

Efecto de Melatonina Exógena en Guanacos (*Lama Guanicoe*) Bajo un Fotoperiodo de Días Largos*

CORREA L.M^{*1}; URVIOLAA²; RIVEROS J.L.³

^{1,2}Postgrado, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

³Departamento de Ciencias Animales, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

INFORMACIÓN DEL ARTICULO

Art. Recibido 24/julio/2015
Art. Aceptado 20/octubre/2015
online: 30/diciembre/2015

PALABRAS CLAVE:

* cautiverio
* fotoperiodo
* guanacos
* melatonina exógena

RESUMEN

La adición de melatonina exógena, mediante implantes subcutáneos, es capaz de restaurar la respuesta al fotoperiodo de manera dependiente de la duración y adición de la hormona e independiente de la época del año. Este estudio evaluó la respuesta al tratamiento con melatonina exógena en guanacos ya se mencionó el nombre científico del guanaco en el título, y se debe obviar en el resumen en cautiverio, bajo un fotoperiodo de días largos (16L/8O). El estudio se realizó en la zona mediterránea de Chile. Se estudiaron 14 guanacos adultos. Se midieron las concentraciones basales máximas y mínimas de melatonina. Posteriormente, se asignaron dos grupos al azar: grupo control (GC; n=7) y grupo tratamiento (GT; n=7), al que se le aplicó dos parches de melatonina, cada 23 días por 6 semanas, para bloquear el efecto de la luz ambiental. Se colectaron muestras de sangre, pre y post aplicación de los parches, 3 veces por semana en el día, durante 6 semanas. La concentración de melatonina se midió a través de ELISA competitivo. La concentración basal promedio en el día fue de 16.07pg/mL y en la noche de 52.14 pg/mL. La concentración media de melatonina en GC fue de 9.02pg/mL y en GT fue de 216.58pg/mL (organizador P<0.001). Las concentraciones promedio del GT fueron 25 veces mayores al GC. Los resultados obtenidos son similares a los observados en otras especies. En conclusión, el tratamiento con melatonina exógena en guanacos bajo un fotoperiodo de días largos (16L/8O), es efectivo y provoca un incremento en la concentración basal en sangre.

* Artículo presentado al VII Congreso Mundial en Camélidos Sudamericanos, llevado a cabo en la ciudad de Puno - Perú, los días 28 al 30 de octubre del 2015.

INTRODUCCIÓN

A diferencia de las especies domésticas de camélidos suramericanos, el guanaco se caracteriza por una estrategia de reproducción estacional, donde concentran su temporada reproductiva durante los días que aumentan las horas luz y anestro durante el resto del año (Franklin, 1982; Riveros *et al.*, 2014). Esto sugiere que en esta especie existe un sistema de señalización neuroendocrino que es sincronizado por el fotoperiodo (Bronson, 1989; Prendergast *et al.*, 2009). La traducción de la señal lumínica ambiental a hormonal, está dada por la melatonina, una indolamina producida en la glándula pineal, la cual presenta un ritmo de secreción circadiana, con concentraciones altas en la noche y bajas durante el día (Lincoln, 1992; Malpoux *et al.*, 1996). La duración y la amplitud del ritmo de secreción de la melatonina dependen directamente del fotoperiodo y la latitud en que se encuentre el individuo. En latitudes altas, los caprinos presentan en invierno concentraciones máximas melatonina de 60 pg/mL durante 18 horas, comparado a lo que sucede en verano alcanzando valores máximos de 50 pg/mL durante 8 horas ($P < 0.05$) (Alila-Johansson *et al.*, 2001). Estudios previos muestran que a una latitud de 33°S y bajo un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad, las concentraciones máximas fisiológicas de melatonina plasmática en guanacos hembras durante la noche son de 52.14 ± 17.20 pg/mL (Correa, 2015). La adición de melatonina exógena, mediante implantes subcutáneos, es capaz de restaurar la respuesta del fotoperiodo dependiendo de la duración y adición de la hormona e independiente de la época del año (O'Callaghan *et al.*, 1991; Bartness *et al.*, 1993; Goldman, 2001). Por lo tanto el objetivo de este estudio es evaluar la respuesta al tratamiento con melatonina exógena en guanacos (*Lama guanicoe*) en cautiverio, bajo un fotoperiodo de días largos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la zona mediterránea de Chile ($33^{\circ}38'28''S$, $70^{\circ}34'27''W$) durante el mes de noviembre, bajo un fotoperiodo de días largos (16 horas de luz y 8 horas de oscuridad). Se estudiaron 14 guanacas adultas, de aproximadamente 10 ± 4 años, no preñadas, no lactantes y sanas. Se alimentaron en base a heno de alfalfa, pastos naturales y agua *ad libitum*. Se asignaron dos grupos al azar: grupo control (GC; $n=7$) y grupo tratamiento (GT; $n=7$), al que se le aplicó dos parches de melatonina (Melovine®, 18 mg, CEVA Salud Animal) cada 23 días 6 semanas, con el fin de llegar a las concentraciones fisiológicas máximas y bloquear el efecto de la luz ambiental. Se colectaron muestras de sangre en tubos al vacío de 5 ml con EDTA en duplicado, pre y post aplicación de los parches, 3 veces por semana en el día (9 horas) durante 6 semanas, a través de venipunción yugular derecha. El muestreo se realizó en una infraestructura diseñada para la especie. La inmovilización se llevó a cabo en una manga bajo la privación de la visión, procurando el bienestar del animal. La concentración de melatonina plasmática se midió a través de ELISA competitivo, con un kit comercial (Melatonin ELISA, RE54021, IBL®), con una sensibilidad mínima analítica de 1,6 pg/mL, precisión intra e inter ensayo de 8.8-151.7 pg/mL y 5.6-134.3 pg/mL y un rango de medición de 0 a 300 pg/mL.

Los datos fueron sometidos a la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y normalizados (Log10). Se realizó un ANOVA para muestras repetidas (ANDEVA) para detectar diferencias en las concentraciones hormonales entre grupos (GC y GT) y semanas. Los resultados se presentan mediante media aritmética y desviación estándar. Todos los análisis estadísticos fueron realizados usando SPSS versión 18.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los resultados de las concentraciones de melatonina en plasma del grupo control y tratamiento, durante las 6 semanas. La concentración media de melatonina en GC fue de 9.02 ± 7.94 pg/mL y en GT fue de 216.58 ± 172.5 pg/mL ($P < 0.001$). Las concentraciones promedio del GT son 25 veces mayores al GC. Además, se observaron diferencias significativas en las concentraciones entre la semana cero y las restantes en GT ($P < 0.001$). En GC se observó una disminución significativa en las concentraciones de melatonina de las semanas 2 y 3, en comparación a las restantes ($P < 0.001$) (Fig. 1).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Este estudio presenta por primera vez las concentraciones basales de melatonina en guanacos, bajo un fotoperiodo de días largos y su respuesta al tratamiento con melatonina exógena, en una latitud de $33^{\circ}28'S$. Los resultados obtenidos son similares a los observados en camellos (*Camelus dromedarius*) a una latitud de $27^{\circ}50'N$ y concentraciones entre los 70 y 10 pg/mL, durante el solsticio de verano (El Allali *et al.*, 2005), en ciervo rojo (*Cervus elaphus hispanicus*) con concentraciones máximas de 66.9 ± 6.5 pg/mL (García *et al.*, 2003) y de caprinos (Delgadillo y Chemineau, 1992) y bovinos (Berthelot *et al.*, 1990) en Francia ($46^{\circ}N$), entre los 100 y 10 pg/mL y 90 a 5 pg/mL, respectivamente. El tratamiento con melatonina exógena en guanacos logró incrementar aproximadamente 25 veces la concentración basal en sangre, lo que demuestra la efectividad del parche. Estos resultados son superiores a los observados por Stanisiewski y su equipo en 1988, donde compararon la respuesta a tratamientos con melatonina exógena y su efecto compensatorio en terneros pinealectomizados y terneros controles, sin periodos de oscuridad. Allí, la infusión de melatonina incrementó en ambos grupos las concentraciones medias de melatonina en suero de 7.2 a 18 veces por encima de los valores basales observados antes de la infusión. Por lo tanto, se sugiere realizar estudios futuros donde se compare la efectividad del parche a diferentes dosis menores a las observadas en nuestro estudio. Las concentraciones de melatonina y la respuesta al parche, presentan una alta variabilidad entre individuos, lo que se puede atribuir a una diferencia en la respuesta y susceptibilidad al estrés de cada individuo durante el muestreo (Stankov y Kanchev, 1988). Las concentraciones de melatonina en plasma pueden verse afectados negativamente por el estrés (López-Patiño *et al.*, 2014), dado que el aumento del cortisol puede llegar a disminuir en el mRNA y la actividad enzimática de la N-acetiltransferasa (NAT), enzima limitante de la velocidad de producción de melatonina (Klein, 2007). En camélidos sudamericanos

domésticos, se ha observado que la punción venosa repetida carecería de respuesta a estrés, evaluada en las concentraciones de cortisol sérico (Anderson *et al.*, 1999).

En conclusión, el tratamiento con melatonina exógena en guanacos bajo un fotoperiodo de días largos (16L/8O) a una latitud 33°28'S, es efectivo y provoca un incremento en la concentración basal en sangre. Por lo tanto, el tratamiento con melatonina exógena en guanacos, podría ser una potencial herramienta para el manejo reproductivo en esta especie en cautiverio, como se ha hecho previamente en ovinos y caprinos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alila-Johansson, A., L. Eriksson, T. Soveri y M.L. Laakso. 2001. Seasonal variation in endogenous serum melatonin profiles in goats: A difference between spring and fall? *Journal of biological rhythm* 16(3): 254-263.

Anderson, D., F. Silveira, y T. Grubb. 1999. Effects of venipuncture and correlation of plasma, serum and saliva cortisol concentration with transportation stress in camelids. *Journal of Camel Practice and Research* 6: 249-254.

Bartness, T., J. Powers, M. Hastings, E. Bittman y B. Goldman. 1993. The timed infusion paradigm for melatonin delivery: what has it taught us about the melatonin signal, its reception, and the photoperiodic control of seasonal responses? *Journal of Pineal Research* 15:161-190.

Berthelot, X., M. Laurentie, J.P. Ravault, J. Ferney, y P.L. Toutain. 1990. Circadian profile and production rate of melatonin in the cow. *Domestic animal endocrinology* 7(3): 315-322.

Bronson, F.H. 1989. *Mammalian reproductive biology*. University of Chicago Press.

Correa, L.M. 2015. Respuesta hormonal y conductual a cambios en la intensidad lumínica en guanacos (*Lama guanicoe*) en cautiverio. Tesis Magister en Ciencias Animales. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Delgadillo, J., y P. Chemineau. 1992. Abolition of the seasonal release of luteinizing hormone and testosterone in Alpine male goats (*Capra hircus*) by short photoperiodic cycles. *Journal of Reproduction and Fertility* 94: 45- 55.

El Allali, K., M.R. Achaaban, B. Vivien Roels, B. Bothorel, N.S. Tligui, y P. Pevet. 2005. Seasonal variations in the nycthemeral rhythm of plasma melatonin in the camel (*Camelus dromedarius*). *Journal of Pineal Research* 39(2): 121-128.

Franklin, W.L. 1982. Biology, ecology, and relationship to man of the South American camelids. *Mammalian Biology in South America*, 6, 457-489.

García, A., T. Landete-Castillejos, L. Zarazaga, J. Garde, y L. Gallego. 2003. Seasonal changes in melatonin concentrations in female Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*). *Journal of Pineal Research* 34: 161-166.

Goldman, B. 2001. Mammalian Photoperiodic System: Formal Properties and Neuroendocrine Mechanisms of Photoperiodic Time Measurement. *Journal of Biological Rhythms*. 16(4):283-301.

Klein, D.C. 2007. Arylalkylamine N-acetyltransferase: «the Timezyme». *Journal of biological chemistry* 282(7): 4233-4237.

Lincoln, G. 1992. Photoperiod-pineal-hypothalamic relay in sheep. *Animal reproduction science* 28:203-217.

López-Patiño, M.A., M. Gesto, M. Conde-Sieira, J.L. Soengas, y J.M. Míguez. 2014. Stress inhibition of melatonin synthesis in the pineal organ of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is mediated by cortisol. *The Journal of experimental biology* 217(8):1407-1416.

Malpoux, B., C. Viguié, D. Skinner, J. Thiéry, J. Pelletier, y P. Chemineau. 1996. Seasonal breeding in sheep: mechanism of action of melatonin. *Animal reproduction science* 42:109-117.

Prendergast, B., I. Zucker, y R. Nelson. 2009. Seasonal rhythms of mammalian behavioral neuroendocrinology. D.W. Pfaff (Ed.), *Hormones, Brain, and Behavior*, Elsevier/Academic Press, Amsterdam/Boston.

O'Callaghan, D., F. Karsch, M. Boland y J. Roche. 1991. What photoperiodic signal is provided by a continuous-release melatonin implant? *Biology of Reproduction*. 45(6):927-933.

Riveros, J.L., L. Correa, y D. Rodríguez. 2014. Effect of increasing photoperiod on follicle dynamics in captive guanaco (*Lama guanicoe*). *Reproduction in domestic ruminants VIII (9th IRRS)*, Obihiro City, Hokkaido, Japan, pp 609.

Stankov, B., y L.N. Kanchev. 1988. Influence of acute stress on the pineal activity during day- and nighttime. *Acta Physiologica Polonica*, 40(1): 116-125.

Stanisiewski, E., N. Ames, L. Chapin, C. Blaze y H. Tucker. 1988. Effect of Pinealectomy on Prolactin, Testosterone and Luteinizing Hormone Concentration in Plasma of Bull Calves Exposed to 8 or 16 Hours of Light Per Day. *Journal of animal science*, 66:464-469.

Tablas y figuras

Tabla 1. Concentraciones de melatonina plasmática en guanacos con y sin tratamiento de melatonina exógena durante 6 semanas, bajo un fotoperiodo de días largo, en una latitud de 33°28'S. Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$).

Semana	Melatonina (pg/mL)	
	Control	Tratamiento
0 (pre tratamiento)	15.28 ^a ± 7.27	14.88 ^a ± 5.45
1	9.19 ^a ± 13.42	257.6 ^b ± 111.10
2	1.89 ^c ± 13.42	239.65 ^b ± 180.55
3	5.7 ^c ± 3.31	233.65 ^b ± 180.55
4	8.29 ^a ± 1.90	301.42 ^b ± 178.02
5	13.36 ^a ± 9.12	290.16 ^b ± 257.08
6	9.31 ^a ± 3.27	224.83 ^b ± 157.6

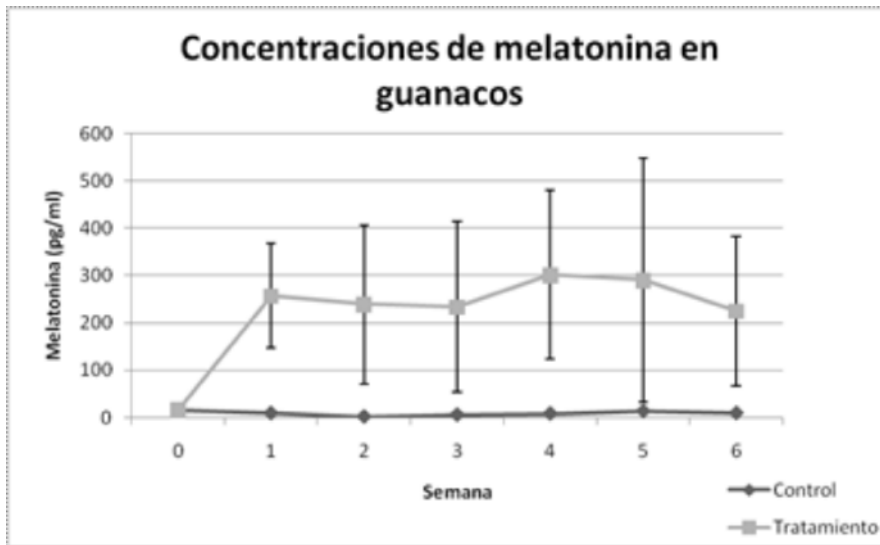


Figura 1. Concentraciones de melatonina plasmática de guanacos (*Lama guanicoe*) en grupo control y con tratamiento de melatonina exógena, bajo un fotoperiodo de días largos, en una latitud de 33°28'S.