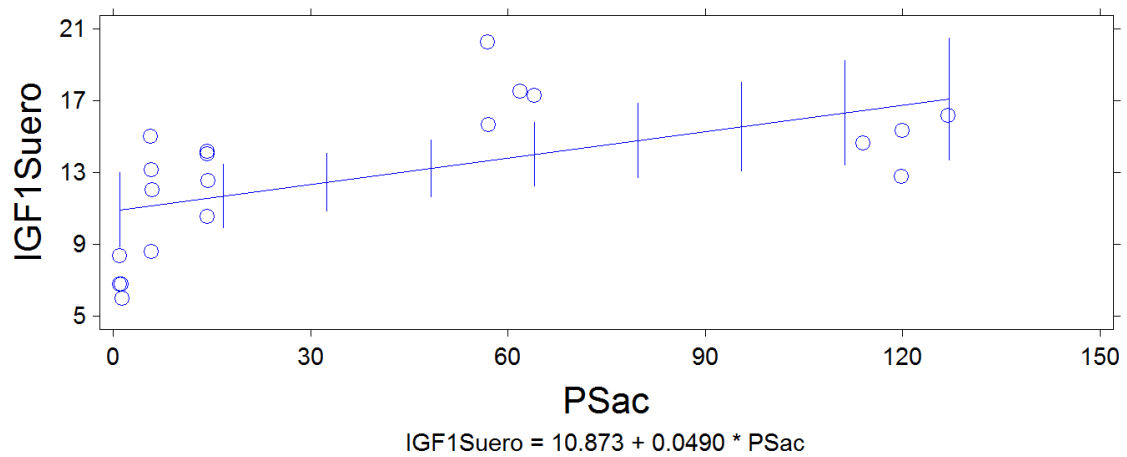


Figura 11. Relación entre la concentración sérica de IGF-1 y peso al momento del sacrificio (PSac). Los valores corresponden al análisis de regresión lineal.

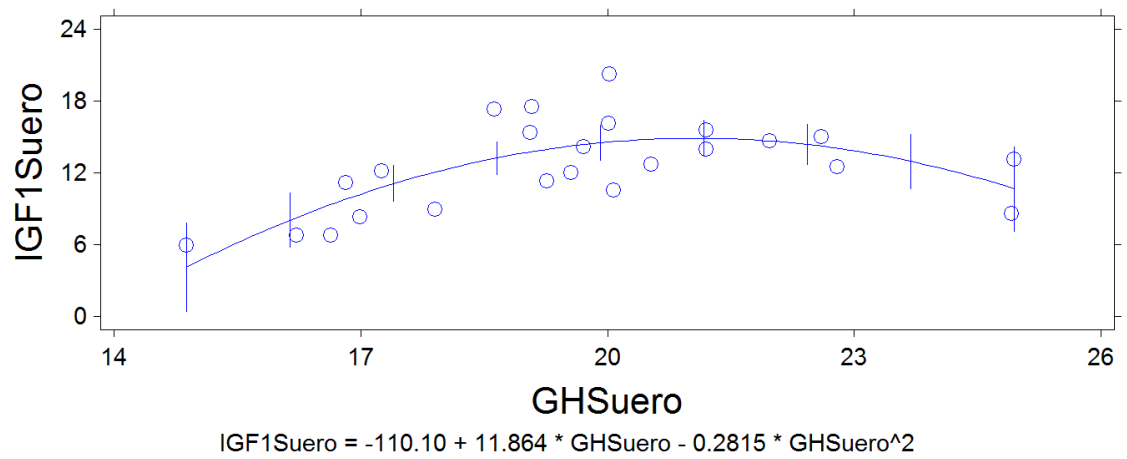
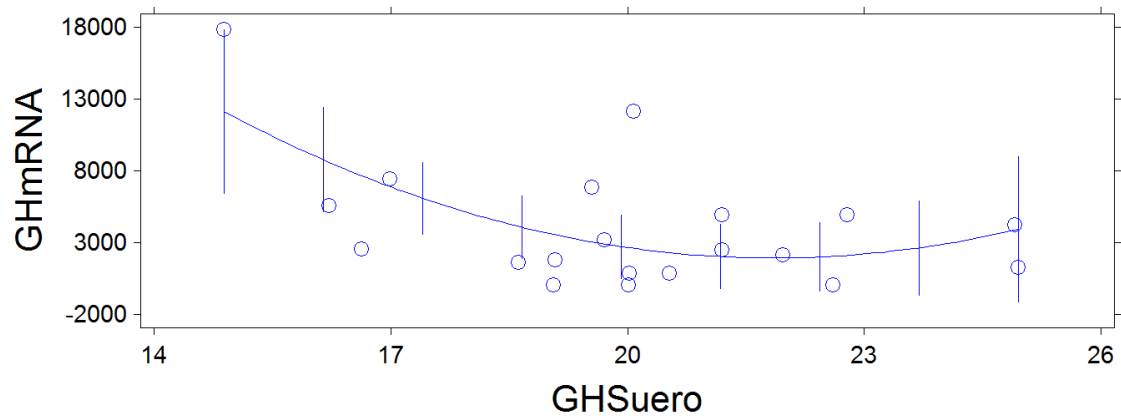
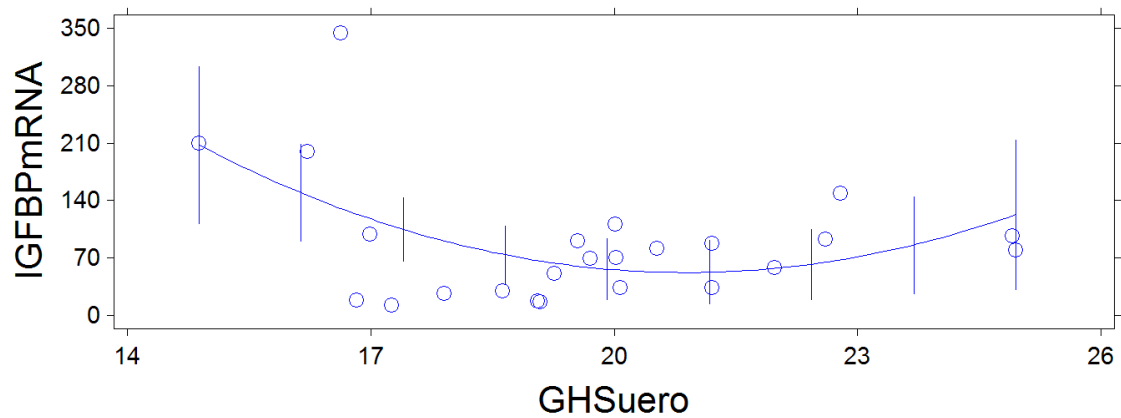


Figura 12. Relación entre la concentración sérica de GH y la concentración sérica de IGF-1. Los valores corresponden al análisis de regresión múltiple.



$$\text{GHmRNA} = 102116 - 9166.5 * \text{GHSuero} + 209.67 * \text{GHSuero}^2$$

Figura 13. Relación entre la concentración sérica de GH y su expresión en hipófisis. Los valores corresponden al análisis de regresión múltiple.



$$\text{IGFBPmRNA} = 1926.2 - 179.34 * \text{GHSuero} + 4.2907 * \text{GHSuero}^2$$

Figura 14. Relación entre la concentración sérica de GH y su expresión en hígado. Los valores corresponden al análisis de regresión múltiple.

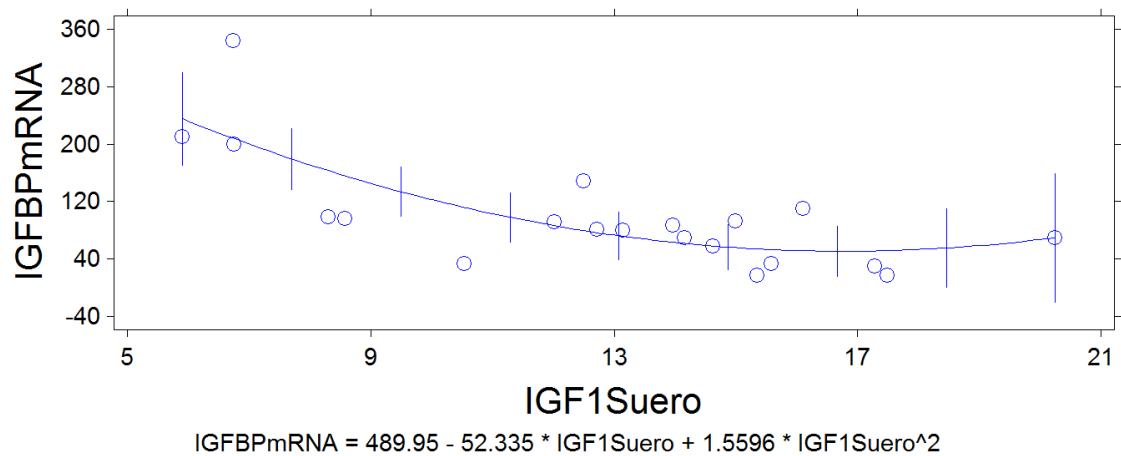


Figura 15. Relación entre la concentración sérica de IGF-1 y la expresión de IGBP en hígado. Los valores corresponden al análisis de regresión múltiple

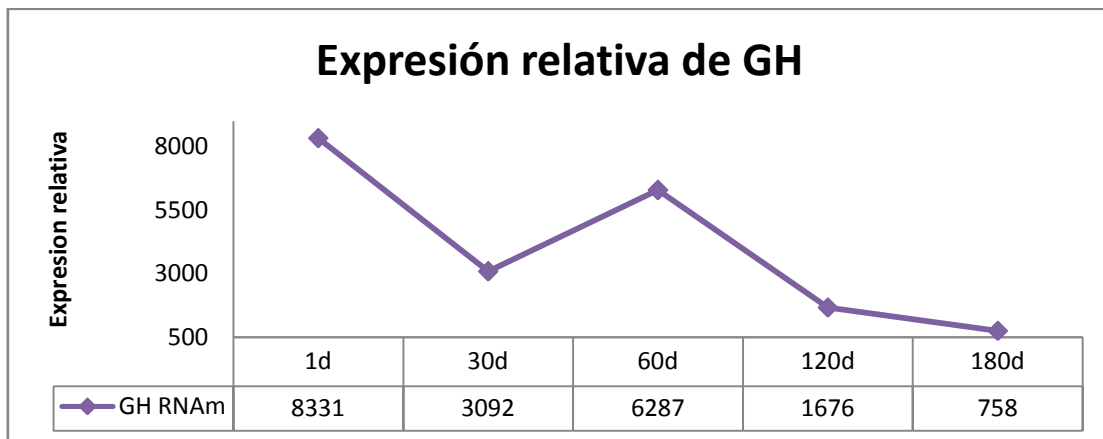


Figura 16. Expresión relativa de GH en cerdos de 1 a 180 d de edad.

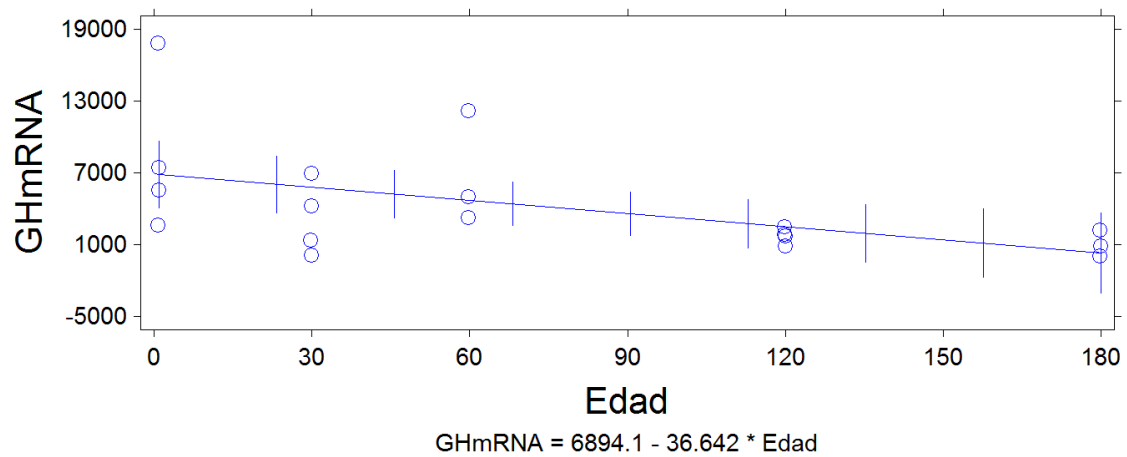


Figura 17. Relación entre la edad de los cerdos y la expresión de GH en hipófisis. Los valores corresponden al análisis de regresión lineal.

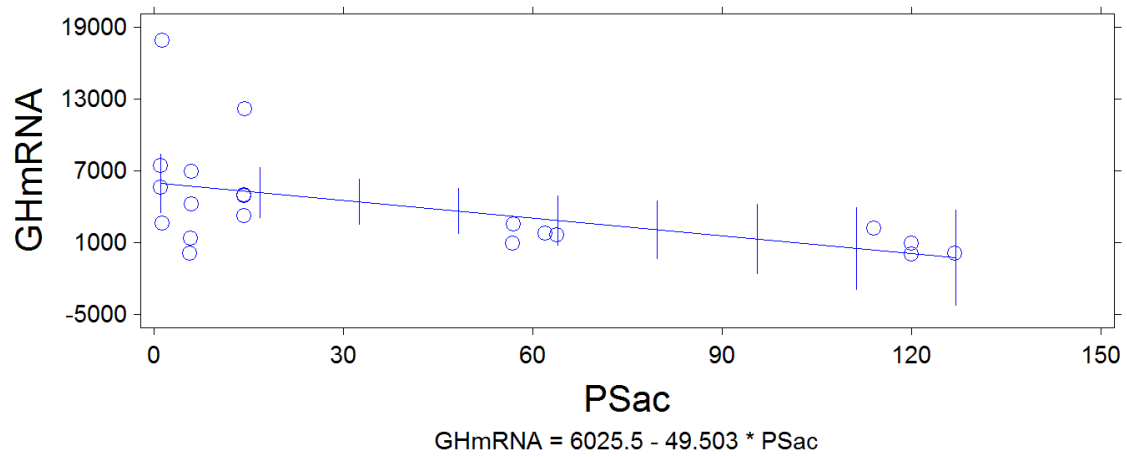


Figura 18. Relación entre la expresión de GH y el peso de los cerdos al momento del sacrificio (PSac). Los valores corresponden al análisis de regresión lineal.

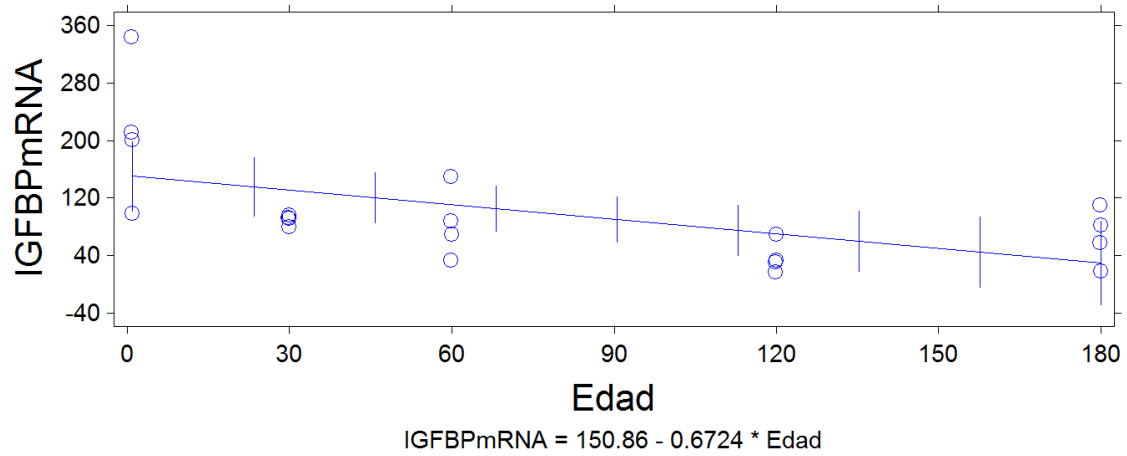


Figura 19. Relación entre la edad de los cerdos y la expresión de IGFBP en hígado. Los valores corresponden al análisis de regresión lineal.

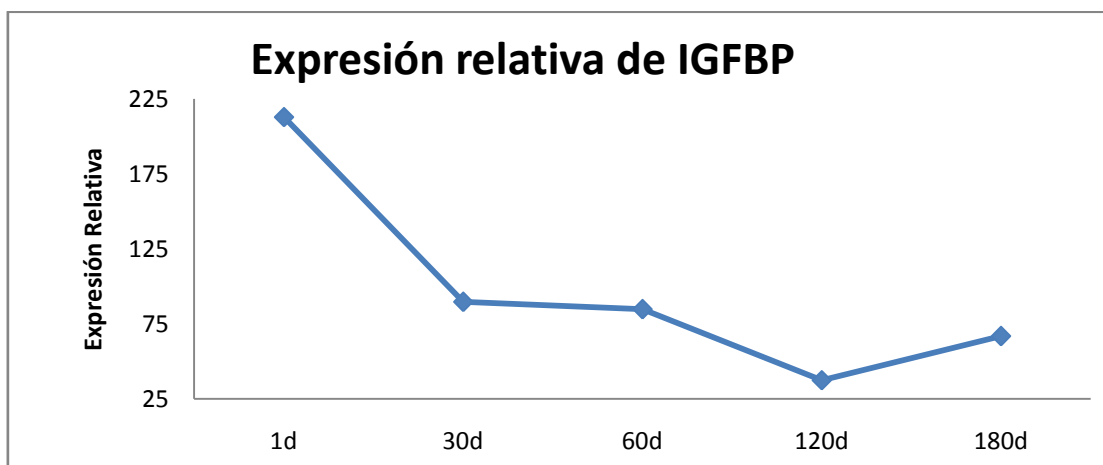


Figura 20. Expresión relativa de IGFBP en cerdos de 1 a 180 d de edad.