



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
UNIDAD REGIONAL UNIVERSITARIA DE ZONAS ÁRIDAS

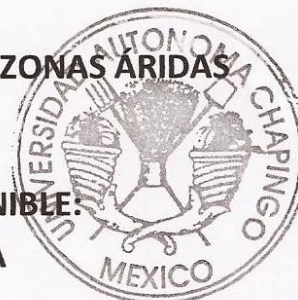
**SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMATO, INICIO DE
PUBERTAD Y METABOLITOS SANGUÍNEOS EN CABRAS:
GLUCOSA Y COLESTEROL**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL DOBLE GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE EN ZONAS ÁRIDAS
(UACH-URUZA, MÉXICO)**

**MASTER EN ZOOTECNIA Y GESTIÓN SOSTENIBLE:
GANADERÍA ECOLÓGICA E INTEGRADA
(UCO-IDEP, ESPAÑA)**



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

PRESENTA:

MARÍA DE JESÚS SOTO SÁNCHEZ

DIRECTOR:

Ph.D. CESAR A. MEZA HERRERA



Bermejillo Durango México, Mayo 2013.

SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMATO, INICIO DE PUBERTAD Y METABOLITOS SANGUÍNEOS EN CABRAS: GLUCOSA Y COLESTEROL

Tesis realizada por **María de Jesús Soto Sánchez** bajo la dirección del Comité Asesor, aprobada y aceptada como requisito para obtener el grado de:

**Maestro en Ciencias en Recursos Naturales
y Medio Ambiente en Zonas Áridas**

**Máster en Zootecnia y Gestión Sostenible:
Ganadería Ecológica e Integrada**

Director



Dr. César A. Meza Herrera
Universidad Autónoma Chapingo - URUZA, México.

Asesor



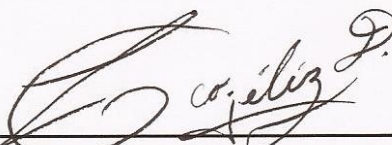
Dr. Antón R. García Martínez
Universidad de Córdoba – IDEP, España.

Asesor



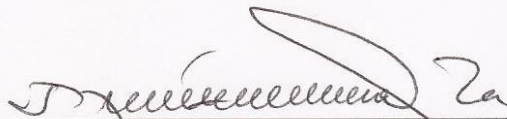
Dr. Juan M. Serradilla Manrique
Universidad de Córdoba – IDEP, España.

Asesor



Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.

Asesor



Dr. Rafael Rodríguez Martínez
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.

Bermejillo, Durango, México, Mayo, 2013.

SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMATO, INICIO DE PUBERTAD Y METABOLITOS SANGUÍNEOS EN CABRAS: GLUCOSA Y COLESTEROL

Tesis realizada por **María de Jesús Soto Sánchez** bajo la dirección del Comité Asesor, aprobada y aceptada como requisito para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas

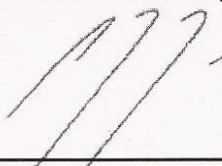
Director



Dr. César A. Meza Herrera

Universidad Autónoma Chapingo - URUZA, México.

Asesor



Dr. Antón R. García Martínez

Universidad de Córdoba – IDEP, España.

Asesor



Dr. Juan M. Serradilla Manrique

Universidad de Córdoba – IDEP, España.

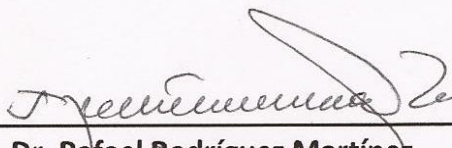
Asesor



Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.

Asesor



Dr. Rafael Rodríguez Martínez

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.

Bermejillo, Durango, México, Mayo, 2013.

TRABAJO FIN DE MÁSTER. ACTA DE EVALUACIÓN

Máster Universitario en: **ZOOTECNIA Y GESTIÓN SOSTENIBLE, GANADERIA ECOLÓGICA E INTEGRADA**

Alumno/a: **María de Jesús Soto Sánchez**
DNI: G06956807

Título del Trabajo Fin de Máster: **SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMATO, INICIO DE PUBERTAD Y METABOLITOS SANGUÍNEOS EN CABRAS: GLUCOSA Y COLESTEROL**

Tutor/a: DR. D. CESAR ALBERTO MEZA HERRERA Y DR. D. ANTÓN GARCÍA MARTÍNEZ

TRIBUNAL EVALUADOR:

(De 3 a 5 miembros)

(Si algún miembro del tribunal no es de la UCO, indicar procedencia)

Presidente/a: JUAN VICENTE DELGADO BERMEJO

Secretario/a: RAQUEL ACERO DE LA CRUZ

Vocal: JOSÉ MANUEL PEREA MUÑOZ

CALIFICACIÓN NUMÉRICA (0-10): 9

CALIFICACIÓN ALFABÉTICA: SOBRESALIENTE

Córdoba, 18 de OCTUBRE de 2012

Presidente/a

Secretario/a

Vocal

Fdo.: Juan Vicente Delgado

Fdo.: Raquel Acero

Fdo.: José Manuel Perea

*Se hace patente un reconocimiento al apoyo recibido
para el desarrollo de la presente investigación:*

Programa de Becas Mixtas en el Extranjero, para becarios CONACYT nacionales 2011-2012.

*Programa de Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas 2011-2012
(UACH-URUZA).*

Dirección General de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma Chapingo.

Instituto de Estudios de Posgrado de la Universidad de Córdoba, España (IDEP-UCO).

DEDICATORIA

A mi familia, mis dos pedazos de vida Diego y Azul Fernanda, por ustedes todo es posible.

A mi padre porque a pesar de todo sé que estas ahí.

A mi madre Juana Sánchez que le debo mucho, más que la vida.

Y mi mayor pilar, mi amigo incondicional Marcial Gálvez Martínez; te amo mi vida

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser mi guía y a mi Familia por su apoyo incondicional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo brindado en el tiempo que realice mis estudios de maestría, así como para la realización de una estancia en la Universidad de Córdoba, España.

Al Ph.D. César A. Meza-Herrera, quien depositó sobre mí su confianza y me ha alentado con sus conocimientos a seguir preparándome profesionalmente, además de brindarme la gran oportunidad de culminar el proceso de doble titulación, y llevar a cabo este trabajo de Máster.

A mis asesores que contribuyeron y enriquecieron el presente trabajo

A todos los profesores que tuve la gran oportunidad de aprender de ellos, tanto en el Programa de Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas UACH-URUZA, como en el Máster en Zootécnica y Gestión Sostenible: Ganadería Ecológica e Integrada del Departamento de Producción Animal de la Universidad de Córdoba, España

A todos los que de una u otra forma participaron en esta etapa de mi vida, trabajadores, administrativos de URUZA y compañeros de la maestría: Guadalupe, Rosario, Luis, Cinthia, Oli, Mali, Laura, Anai, Diana, Julio.

DATOS BIOGRÁFICOS

El presente trabajo fue realizado por María de Jesús Soto Sánchez, Ingeniero Agrónomo en Sistemas Pecuarios de Zonas Áridas, título obtenido en la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA) departamento perteneciente a la Universidad Autónoma Chapingo, generación 2005-2010.

Los estudios de maestría los realizó en el Programa en Recursos Naturales y Medio Ambiente de Zonas Áridas en URUZA-UACH, generación 2011-2012. Asimismo, durante el periodo enero - julio, 2012, desarrolló una estancia de investigación en la Universidad de Córdoba, España realizando el Máster en Zootécnica y Gestión Sostenible: Ganadería Ecológica e Integrada, en el Departamento de Producción Animal, cumpliendo con los requisitos para obtener la doble titulación.

Ha participado en diversas publicaciones:

Glutamate supply positively affects serum release of triiodothyronine and insulin across time without increases of glucose during the onset of puberty in female goats. ***Animal Reproduction Science***. Vol.125: 74–80 2011.

The expression of birth weight is modulated by the breeding season in a goat model. ***Annals of Animal Science***. 12(2):237-245.

Impacto de la composición, rendimientos y precios en la agricultura del estado de baja california sur, México de 1990 a 2006. ***Revista Chapingo Serie Zonas Áridas***. Vol. 9: 153-165 2010.

Producción, productividad, rentabilidad y empleo en el cultivo de nogal (*carya illinoensis*) irrigado por bombeo en el sector de la pequeña propiedad en la laguna de 1990 a 2006. ***Revista Chapingo Serie Zonas Áridas***. Vol. 9: 167-176 2010.

Suplementación de glutamato, circunferencia escrotal & niveles séricos de igf-1 en machos caprinos bajo fotoperíodos crecientes. ***Revista Chapingo Serie Zonas Áridas***. Vol. 10: 53-60 2011.

Suplementación de glutamato, inicio de pubertad y metabolitos sanguíneos en cabras: II. Glucosa y colesterol. ***VII Congreso Nacional sobre Recursos Bióticos en Zonas Áridas***. Universidad Autónoma Chapingo. URUZA, Bermejillo, Durango, México. Octubre, 2011, p. 332-342.

Suplementación de glutamato, inicio de pubertad y metabolitos sanguíneos en cabras: I. Proteína total y urea. ***VII Congreso Nacional sobre Recursos Bióticos en Zonas Áridas***. Universidad Autónoma Chapingo. URUZA, Bermejillo, Durango, México. Octubre, 2011, p. 320-331.

SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMATO, INICIO DE PUBERTAD Y METABOLITOS SANGUINEOS EN CABRAS: GLUCOSA Y COLESTEROL

GLUTAMATE SUPPLEMENTATION, ONSET OF PUBERTY AND BLOOD METABOLITES IN GOATS: GLUCOSE AND CHOLESTEROL

Soto-Sánchez María de Jesús¹, Meza-Herrera César²

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto de la suplementación de glutamato sobre el inicio de la pubertad y posibles cambios en las concentraciones séricas de colesterol (CL) y glucosa (GLU). El estudio se realizó de junio a noviembre (26^oN) en cabras hembras prepúberes (n = 18, de 3 meses de edad, 7/8 Saanen-Alpine, 1/8 Criollo) asignadas aleatoriamente a dos grupos experimentales: (1) el grupo tratado con aminoácidos excitadores (AAE, n = 10; 16,52 ± 1,04 kg peso vivo (PV) 3.4 ± 0.12 condición corporal (CC)), recibieron una infusión intravenosa de 7 mg kg⁻¹ PV de L-glutamato, dos veces por semana, y (2) el grupo control (CC, n = 8; 16.1 ± 1.04 kg PV, 3.1 ± 0.12 CC) el cual recibió solución salina. El grupo AAE presentó un mayor porcentaje de hembras que entraron en pubertad respecto al grupo CC (70% vs. 25%, p<0,05). No existieron diferencias entre tratamientos respecto a los promedios globales para colesterol o glucosa (77.89 ± 1.10 mg mL⁻¹ y 94.5 ± 0.46 mg mL⁻¹, p>0.05, respectivamente). Sin embargo, se observó un efecto de la interacción tratamiento x tiempo (p<0.05), al incrementarse los niveles séricos de CL hacia el último tercio del período experimental, coincidente con el momento en el cual ocurrió el inicio de la pubertad en el grupo AAE. Asimismo, se observó una tendencia (p=0.07) para incrementos en las concentraciones de glucosa a través del tiempo en el grupo suplementado. Los resultados indican que, en cabras prepúberes, el glutamato actúa sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas para promover el inicio de la pubertad, lo cual se relacionó positivamente con los niveles séricos de CL. Por lo anterior, en cabras, el perfil sérico de colesterol podría actuar como modulador metabólico en el establecimiento de la pubertad, sugiriendo además una acción positiva del glutamato en la modulación del metabolismo de lípidos.

Palabras clave: Glutamato, Glucosa, Colesterol, Pubertad, Cabras.

SUMMARY

This study evaluated the effect of glutamate supplementation upon the onset of puberty and possible changes in serum cholesterol (CL) and glucose (GLU). The study was conducted from June to November (26^oN) in prepubertal goats (n = 18; 3 months old, 7/8 Saanen-Alpine, 1/8 Criollo, 26^oN) which were randomly assigned into two experimental groups: (1) excitatory amino acids (AAE, n = 10, 16.52 ± 1.04 kg live weight (LW) 3.4 ± 0.12 body condition score (BCS)), receiving an intravenous infusion of 7 mg kg⁻¹ LW of L-glutamate twice per week, and (2) the control group (CC, n = 8, 16.1 ± 1.04 kg LW, 3.1 ± 0.12 BCS) which received saline solution. The AAE group had a higher percentage of females showing puberty than the CC group (70% vs. 25%, p<0.05). No differences for the overall averages for cholesterol or glucose (77.89 ± 1.10 mg mL⁻¹ and 94.5 ± 0.46 mg mL⁻¹, p> 0.05, respectively) were observed between treatments. However, an interaction effect (treatment x time; P<0.05) was observed, with an increased serum CL level towards the last third of the experimental period, coincident with the time at which the onset of puberty occurred in the AAE group. Besides, a trend (p=0.07) for an increased glucose concentrations across time was observed in the supplemented group. Results indicate that in prepubertal goats, glutamate supplementation positively affects the hypothalamic-pituitary-gonad axis, promoting not only an increased percentage but an earlier onset of puberty, which was positively associated with increased serum levels of CL across time. Therefore, in goats, serum cholesterol profile could act as a metabolic modulator for the establishment of puberty, denoting a positive role of glutamate as modulator of lipid metabolism.

Keywords: Glutamate, Glucose, Cholesterol, Puberty, Goats.

¹ Tesista

² Director

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
DATOS BIOGRÁFICOS	vii
ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS	xi
ABREVIATURAS	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	4
2.1 Hipótesis	4
2.2 Objetivos.....	4
III. REVISION DE LITERATURA.....	5
3.1 Importancia de la producción caprina en México	5
3.2 Estacionalidad reproductiva en la cabra	7
3.2.1 Efectos de fotoperiodo.....	9
3.3 Etapa de pubertad.....	12
3.3.1 La pubertad: una reactivación del sistema secretor de GnRH	13
3.4 El sistema KiSS1/GPR54	15
3.4.1 Las kisspeptinas en el control metabólico de la reproducción	19
3.5 El estado nutricional y su relación con la reproducción.....	22
3.6 La Glucosa	26
3.6.1 Papel de la glucosa en la reproducción.....	28
3.7 El colesterol	30
3.7.1 El colesterol como precursor de hormonas.....	31
3.8 Neurotransmisores.....	34
3.8.1 Neurotransmisores inhibitorios	35
3.8.2 Los aminoácidos excitadores: Glutamato	36
3.8.3 El glutamato en la reproducción	38
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	42
4.1 Localización del área de estudio	42
4.3 Diseño de tratamientos y preparación de la solución buffer.....	43
4.4 Muestreo sanguíneo intermitente	43

4.5	Cuantificación de progesterona y determinación del inicio de la pubertad.	44
4.6	Cuantificación de metabolitos sanguíneos.....	44
4.7	Análisis estadístico	45
4.8	Modelos estadísticos.....	46
V.	RESULTADOS.....	49
VI.	DISCUSIÓN	52
VII.	CONCLUSIONES	61
VIII.	LITERATURA CITADA.....	62

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

CUADROS

No.	Título	Pág.
1	Medias de mínimos cuadrados para PV, CC, concentraciones séricas de glucosa y colesterol y porcentaje de cabras en pubertad.	49

FIGURAS

No.	Título	Pág
1	Producción nacional de leche frescacaprina en México 2006-2010.	6
2	Esquema de la propuesta del circuito de retroalimentación positiva de estradiol-KiSSpeptina-GnRH.	17
3	Representación esquemática de los posibles mecanismos para la transmisión de las acciones de la leptina/sistema KiSS-1.	20
4	Estructura de la glucosa	26
5	Estructura del colesterol	31
6	Síntesis de andrógenos y estrógenos	33
7	Receptores de glutamato	37
8	Inicio de pubertad AAE=Grupo suplementado con Glutamato (207 ± 9 días) y CONT=Grupo control (225 ± 12 días) y fotoperiodo natural decreciente durante el periodo experimental	50
9	Concentraciones séricas de glucosa a través del tiempo en cabras suplementadas con glutamato (AAE) y grupo control (CONT) bajo fotoperiodo natural decreciente en La Comarca Lagunera	51
10	Concentraciones séricas de colesterol a través del tiempo en cabras suplementadas con glutamato (AAE) y el grupo control (CONT) bajo fotoperiodo natural decreciente en La Comarca Lagunera	51

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS	ESPAÑOL	INGLES
°C	Grados centígrados	Degrees centigrades
17 red	Enzima 17 reductasa	Reductase enzyme 17
17b-HSD	17b-hidroxiesteroide deshidrogenasa	17b-hydroxysteroid dehydrogenase
20a-HSD	20a-hidroxiesteroide deshidrogenasa	20a-hydroxysteroid dehydrogenase
3b-HSD	3b-hidroxiesteroide deshidrogenasa/delta4- delta5 isomerasa	3b-hydroxysteroid deshydrogenase/delta4- delta5 isomerase
5a-reductasa	Enzima 5a-reductasa	5a-reductase enzyme
5b-reductasa	Enzima 5b-reductasa	5b-reductase enzyme
AAE	Aminoácido excitador	Excitatory amino acid
AMPA	Acido DL- α -amino-3-hidroxi-5metil-isoxazol propiónico	α -amino-3-hydroxi-5-methyl-4-isoxazol-propionic acid
ANOVA	Análisis de varianza	Analysis of variance
AP	Área postrema	Postrema area
AR	Recetores de andrógenos	Androgen receptors
ARC	Núcleo arqueado	Arcuate nucleus
AVPN	Núcleo periventricular anteroventral	Anteroventral periventricular nucleus
BBB	Barrera hematoencefálica	Blood-brain barrier
Ca ²	Calcio	Calcium
CC	Condición corporal	Body condition
CONT	Control	Control
CYP11A o P450 scc	Citocromo del corte de la cadena lateral del colesterol	Cytochrome cleavage of the side chain of cholesterol
CYP17	17a hidroxilasa /C-17,20 liasa	17th hydroxylase / C-17, 20 lyase
CYP17 o P450C17	Citocromo P450 17a-hidroxilasa/17,20 liasa	Cytochrome P450 17a-hydroxylase/17, 20 lyase
CYP19	Enzima aromatasa	Aromatase enzyme
E ₂	Estrógeno	Estrogen
eCG	Gonadotrofina coriónica equina	Equine chorionic gonadotrophin
ER α	Receptores de estrógenos alfa	Estrogen receptors alpha
FSH	Hormona folículo estimulante	Follicle stimulating hormone
GABA	Ácido gama amino butírico	Gamma aminobutyric acid
GE	Neuronas glucosa-estimuladoras	Glucose-excited neurons
GHRL	Ghrelina	Ghrelin

GI	Neuronas glucosa-inhibitorias	Glucose-inhibitory neurons
Glu	Glutamato	Glutamate
GluR	Receptor de glutamato	Glutamate receptor
GLUT	Transportador de glucosa	Glucose transporter
GnRH	Hormona liberadora de gonadotrofinas	Gonadotrophin-releasing hormone
GPR54	Receptor de kisspeptina	Kisspeptin receptor
HDL	Lipoproteínas de alta densidad	High density lipoproteins
HHG	Eje hipotálamo-hipofisis-gónadas	Hypothalamic-pituitary-gonadal axis
IGF-1	Factor de crecimiento similar a la insulina-I	Insulin like growth factor-I
KiSS-1	Gen KiSS	KiSS-1 gene
LDL	Lipoproteínas de baja densidad	Low density lipoproteins
LEPR	Receptor de leptina	Leptin receptor
LepRb	Receptor de leptina b	Leptin receptor b
LH	Hormona luteinizante	Luteinizing hormone
Mg ²	Magnesio	Magnesium
ml	Mililitro	Mililiter
mRNA	RNA mensajero	Messenger RNA
Na	Sodio	Sodium
NADP	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido	Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NAG	N-acetilglutamato	N-acetylglutamate
NAGS	N-acetilglutamato sintetasa	N-acetylglutamate synthetase
Ng	Nanogramos	Nanogram
NMDA	N-metil-D-aspartato	N-methyl-D-aspartate
NPV	Núcleo paraventricular	Paraventricular nucleus
NTS	Núcleo tracto de aislamiento	Nucleus insulation tract
P4	Progesterona	Progesterone
PC	Proteína cruda	Crude protein
PMV	Núcleo premamilar ventral	Ventral premammillary nucleus
POA	Área preóptica	Preoptic area
PR	Progesterona	Progesterone
PV	Peso vivo	Live weight

RIA	Radioinmunoanálisis	Radioimmunoassay
RP3V	Región paraventricular rostral del tercer ventrículo	Ventricular area of the third ventricle
SGLT	Transportadores de glucosa acoplados a sodio	Sodium-glucose linked transporter
SNC	Sistema nervioso central	Central nervous system
StAR	Proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda	Regulatory protein of acute steroidogenesis
T3	Triyodotironina	Triiodothyronine
TH	Hormona tiroidea	Thyroid hormone
TSH	Hormona estimulante de la tiroides	Thyroid stimulating hormone
VM	Núcleo ventromedial	Ventromedial nucleus
WAT	Tejido adiposo blanco	White adipose tissue

I. INTRODUCCIÓN

Las zonas áridas representan más del 60% de la superficie terrestre, por lo que el desarrollo de sistemas de producción sustentables se ha convertido en una apremiante necesidad (Torres-Moreno *et al.*, 2009). Sin embargo, uno de los principales problemas en los sistemas de producción animal bajo pastoreo en las zonas áridas y semiáridas es la época de sequía en la cual decrece el contenido de nutrientes en las principales especies forrajeras, de tal forma que no cubren los requerimientos mínimos para una adecuada nutrición de los rebaños (Meza-Herrera *et al.*, 2004 & 2007; González-Bulnes *et al.*, 2011; Meza-Herrera *et al.*, 2010a,b).

El sistema de producción caprino ha tomado gran importancia debido a las múltiples estrategias de comportamiento desarrolladas por parte de la cabra, entre las más importantes se encuentran la reutilización del nitrógeno-urea disponible, los hábitos alimenticios donde destacan la gran selectividad, ramoneo y posición bípeda, un uso muy eficiente del agua metabólica, además de mostrar una reproducción de tipo estacional. En efecto, en cierta época del año, esta especie inhibe su función reproductiva para asegurar reservas energéticas y poder enfrentar la época de restricción nutricional (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2010). En general, bajo esquemas semi-extensivos y extensivos, la especie caprina inicia la pubertad entre los 10-12 meses de edad. Sin embargo, si dicha edad cronológica coincide con la época de escasez de forraje, las cabritas deberán esperar hasta la próxima época de lluvias y crecimiento de especies arbustivas y herbáceas, para hacer coincidir de esta forma el inicio de la función reproductiva con una mayor disponibilidad de alimentos (Urrutia, 2009).

Existe un grupo de señales ambientales y génicas que afecta la reactivación de las neuronas GnRH y la activación de la pubertad, entre los cuales destacan el perfil endocrino, época del año, estado metabólico, edad, estrés y peso vivo, entre otros (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2011). Lo anterior hace necesario el desarrollo de estudios que aborden la relación entre la disponibilidad de alimentos, el estado metabólico y el inicio de la función reproductiva. Lo precitado permitiría el diseño de estrategias que permitan promover el inicio de la función reproductiva de las cabras en el mayor porcentaje posible y a una edad más temprana, y estar en posibilidad de lograr concepciones en épocas del año fuera de la época normal de reproducción. Dicha estrategia es de particular importancia dentro del esquema de comercialización de los diferentes productos caprinos (López-Medrano *et al.*, 2009).

Los mecanismos primarios responsables incremento en la liberación de GnRH del hipotálamo no están bien definidos. En un estudio realizado en ratas ovariectomizadas tratadas con estrógenos se observó un aumento preovulatorio de gonadotropinas inducido por progesterona secretada por el ovario y/o la glándula suprarrenal. Dado que las neuronas de GnRH no poseen receptores a estrógenos ni a progesterona, su función es modulada por neurotransmisores del sistema nervioso central (SNC) y/u otros productos neurosecretores (Choi *et al.*, 2008).

El principal aminoácido excitador del SNC, el glutamato, tiene un marcado efecto estimulador sobre el eje reproductivo en mamíferos y junto con sus receptores, está involucrado en la maduración y mantenimiento de los mecanismos neurales que gobiernan el pico preovulatorio de LH en roedores jóvenes en edad reproductiva (Neal-Perry *et al.*, 2005; Brann *et al.*, 1995). Por su parte, el colesterol es precursor de las hormonas esteroidales, con un papel fundamental en el establecimiento de la ruta esteroidogénica

(Gimpl y Gehrig-Burger, 2007). En el mismo sentido, la glucosa es la principal fuente energética requerida para llevar a cabo los procesos y mecanismos fisiológicos normales en el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (Burdakov y Lesage, 2010). Finalmente, tanto la glucosa y el colesterol están positivamente relacionados con el estado nutricional, y a su vez, el estado nutricional se correlaciona positivamente con la eficiencia reproductiva (Scaramuzzi *et al.*, 2006).

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

En cabras peripúberes, la suplementación con glutamato promueve un inicio precoz y un mayor porcentaje de pubertad, lo cual se relaciona de manera positiva con los niveles séricos de colesterol y glucosa.

2.2 Objetivos

Evaluar si la suplementación de glutamato promueve un inicio más precoz y mayor porcentaje de pubertad en cabras peripúberes.

Evaluar si la suplementación de glutamato afecta los niveles séricos de colesterol y glucosa, y si dichos cambios están relacionados con el inicio de la pubertad.

III. REVISION DE LITERATURA

3.1 Importancia de la producción caprina en México

La cabra probablemente fue de los primeros rumiantes en ser domesticados, se considera que fue domesticada hace más de 10,000 años en la antigua Mesopotamia (Mellado, 1997), y ha sido una de las especies más útiles al hombre, sobre todo como proveedoras de carne, leche y fibras. Durante el siglo pasado, en el periodo de las grandes guerras y los periodos de posguerra, la crianza de caprinos se incrementó en diversos países con objeto de aminorar la escasez de leche. Sin embargo, durante los últimos años, su importancia como especie doméstica con un gran potencial productivo y reproductivo ha sido disminuida, a pesar de su alto potencial en la generación de productos con características organolépticas bien definidas y de calidad (Aréchiga *et al.*, 2008).

Los caprinos fueron introducidos en México por los españoles. Probablemente la mayoría de los animales fueron embarcados en las Islas Canarias, aunque los estudios genotípicos y fenotípicos indican una mayor influencia Navarra y Andaluza de las cabras originarias que llegaron a nuestro país, habiéndose adaptado desde entonces a las condiciones de gran parte del territorio nacional (Mayén, 1989). Según las últimas estimaciones del Sistema de Información Agrícola y Pesquera de la SAGARPA, en México existe una población de 8,993,221 cabras, y el 87% de ellas se ubican en el área rural, particularmente en las regiones áridas y semiáridas, generando anualmente 163.6 millones de litros de leche al año (Figura 1). Dentro de los estados productores de leche caprina destacan Coahuila, con el 37.2% del total nacional, Durango 21%, Guanajuato 16.8%, Nuevo León 9.9%, Jalisco 3.7% y Zacatecas 3.2 % (SIAP, 2010).

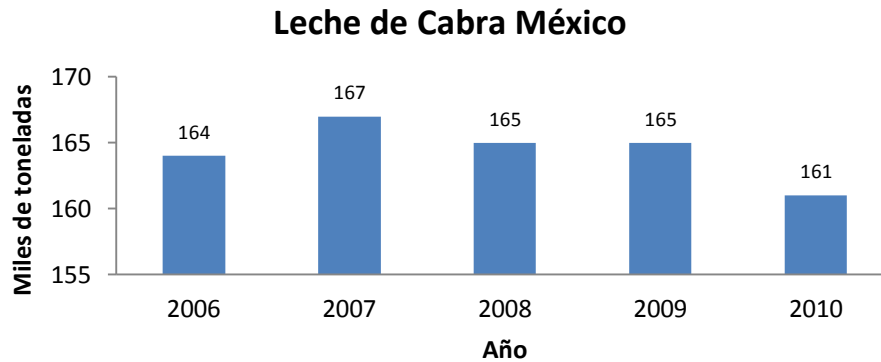


Figura 1. Producción nacional de leche fresca caprina en México 2006-2010.
(Tomados de FAO, 2011)

Aunque las cabras contribuyen relativamente poco a la producción nacional de leche y carne, con 120-150 millones de litros y 36,000 toneladas cada año, 2% y 1% del volumen anual, respectivamente (FAO, 2011). Dicha participación es importante desde el punto de vista social, ya que representan un medio de ingreso y fuente de alimentos para numerosas familias campesinas, particularmente en las regiones áridas y semi-áridas del norte de México, así como en la Sierra Madre del Sur entre Puebla, Oaxaca y Guerrero (Guerrero, 2010). En la mayor parte de los estados de México predominan los sistemas extensivos y semi-intensivos de producción caprina, quedando relegada la producción intensiva a regiones como La Laguna y el Bajío (Salinas, 1993; Echavarría *et al.*, 1999).

Entre los sistemas semi-intensivos destaca el tipo de pastoreo trashumante, en el que se pastorea el matorral durante la época de lluvias, luego los residuos de cosecha al final del ciclo agrícola de primavera-verano y finalmente, durante los meses de penuria alimenticia en el agostadero se ofrecen en el pesebre alimentos caseros, y en menor grado comerciales. En general, la producción caprina se circunscribe a negocios familiares de campesinos que tienen también actividades agrícolas o de otro tipo, y venden ocasionalmente su fuerza de trabajo.

Estos sistemas se establecen alrededor de industrias que les compran la leche, así como la producción estacional de cabritos y, en menor grado, de animales de desecho (Echavarría *et al.*, 1999).

3.2 Estacionalidad reproductiva en la cabra

Con objeto de asegurar la supervivencia cuando los recursos alimenticios en su medio ambiente son escasos, diversas especies animales limitan su función reproductiva de forma estacional. Esta estacionalidad parece ser estable año tras año, con un marcado inicio y término del periodo estacional tanto en la ovulación como en la calidad y cantidad de producción de semen (Paul *et al.*, 2008). Esta precisa programación es debida a diversos y complejos mecanismos los cuales permiten a los animales definir la época del año más apropiada para expresar la actividad sexual en el tiempo correcto, sincronizando o alineando la activación de factores sexuales con los factores del ambiente externo. En los mamíferos con reproducción estacional, se observa al igual que el reloj circadiano, un ritmo circa- anual endógeno que les permite alternar periodos de actividad sexual con períodos de reposo sexual al través del año (Barrell *et al.*, 2000).

Estas adaptaciones son moduladas principalmente por el fotoperiodo, induciendo alteraciones en las secreciones de melatonina por parte de la glándula pineal (Moffatt-Blue *et al.*, 2006).en efecto el fotoperiodo es una de las señales más importantes para la regulación anual para estimular o inhibir la actividad reproductiva, involucrándose también se en el crecimiento de algunos mamíferos (Gazal *et al.*, 2002).

Las cabras son reproductores estacionales que re-inician su actividad reproductiva cuando el fotoperiodo es decreciente durante el otoño y el invierno. La acción que el

fotoperiodo ejerce sobre la actividad reproductiva es significativamente modulada por la latitud. En efecto, los animales ubicados en zonas cercanas al ecuador, donde la diferencia del fotoperiodo es apenas perceptible, son capaces de expresar los ciclos estrales durante todo el año. Sin embargo, en las regiones situadas por encima de los trópicos, donde una diferencia en el número de horas luz por día entre días cortos y días largos es más evidente, las cabras presentan dicha estacionalidad reproductiva (Urrutia, 2009).

Dentro de una especie determinada, algunas razas pueden expresar diferentes niveles de estacionalidad. Por ejemplo, las ovejas Texel y Soay son altamente estacionales, mientras que en las Merino y Manchega la expresión de la estacionalidad es menos marcada (Santiago-Moreno *et al.*, 2000). En el mismo sentido, en regiones localizadas más al sur, especialmente en las subtropicales y tropicales de África del norte, África del oeste, Indias Occidentales, Asia tropical y América, las razas presentan generalmente baja estacionalidad o incluso ciclos reproductivos durante todo el año. Este es un rasgo interesante mostrado por estas razas, con las que se puede organizar la estación de reproducción sin costosos tratamientos hormonales. Sin embargo, en algunas razas se observa una marcada estacionalidad cuando se someten a las amplias variaciones fotoperiódicas y climas templados de los países más al norte, lo que constituye una limitación importante para su amplio uso en sistemas de producción animal en estos países (Chemineau *et al.*, 2007, Arroyo *et al.*, 2007).

Aunque en los trópicos el fenómeno de la estacionalidad reproductiva no está bien definido, existe cierta tendencia en la cabra a presentar mayor actividad reproductiva en ciertos periodos del año, cuando las condiciones del medio ambiente son más favorables para el mantenimiento de la gestación y la crianza de sus crías. La mayoría de las razas

caprinas y ovinas originarias del norte de Europa muestran variaciones importantes respecto a la presencia de estro y ovulación. En efecto, las hembras de estas razas presentan actividad sexual desde agosto-septiembre hasta enero-febrero y un reposo sexual el resto del año (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2011).

3.2.1 Efectos de fotoperiodo

En los mamíferos, todas las señales luminosas son percibidas exclusivamente por medio de fotoreceptores localizados en la retina del ojo y son transmitidas a través de una vía sináptica a la glándula pineal por el tracto retino-hipotálamo, hasta los núcleos supraquiasmáticos y paraventriculares del hipotálamo, antes de pasar por el ganglio cervical superior y llegar finalmente a la glándula pineal. Esta glándula sintetiza y secreta la hormona melatonina, particularmente durante la noche, por lo que existe mayor cantidad de melatonina circulante en los días con mayor número de horas de oscuridad y menor número de horas luz, periodo conocido coloquialmente como "fotoperiodo de días cortos", como los que se presentan durante el otoño e invierno. Por el contrario, la secreción de melatonina tiene una menor duración en los días con menos horas de oscuridad, o días largos, en los días de primavera y el verano, particularmente en latitudes mayores a las 30° Norte (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2010).

En los mamíferos, el sistema circadiano se emplea en la regulación de la fisiología de la reproducción y el comportamiento de dos formas muy importantes. 1) En algunas especies existe un fuerte componente circadiano que define el momento de la ovulación y del comportamiento reproductivo, asegurando que estos eventos se produzcan en el momento más probable en el cual se puedan encontrar una pareja potencial. 2) Otras

especies de mamíferos exhiben ritmos estacionales reproductivos, regulados principalmente por la disponibilidad del ambiente, exista o no, una pareja potencial, en estas especies, el sistema circadiano y la glándula pineal son componentes cruciales en el mecanismo que se utiliza para medir la longitud del día. El ritmo de secreción de melatonina por parte de la pineal es impulsado por una vía neural que incluye el oscilador circadiano en el núcleo supraquiasmático. Como se ha descrito anteriormente, la melatonina es secretada durante la noche en todos los mamíferos en un formato inversamente proporcional a la duración de las horas luz del día. El patrón de secreción de la melatonina actúa como una señal interna que representa la duración del día y que es capaz de regular una variedad de las variaciones estacionales en la fisiología y el comportamiento. En cabras y ovejas los cambios en el patrón de secreción de melatonina que se producen en las distintas épocas del año modulan la secreción pulsátil de GnRH, la que a su vez influye sobre la secreción de gonadotropinas en el lóbulo anterior de la hipófisis; esto en conjunto regula la estacionalidad reproductiva (Goldman, 1999).

La señal de la melatonina es presumiblemente decodificada en los tejidos diana que están involucrados en la regulación de una variedad de respuestas estacionales. Existen variaciones en las respuestas fotoperiódicas no sólo entre especies, sino también entre las poblaciones reproductoras de una misma especie y entre los individuos dentro de las poblaciones reproductoras individuales. En ocasiones, estas variaciones parecen ser el resultado de diferencias en las respuestas a la melatonina, en otros casos, las variaciones en la capacidad de respuesta al fotoperiodo pueden depender de las diferencias en los patrones de secreción de melatonina relacionada con la variación circadiana. En mamíferos aún no están bien caracterizados los sitios precisos de acción de la melatonina, pero los posibles

dianas de interés particular incluyen la *pars tuberalis* de la glándula pituitaria, así como el núcleo supraquiasmático. Ambos sitios exhiben en diversas especies receptores a la melatonina y existen algunas pruebas de la acción directa de la melatonina en otros sitios. Sin embargo, parece que hay diferencias entre especies con respecto a la importancia y las funciones específicas de los diversos sitios diana de la melatonina (Goldman, 2001).

Durante la primavera, con la reducción de las horas oscuridad, disminuye el período de secreción de melatonina, lo que provoca que el hipotálamo aumente la sensibilidad a la retroalimentación negativa de los estrógenos sobre la secreción tónica de la GnRH. Lo anterior promueve una inhibición de la cascada hormonal que conduce a la ovulación, por lo que la hembra permanece en un período anovulatorio no cíclico, también conocido como anestro estacional (Walton *et al.*, 2011).

Mediante una correcta administración exógena, la melatonina es capaz de restituir la totalidad del efecto del fotoperiodo en cabras y ovejas (Malpaux *et al.*, 1993), ya que se reproducen de esta manera las condiciones de los períodos normales de luz de días cortos, lo cual ha sido de utilidad práctica para estimular la reproducción en primavera ó días de fotoperíodos largos. En un estudio desarrollado en Nueva Zelanda, con ovejas Romney en donde se evaluaron los efectos de los implantes de melatonina en la temporada de anestro, los resultados sugieren que los implantes de melatonina, en conjunción con la administración de progesterona y gonadotrofina coriónica equina (eCG), pueden ser un método adecuado para aumentar el número de partos y el número de crías por parto (DeNicolo *et al.*, 2008).

3.3 Etapa de pubertad

Se ha demostrado que el proceso de la pubertad o madurez sexual desde el punto neuroendocrino es debido a una reactivación eje del hipotálamo-hipófisis-gónadas y del sistema secretor de la GnRH. Una serie de estudios en mamíferos adultos han aportado información sobre el conjunto de compuestos que intervienen en la secreción de GnRH: otras hormonas, aminoácidos y péptidos entre otros (Terasawa y Fernández, 2001).

Sin embargo, previo a esta etapa, la secreción de GnRH sobre la hipófisis ha disminuido significativamente (Meza-Herrera, 2008). Por lo anterior, al inicio de la pubertad, la función hipotalámica también ha decrecido y la amplitud de los pulsos de GnRH se incrementa gradualmente, siendo este evento el principal estímulo fisiológico de la síntesis y liberación de las hormonas FSH y LH. Éstas a su vez, como indica su nombre, operan sobre los receptores específicos a nivel gonadal, siendo los principales reguladores hormonales tanto de la generación de gametos maduros o gametogénesis, a partir de la pubertad, como de la secreción de esteroides y otras hormonas gonadales (Tena-Sempere y Huhtaniemi, 2003; Meza-Herrera *et al.*, 2010b). El control dinámico de este eje neuro-hormonal se apoya en las acciones de retroalimentación negativas y positivas de las señales hormonales procedentes de las gónadas, así como en la acción reguladora de factores adicionales, tanto centrales como periféricos, los cuales actúan primariamente sobre el sistema GnRH hipotalámico (Ebling, 2005; Ojeda y Skinner, 1994; Plant y Witchel, 2006).

Además de las señales centrales, la activación del eje gonadotrópico en la pubertad está condicionada más que por la edad cronológica, por la activación del citado eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal. En efecto, existen evidencias de una gran variabilidad

entre individuos respecto al inicio y la progresión de la pubertad. Los sistemas neurotransmisores y neuromoduladores que impactan sobre la red secretora de GnRH transmiten información de un considerable número de factores tanto endógenos, como periféricos, y ambientales. De entre éstos, es especialmente relevante en el control funcional del eje reproductor a lo largo del desarrollo puberal, el papel del estado energético del organismo y, en concreto, de la hormona leptina (Casanueva *et al.*, 1999). La leptina, secretada por los adipocitos, “informa” a los centros de control de la reproducción en el SNC del estado de los depósitos grasos del organismo, siendo necesarios ciertos niveles mínimos de leptina circulante, afectado a su vez por un índice graso crítico, para que se produzca un desarrollo puberal adecuado (Fruhbeck, 2006).

3.3.1 La pubertad: una reactivación del sistema secretor de GnRH

La población clave de neuronas de GnRH, del sistema secretor de GnRH se origina en el periodo embrional fuera del SNC, en la placa olfatoria media. Estas células posteriormente migran de la región nasal hacia el cerebro, es decir, el desarrollo físico de este sistema ocurre relativamente temprano en la vida y la capacidad sintética está presente antes de la pubertad, cuando la expresión del mRNA del GnRH alcanza niveles similares a los de la etapa adulta. Estudios realizados en ovejas demuestran que el sistema secretor de GnRH está evidentemente activo en el periodo neonatal. En fetos machos la LH es liberada de una manera pulsátil durante el periodo fetal medio de la preñez. La frecuencia de los pulsos incrementa si los testículos del feto son removidos, lo cual genera una liberación pulsátil de GnRH por parte del hipotálamo que estimula, a su vez, la liberación de LH (Ebling, 2005)

En algunos mamíferos se observan periodos de inactividad reproductiva juvenil, particularmente cuando la reactivación de la secreción de GnRH es interrumpida por factores ambientales, como cambios en el fotoperiodo. En ciertas razas de hamsters, la pubertad se inicia cuando son criados en días largos, pero entran en una etapa de pausa en el desarrollo cuando son expuestos a días cortos, señal exógena que marca el inicio del invierno (Walton *et al.*, 2011).

Debido a que la capacidad de síntesis de GnRH por parte de las neuronas capaces de secretar GnRH no es limitante para que la pubertad proceda, la pubertad puede ser una reactivación del sistema secretor de GnRH, aunque surge la duda de si dicho sistema está en arresto o dormancia esperando las estimulaciones adecuadas o simplemente está inactivo. En estos periodos de inactividad reproductiva previa a la pubertad, existe una retroalimentación negativa que inhibe la liberación de GnRH donde los andrógenos y(o) estrógenos liberados por testículos y ovarios prepúberes actúan sobre las neuronas inhibiendo la síntesis de GnRH (Lehman *et.al.*, 2010).

En la etapa previa a la pubertad existe una disminución progresiva en la sensibilidad a los efectos de retroalimentación negativa de andrógenos y estrógenos. Lo anterior no está muy claro para la primera activación de la secreción de GnRH, siendo un proceso independiente de la retroalimentación de esteroides gonadales. Tal evidencia sugiere que el sistema secretor de GnRH puede estar regulado por la activación exógena, es decir, la pubertad se inicia por la secreción de GnRH dependiente de otras estimulaciones mayores (Choi *et.al.*, 2008).

3.4 El sistema KiSS1/GPR54

Los mecanismos que activan el eje neuroendocrino hipotálamo-hipófisis- gónadas son poco conocidos; sin embargo, en los últimos años, una serie de hallazgos han contribuido significativamente a tener una mejor comprensión de los procesos que desencadenan el inicio de la pubertad. Uno de los descubrimientos recientes más importantes ha sido la identificación del gen KiSS-1 que codifica una proteína de 145 aminoácidos, que posteriormente es cortada por enzimas en un péptido de 54 aminoácidos nombrado metastina o kisspeptina-54, además de otros péptidos de 14, 13 ó 10 aminoácidos llamados kisspeptinas (Gottsch *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2008; Meza-Herrera, 2008; Tena-Sampere, 2010a, b).

El gen KiSS-1, identificado anteriormente como un gen que reduce la probabilidad de que una célula en un organismo multicelular se transforme en célula cancerígena por medio de la propagación del foco canceroso a un órgano distinto de aquel en que se inició o metástasis, promueve la síntesis de kisspeptinas, capaces de inhibir la progresión de ciertos tumores mediante la activación del receptor GPR54 acoplado a la proteína G (Han, *et al.*, 2005).

Al estudiar los efectos anticancerígenos del sistema KiSS-1/GPR54, se identificaron posibles lugares de localización de expresión de los genes KiSS-1 y GPR54 en tejidos humanos, tales como la placenta y diversas áreas del SNC (KiSS-1 y GPR54), así como en la hipófisis, la médula espinal y el páncreas (GPR54) (Muir *et al.* 2001, Meza-Herrera, 2012). La función neuroendocrina del sistema KiSS-1/GPR54 fue descubierta a finales de 2003, cuando se evidenció que las mutaciones inactivadoras del gen GPR54 se asocian tanto a la ausencia de pubertad como al hipogonadismo, hipogonadotrópico, en el que se

observa una deficiencia en la secreción de LH y FSH por parte de la pituitaria, lo cual resulta, tanto en humanos como en roedores, en el deterioro de la maduración puberal y de la función reproductora (Navarro *et al.*, 2007). Estas observaciones pusieron de manifiesto el papel clave, previamente insospechado del sistema KiSS-1, en el control del eje reproductor, en general, y de los mecanismos de activación de la pubertad, en particular, promoviendo una serie de investigaciones para esclarecer los distintos aspectos (efectos, regulación, mecanismos de acción, interacciones) del papel fisiológico que este sistema ejerce en el control neuroendocrino de la reproducción. De hecho, las evidencias experimentales acumuladas en los últimos años, permiten afirmar que el sistema KiSS-1 es un elemento esencial en la regulación del sistema neuronal del GnRH, y por extensión, del eje reproductor, (Meza-Herrera *et al.*, 2010b).

En el mismo sentido, se ha demostrado que cantidades de kisspeptinas administradas periférica o directamente sobre el sistema nervioso central, estimulan la secreción de GnRH y gonadotropinas tanto en animales prepúberes como en adultos. De la misma manera, se han observado incrementos en la expresión de los genes KiSS-1 y GPR54 durante el desarrollo de la pubertad, mientras que la activación de los receptores GPR54 mediante la administración de kisspeptina, es suficiente para inducir la activación del eje gonadotrópico en animales inmaduros, un modelo de esta función se muestra en la figura 2 (Meza-Herrera *et al.*, 2010b).

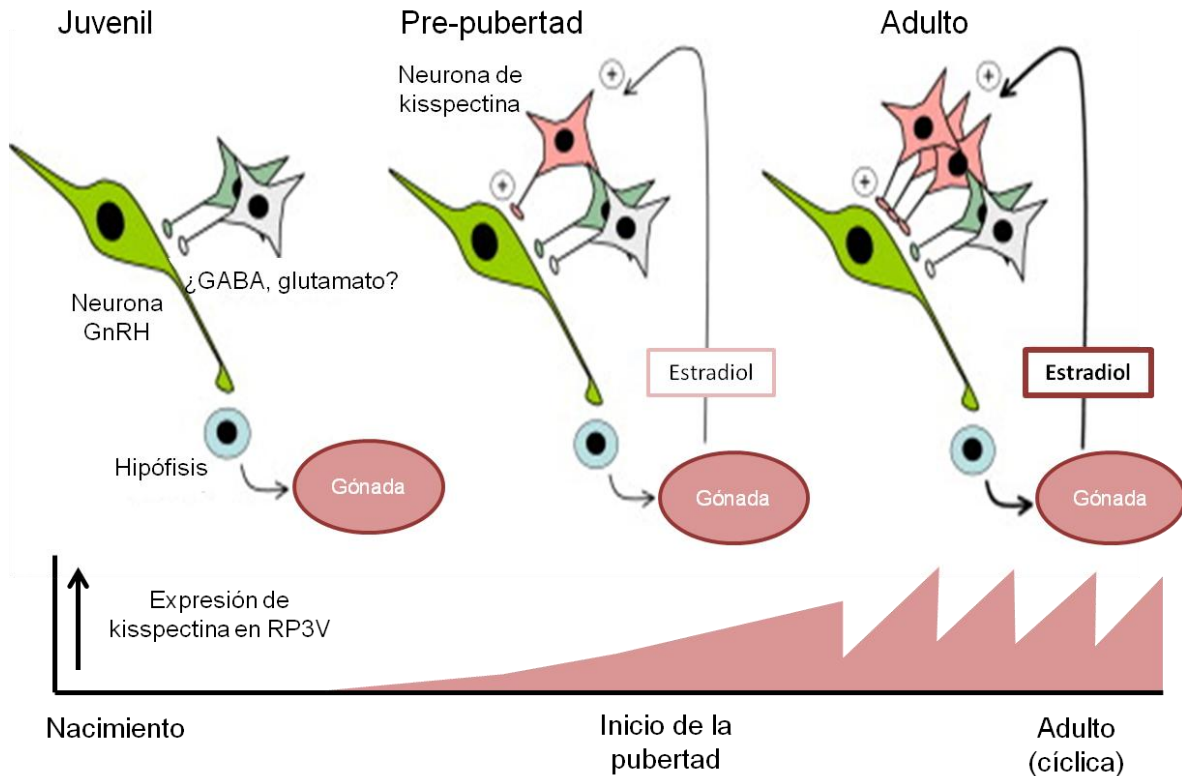


Figura 2. Esquema de la propuesta del circuito de retroalimentación positiva de estradiol-kisspeptina-GnRH responsable de completar el inicio de la pubertad en la hembra del ratón. Desde el nacimiento hasta el período antes de la pubertad no hay expresión de kisspeptina en la región periventricular rostral del tercer ventrículo (RP3V) (representada por el color rosa en la parte inferior de la figura). Los neurotransmisores tales como GABA y glutamato pueden proporcionar la activación inicial de las neuronas de GnRH, lo que resulta en un aumento en los niveles circulantes de estradiol. Los niveles crecientes de estradiol aumentan la expresión kisspeptina de la RP3V, que luego amplifica la actividad de las neuronas de GnRH en una manera de retroalimentación positiva que conduce a la realización del inicio de la pubertad. Posteriormente, los niveles de kisspeptina en la RP3V fluctúan con los niveles cíclicos de estradiol para impulsar la generación del pico preovulatorio de GnRH/LH (Tomado de Clarkson *et.al.*, 2010).

La kisspeptina parece actuar directamente sobre las neuronas de GnRH para estimular su secreción, ya que las áreas donde se encuentran las neuronas de kisspeptina, incluyendo al núcleo arqueado y el núcleo paraventricular, tienen numerosas proyecciones que llegan hacia el área preóptica, donde existen abundantes cuerpos celulares de GnRH (Brailoiu *et al.*, 2005). Además de que prácticamente todas las neuronas de GnRH co-expresan GPR54, la gran mayoría de las células productoras de kisspeptinas en el

hipotálamo también expresan receptores a esteroides sexuales, en particular los ER α . Por lo tanto, los esteroides sexuales son capaces de regular directamente la expresión de mRNA de KiSS-1, implicando a las kisspeptinas como el "eslabón perdido" entre la retroalimentación de esteroides sexuales y la secreción de GnRH (Lehman *et al.*, 2010).

En roedores, primates y ovejas, las células que expresan el gen KiSS-1 están localizadas en diversas regiones del cerebro anterior. En el ARC del roedor y la oveja, los esteroides sexuales inhiben la expresión de mRNA-KiSS-1, lo que sugiere que las neuronas secretoras de kisspeptinas son el conducto para la regulación de la retroalimentación negativa de la secreción de GnRH. En el roedor, sin embargo, los esteroides sexuales en el AVPV inducen la expresión de KiSS-1, lo que implica que estas neuronas de kisspeptina desempeñan un papel fundamental en la regulación de la retroalimentación positiva de la secreción de GnRH (Smith, 2008).

En ovejas parece no haber neuronas KiSS-1 en el AVPV, y la expresión mRNA-KiSS-1 en el ARC se estimula inmediatamente antes del aumento del pico preovulatorio de GnRH/LH. De esta forma, las neuronas de kisspeptina en el ARC de la oveja parecen estar estratégicamente situadas para desempeñar un papel fundamental en la regulación de la retroalimentación negativa y positiva de GnRH ejercida por los esteroides sexuales (Smith, 2008; Lehman *et al.*, 2010).

Los esteroides actúan en la modulación de la función reproductiva mediante efectos de retroalimentación negativa y positiva sobre la secreción de GnRH del hipotálamo, sin embargo, las neuronas de GnRH no poseen receptores a dichos esteroides (Choi, *et al.*, 2008). Por lo anterior, las neuronas de kisspeptinas fueron consideradas como mediadoras

primarias en el control de esta acción de los esteroides (Roseweir y Millar 2008). Una de las principales evidencias de esta función es el alto grado de localización de las células kisspeptina con receptores de esteroides gonadales, concretamente los de estradiol, progesterona y testosterona (Lehman *et.al.*, 2010).

Estudios realizados con ratas, ratones y ovejas revelaron un alto grado de localización de los receptores ER- α , PR, y AR en las neuronas de kisspeptina del ARC en un 70-99%. En el POA de ovejas, aproximadamente el 50% de las neuronas de kisspeptina coexpresan receptores a ER- α y en el AVPV de roedores se ha descrito un rango de 62-99% en co-localización de ER- α y PR (Clarkson *et al.*, 2008). Por el contrario, el porcentaje de células kisspeptina, tanto en el ARC y en el AVPV, donde se localizan receptores ER- β , presenta un rango mucho menor, del 11-25% y el 21-43% respectivamente. Así, en las neuronas de kisspeptina del ARC y del AVPV, los efectos del estradiol pueden estar mediados principalmente por el ER α (Wintermantel *et al.*, 2006).

3.4.1 Las kisspeptinas en el control metabólico de la reproducción

Existe la evidencia de que el sistema KiSS-1, además de ejercer un control en el eje reproductivo mediando la retroalimentación de las hormonas gonadales sobre el SNC, mediante la red neuronal de kisspeptinas pudiera participar en la transmisión del impacto del estado nutricional y de las reservas de energía en el organismo hacia las neuronas de GnRH. Castellano *et al.* (2005) evidenció en ratas prepúberes bajo ayuno de corto plazo, que las situaciones de balance energético negativo promueven una disminución en la expresión hipotalámica de kisspeptina, debido a una reducción significativa en los niveles relativos del mRNA KiSS-1. Teniendo en cuenta su papel fisiológico en el control de las

neuronas GnRH, es razonable predecir que la reducción en la señal de KiSS-1 podría operar como un factor importante causante del fracaso reproductivo inducido por la ingesta insuficiente de alimentos (Castellano *et. al.*, 2009).

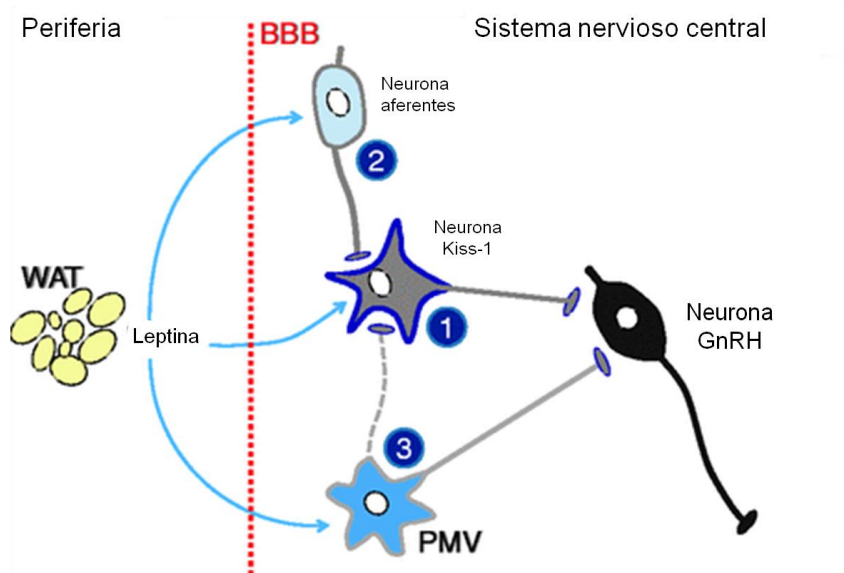


Figura 3. Representación esquemática de los posibles mecanismos para la transmisión de las acciones de la leptina (producida por el tejido adiposo blanco (WAT) en proporción a las reservas de energía del cuerpo), a las neuronas de GnRH en el cerebro anterior basal, como una vía de salida importante para el control del eje gonadotrópico y, por lo tanto, para el comienzo de la pubertad. Las formas putativas de acción pueden incluir: (1) las acciones directas de la leptina sobre las neuronas KiSS-1, que a su vez pueden proyectarse a las neuronas GnRH, (2) las acciones indirectas de la leptina sobre las neuronas aferentes proyectando sobre las neuronas KiSS-1, y/o (3) la acción de la leptina sobre el hipotálamo (o extra-hipotalámico), en núcleos desprovistos de neuronas KiSS-1, por ejemplo, el caso del PMV. En el caso de la opción 3, no se puede descartar la interacción con circuitos KiSS-1 y se representa como una proyección de línea punteada. BBB, barrera hematoencefálica (Tomado de Tena-Sempere, 2012)

En estudios iniciales de las kisspectinas como encargadas de la aparición de la pubertad, se analizó cómo las neuronas KiSS-1 actúan sobre la regulación metabólica general y los efectos específicos de la leptina en el sistema KiSS-1 del hipotálamo. En este contexto, el estudio de la expresión del mRNA que codifica el receptor de leptina funcional, en las neuronas KiSS-1 en el ARC del ratón y de las ovejas, demostró la capacidad de la leptina, en dosis altas, para aumentar la expresión hipotalámica del gen KiSS-1 en

diferentes situaciones de estrés metabólico grave. Lo anterior sugiere la hipótesis de que la leptina actúa directamente sobre las neuronas KiSS-1 para llevar a cabo su efecto estimulador/permisivo en neuronas GnRH (figura 3) (Tena-Sempere, 2012).

Sin embargo, pese a la evidencia que sugiere un efecto positivo de la leptina sobre las neuronas de kisspeptina, en un estudio independiente no se encontraron pruebas sobre la expresión del receptor funcional LEPR en diversas áreas hipotalámicas en las neuronas GnRH o KiSS-1, a excepción de una pequeña población de células KiSS1 en el ARC. Una población no caracterizada de neuronas que expresan LepRb ha sido identificada en el ARC y RP3V, en las cercanías de las neuronas KiSS1. Por lo tanto, es posible que una parte sustancial de los efectos positivos de la leptina sobre la expresión hipotalámica de KiSS-1/kisspeptina ocurra indirectamente y se transmita a través de circuitos intermedios aún desconocidos (Louis Gwendolyn *et al.*, 2011; Tena-Sempere, 2012).

Otras alteraciones observadas bajo situaciones de déficit de energía en el sistema KiSS-1, incluyeron un aumento en los niveles hipotalámicos de mRNA del GPR54 de animales en ayunas. Una explicación probable a esta situación paradójica es que la disminución de la expresión de KiSS-1 podría provocar un aumento compensatorio en la expresión de su receptor GPR54, induciendo un estado de sensibilización a los efectos de kisspeptina. En efecto, estudios *in vivo* e *in vitro* de animales expuestos a un ayuno de corto plazo lo demuestran. De esta forma en animales subalimnetados, la respuesta *in vivo* de LH a la kisspeptina se conserva, e incluso se optimiza, lo que sugiere que los niveles endógenos de KiSS-1 son suficientes para activar completamente el eje GnRH/LH a pesar de las condiciones metabólicas adversas (Castellano *et al.*, 2005).

Las modificaciones del nivel nutricional perturban el desarrollo de las vías hipotalámicas, por medio de varios componentes implicados en la homeostasis de la energía, que podrían tener un impacto en el sistema KiSS-1. Al respecto, una sobrealimentación en etapas perinatales, altera la expresión hipotalámica del neuropéptido Y, encargado de regular la ingesta de alimento, que es además un regulador probable de la expresión de KiSS-1 (Luque *et al.*, 2007).

Otras hormonas periféricas distintas de la leptina, como la ghrelina, pueden actuar con efectos potenciales sobre la expresión de KiSS-1 y la activación de la pubertad. Por último, se ha observado que cambios en el tamaño de la camada puede tener un impacto en las señales hormonales adicionales como esteroides sexuales y en los sistemas neuroendocrinos o eje adrenal/estrés, que podrían contribuir en parte de los cambios en la maduración del eje hipotálamo/KiSS-1 y el momento registrado de la pubertad (Castellano *et al.*, 2011).

3.5 El estado nutricional y su relación con la reproducción

El estado nutricional del animal es un modulador clave de los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de GnRH. Por ello, la restricción nutricional causa crecimiento lento, reduce las concentraciones periféricas de glucosa y retarda el inicio de pulsos de GnRH en ovinos (Rodríguez y ProM, 2005, Foster y Nagatani, 1999). Como resultado de la disminución en la secreción hipotalámica de LH, el consumo inadecuado de energía inhibe la función ovárica, en donde tienen una función importante ciertos metabolitos, como la glucosa y los aminoácidos, además de algunas hormonas como la leptina, insulina e IGF (Pinos y Sánchez, 2001).

El estado nutricional está estrechamente relacionado con la función del eje HHG. Por lo tanto, existe una relación clara entre el balance de energía, la cantidad de combustible metabólico, como glucosa, piruvato y lactato, y la eficiencia reproductiva. De esta manera, los cambios en los niveles circulantes de hormonas metabólicas o metabolitos son señales importantes que informan al SNC respecto al estado nutricional del organismo y la capacidad de reproducirse de manera eficiente (Meza-Herrera y Tena-Sempere, 2012). La función cíclica o estacional del eje HHG es modulada mediante entradas neuronales, también reguladas por vías ambientales, que en última instancia modulan la actividad neuronal en el hipotálamo para promover la liberación de GnRH, y que también tienen un impacto en la homeostasis energética (Meza-Herrera, 2012).

Al evaluar las funciones de las señales fotoperiódicas y nutricionales que modulan la actividad ovárica en cabras, se ha observado que la señalización del estado nutricional sobre la actividad reproductiva en cabras criollas, criadas en condiciones subtropicales, supera los efectos inhibidores de un fotoperiodo de días largos durante la temporada no reproductiva, ya que un alto porcentaje de cabras con alto nivel de alimentación en comparación con cabras sometidas a niveles bajos de alimentación, con respecto a las necesidades de mantenimiento, presentaron ciclos reproductivos, lo cual confirma que la actividad reproductiva puede estar estimulada por la nutrición (Urrutia *et al.*, 2009).

En el mismo sentido, otros estudios han demostrado que la secreción pulsátil de LH disminuyó con una progresiva subnutrición en ovejas ovariectomizadas prepúberes o adultas. Así también, la liberación de LH se ve afectada por la condición corporal; en ovejas con condición baja, menor o igual a 2, la liberación de LH es menor, comparada con ovejas de mayor condición corporal, mayor o igual a 3 (Tatman *et al.*, 1990). Estos efectos

nutricionales indirectos son aparentemente mediados por la alteración del pulso generador de GnRH disminuyéndolos y por consiguiente reducen la secreción pulsátil de LH, sin aparentemente algún efecto adverso sobre los patrones de secreción de FSH (Diskin *et al.*, 2003).

Los bajos niveles de proteínas en la dieta promueven no sólo una reducción en el PV, sino también una disminución en la ganancia de peso, que ejerce un efecto inhibitor sobre la síntesis y liberación de LH. Sin embargo, este efecto no se observó en relación a la FSH. Por esta razón, la concentración de proteínas en la dieta puede ser un modulador importante de los procesos neuronales, al promover el aumento de los niveles de LH durante la pubertad (Polkowska *et al.*, 2003).

Otra señal del estado metabólico es la liberación de la hormona de los adipocitos, la leptina, que se ha demostrado que desempeña un papel central como una señal reguladora en la integración de la homeostasis energética y la función reproductiva (Fernández-Fernández *et al.*, 2006). La administración exógena de leptina en animales prepúberes y peripuberales aumenta la liberación de GnRH hipotalámico, las concentraciones plasmáticas de LH, así como la liberación de glutamato, lo cual demuestra que la leptina promueve el aumento de la función hipotalámica-hipofisaria, conduciendo a un aumento sérico de GnRH y LH, y que el sistema excitatorio neurotransmisor dependiente de glutamato parece estar implicado en estos cambios (Ponzo *et al.*, 2005).

En el mismo sentido, tanto la leptina como la ghrelina ejercen un papel importante en la regulación del comportamiento del estado metabólico y la reproducción, actuando sobre el SNC y otros órganos reproductivos (Meza-Herrera *et al.*, 2009). Como marcadores del estado nutricional, estas hormonas pueden actuar sobre el SNC para iniciar el proceso

complejo de la pubertad y para mantener una función reproductiva normal en la etapa adulta. En el cerebro, estas hormonas pueden actuar como una conexión que indica al sistema reproductor el nivel de reservas metabólicas con objeto de regular las necesidades de energía para una función reproductiva normal (Budak *et al.*, 2006).

Además de su elevada capacidad para modular los sistemas hormonales, las señales nutricionales también son reguladoras directas de la reproducción estacional. Por lo tanto, el suministro nutricional se considera una alternativa a los tratamientos hormonales con el fin de aumentar la eficiencia reproductiva y mejorar los resultados en la producción. Ciertamente, los efectos positivos de la nutrición sobre los rendimientos reproductivos se obtienen generalmente a través de aumentos en el peso corporal.

A largo plazo el "efecto estático" promueve que las hembras con más peso corporal tengan mayores tasas de ovulación, mientras que a mediano plazo, el "efecto dinámico" origina aumentos en el PV o CC en semanas previas y durante el empadre promoviendo mayor eficiencia ovárica, mediante una elevada alimentación durante 3-4 semanas antes del apareamiento.

Sin embargo, la eficiencia reproductiva también puede ser mejorada por medio de la administración de suplementos nutricionales en un tiempo muy corto, es decir, menos de diez días, sin cambiar el peso corporal. Este fenómeno se conoce como "efecto agudo" o "alimentación focalizada". Dicha estrategia nutricional consiste en una suplementación durante 4-6 días cercanos al momento del desarrollo del folículo preovulatorio, lo que aumenta la tasa de ovulación en un 20-30%, sin cambios detectables ya sea en el peso corporal y(o) la condición corporal (Meza-Herrera y Tena-Sempere, 2012).

3.6 La glucosa

La glucosa es una hexosa, una molécula que contiene seis carbonos en su estructura (Figura 4), y es la principal fuente de energía en el organismo de todo ser vivo, almacenada principalmente en el hígado en forma de glucógeno. Por lo tanto, el control preciso del consumo de energía, almacenamiento y transporte de glucosa es indispensable para mantener cada uno de los procesos en las diferentes etapas, tanto de crecimiento como reproductivas y mantener las concentraciones plasmáticas dentro de los rangos fisiológicos normales (Jordán *et al.*, 2010).

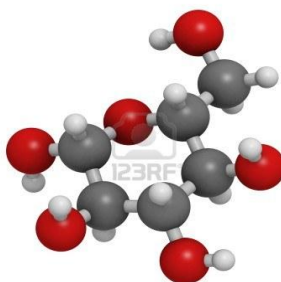


Figura 4. Estructura de la Glucosa

(Tomada de http://es.123rf.com/photo_18212864_glucose-beta-d-glucose-grape-sugar-dextrose-molecule-chemical-structure-atoms-are-represented-as-sph.html).

Varios tejidos, especialmente el cerebro y las gónadas, dependen del suministro de glucosa como una fuente directa de energía. Por esta razón, es de vital importancia mantener las concentraciones de glucosa en sangre por encima de un umbral crítico (Meza-Herrera y Tena-Sempere 2012). En este sentido, el glucógeno hepático es un importante reservorio de glucosa que puede ser utilizado para mantener el nivel normal de glucosa en la sangre durante un periodo de ayuno de corto plazo. Sin embargo, se agota fácilmente y, por lo tanto, son necesarias otras fuentes de glucosa en ciertas condiciones metabólicas.

Las proteínas pueden ser fácilmente convertidas en glucosa a través de la gluconeogénesis. Una vez que las reservas de glucógeno se agotan, el catabolismo de proteínas y la génesis de glucosa a partir de los aminoácidos se convierten en el principal medio para satisfacer las necesidades energéticas de los tejidos dependientes de glucosa (Meza-Herrera y Tena-Sempere, 2012).

El estado nutricional está influenciado no solo por la comunicación de los sustratos, sino también por señales de diversas hormonas metabólicas como insulina, leptina y ghrelina, que se incorporan en los circuitos neuronales del hipotálamo e indican el aumento de la glucosa y lípidos. Por lo tanto, los nutrientes son la fuente que regula la actividad de la ingesta de alimentos, el gasto energético y la homeostasis de la glucosa (Jordán *et al.*, 2010).

Esencialmente, hay dos tipos de neuronas sensibles a la glucosa que pueden controlar los cambios en los niveles de glucosa en la sangre: la neurona glucosa-estimuladora (GE), cuya tasa de activación se ve aumentada por la elevación de las concentraciones de glucosa extracelular, y las neuronas glucosa-inhedoras (GI), que se activan cuando las concentraciones de glucosa disminuyen. Ambos tipos de neuronas se encuentran ampliamente distribuidas en todo el cerebro, pero una alta concentración de éstas se localiza en los núcleos del hipotálamo, que están involucrados no solo en el control de la homeostasis energética, sino en forma interesante, también involucradas en la función reproductiva (Levin, 2001).

Las neuronas GE son más abundantes en el VM, en el ARC, y en el PVN, mientras que las neuronas GI se encuentran principalmente localizadas en el hipotálamo lateral, en la

zona media del ARC y PVN (Silver y Erecinska, 1998). En el tronco cerebral, las neuronas GE y GI también están presentes en el AP, en el NTS, y en el núcleo motor dorsal del vago (Marty *et al.*, 2007). Las neuronas del NTS son sensibles a pequeñas variaciones en las concentraciones séricas de glucosa y pueden ser reguladas por la actividad del hipotálamo, ya que las neuronas se proyectan ampliamente en los núcleos del hipotálamo implicados en el control de los niveles de glucosa en plasma y la ingesta de alimentos.

El transporte de la glucosa a través de la membrana celular se lleva a cabo por dos familias de proteínas de membrana: SGLT y GLUT. Los primeros se expresan principalmente en epitelios que se encargan de la absorción y de la reabsorción de nutrientes, esto es, de los epitelios del intestino delgado y tubular renal respectivamente. Los GLUT se expresan en todas las células del organismo y permiten mover la glucosa de un compartimiento a otro (Castrejón *et al.*, 2007).

3.6.1 Papel de la glucosa en la reproducción

Existe una fuerte evidencia de que la disponibilidad de glucosa puede ser un regulador de la secreción de LH en ovejas, gracias a estudios en que se les suministraron antagonistas de glucosa para evaluar la disminución de la amplitud y frecuencia del pulso de LH, concluyendo que la disponibilidad de glucosa afecta la secreción de LH al actuar directamente en el SNC en sitios periféricos de la neurona de GnRH (Bucholtz *et al.*, 1996).

Como se mencionó previamente, la glucosa entra en la de célula mediante la acción de los transportadores, un grupo de proteínas que se encuentran en la membrana de ésta; dependiendo del órgano donde la glucosa efectúe su función habrá diferentes transportadores, entre los más importantes para la reproducción están los GLUT1 y GLUT4 (Zhou *et al.*, 2000).

El transportador GLUT1 brinda captación basal de glucosa en la mayoría de los tejidos; mientras que el GLUT4 es particularmente sensible a la insulina en el tejido muscular y adiposo. Estos dos transportadores se han observado en las células de la teca y granulosa en el folículo ovárico. Cuando la glucosa se absorbe, puede afectar la función folicular por medio de dos mecanismos interrelacionados. El primero es mediante cambios en la disponibilidad de energía que alteran la bioquímica endocrina y, por lo tanto, estimulan la esteroidogénesis en las células del folículo. Un segundo mecanismo de acción sucede cuando se altera la capacidad androgénica debido a la modificación de la expresión y función de los transportadores de la glucosa en los tejidos ováricos. Por último, una tercera posibilidad considera una combinación de las anteriores, es decir un aumento en la absorción de glucosa altera la capacidad esteroidogénica que, a su vez, afecta la expresión y la función de los transportadores de glucosa (Williams *et al.*, 2001).

En un estudio realizado con ovejas Manchegas adultas, se observó un aumento del número de folículos al ofrecer suplementos nutricionales generadores de energía a corto plazo (Letelier *et al.*, 2008). El mecanismo de este efecto probablemente involucró acciones directas de la nutrición sobre el desarrollo de oleadas foliculares mediadas por el sistema intra-follicular insulina-glucosa (Scaramuzzi *et al.*, 2006).

Los resultados reportados por Letelier *et al.*, (2008) indicaron, que la suplementación glucogénica, modifica la tasa de ovulación mediante el aumento tanto en el número y, lo que es más importante, la capacidad de desarrollo de los folículos ováricos. Estos datos son importantes debido a que la prolificidad en rumiantes, al igual que en otras especies, no solo puede incrementarse por un aumento la tasa de ovulación, sino también por el aumento de la calidad del embrión y la supervivencia. Si el efecto de la suplementación a corto plazo

mejora la competencia en el desarrollo de los folículos, es posible conjeturar que también podría mejorar la capacidad de desarrollo de los ovocitos dentro de estos folículos. Se sabe que los ovocitos tienen un metabolismo de la glucosa limitado, además que debido, a la relación metabólica entre las células del cumulus y los ovocito, la disponibilidad de glucosa y el metabolismo en el cúmulo puede tener un impacto significativo de desarrollo y competencia en los ovocitos (Thompson *et al.*, 2007).

Otra función de la glucosa sobre la reproducción recae en la regulación metabólica del hipotálamo. Un estudio realizado en cabras ovariectomizadas tratadas con estradiol e inducidas a hipoglucemia por medio de la aplicación de insulina y un antagonista de la glucosa, suprimió la actividad del pulso generador hipotalámico de GnRH; estos hallazgos sugieren que la disponibilidad de glucosa es uno de los reguladores metabólicos del generador de pulsos de GnRH y desempeña un papel clave en el control nutricional de la reproducción en especies de rumiantes (Ohkura *et al.*, 2004).

3.7 El colesterol

El colesterol es el tercer tipo de lípido en importancia cuantitativa en las membranas de las células animales, donde contribuye a la interacciones con ciertas proteínas. El colesterol (Figura 5) es un precursor biosintético de las hormonas esteroideas, de la vitamina D y de los ácidos biliares. Abunda como tal en la bilis y en las lipoproteínas plasmáticas; asimismo, se encuentra tanto libre como esterificado con ácidos grasos de cadena larga. Por todo esto, el colesterol es una molécula esencial en el organismo, aunque no un nutriente esencial (Burger *et al.*, 2000). Además el colesterol es precursor de hormonas esteroideas (Hu *et al.*, 2010), de los ácidos y sales biliares, y modificador covalentemente de algunas proteínas (Martínez *et al.*, 2001).

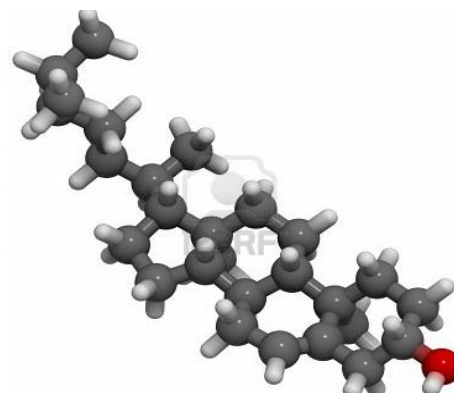


Figura 5. Estructura del Colesterol
(Tomada de http://es.123rf.com/photo_12421840_estructura-3d-molecular-de-colesterol.html)

3.7.1 El colesterol como precursor de hormonas

El colesterol es también el precursor de todos los esteroides. La principal fuente de colesterol es provista por la circulación sanguínea en forma de LDL. El colesterol también puede ser generado *de novo* dentro de la corteza adrenal a partir del Acetil-CoA. Además existe evidencia de que la glándula suprarrenal puede utilizar el colesterol presente en las LHL a través de su captación por ciertos receptores de HDL, recientemente caracterizados (Carr y Simpson, 1981).

Existen numerosos trabajos que sugieren que el colesterol que se incorpora a las células esteroidogénicas, y no aquel que es sintetizado *de novo*, es el que juega un papel fundamental en la producción de hormonas esteroideas (Tureck y Strauss, 1981). Las células esteroidogénicas se encuentran rodeadas de ésteres de colesterol, los cuales también se encuentran almacenados en estas células, y el colesterol es transportado en forma de ésteres por lipoproteínas de baja o de alta densidad. En general, la HDL posee un rol menor

en el aporte de colesterol, excepto en el caso los de roedores, en los que parece ser la de mayor importancia.

El colesterol se transporta al interior de la célula por un proceso de endocitosis mediado por receptores asociados a la membrana plasmática. Posteriormente, para el inicio de la síntesis de esteroides, el colesterol debe atravesar el espacio acuoso que se encuentra entre la membrana externa de la mitocondria rica en colesterol y la membrana interna, pobre en colesterol, y de esta forma ponerse en contacto con la proteína CYP11A, también conocida como P450_{scc} o citocromo, del corte de la cadena lateral del colesterol. Este proceso se lleva a cabo por la StAR (Stocco, 2001). Esta proteína transportadora, de 30 kDa, sería la que actuaría de mediadora ante una inducción aguda de la esteroidogénesis.

Tanto la pregnenolona como la progesterona pueden ser utilizadas como sustrato de este complejo enzimático para formar la dehidroepiandrosterona (DHEA) y la androstenediona, respectivamente. Dado que las células de la teca intersticial poseen alta actividad de estas enzimas, se las considera la principal fuente celular de andrógenos foliculares. La vía de síntesis de andrógenos a través de la pregnenolona se denomina vía delta 5, siendo la vía delta 4 la que se desarrolla utilizando a la progesterona como sustrato (Hu *et. al.*, 2010) (Figura 6).

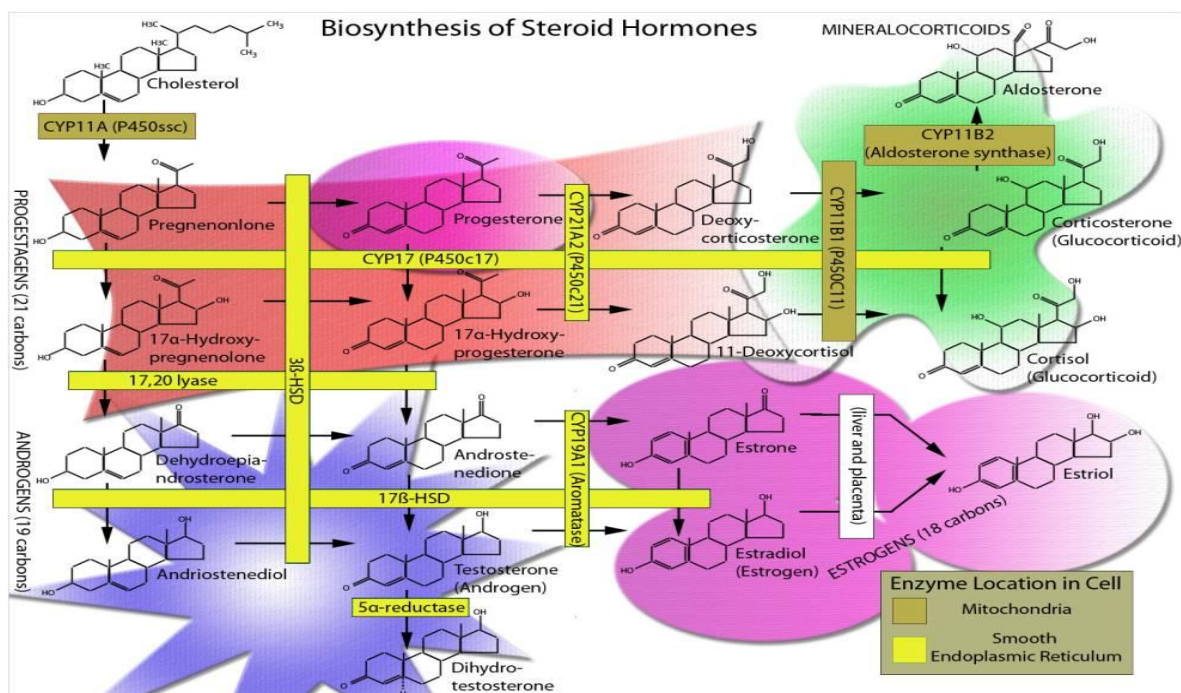


Figura 6. Síntesis de andrógenos y estrógenos (Tomado de Hu *et al.*, 2010)

El proceso de la estereodogénesis ovárica suprarrenal y testicular, está regulado por la acción de las hormonas sintetizadas y secretadas por el hipotálamo-hipófisis. Interviene además la disponibilidad de colesterol, requisito fundamental para la óptima producción de hormonas esteroides. Las células en los tejidos androgénicos tienen el potencial de obtener el colesterol para la síntesis de esteroides a partir, por lo menos, de cuatro fuentes potenciales: a) Colesterol sintetizado de *novo* a partir de acetato, b) Colesterol del plasma obtenido de LDL y HDL, c) Colesterol derivado de la hidrólisis de ésteres de colesterol, almacenado en forma de gotas de lípidos, y d) Colesterol obtenido de la membrana plasmática (Hu *et al.*, 2010).

3.8 Neurotransmisores

Los neurotransmisores son el producto de la síntesis específica de la neurona, y que al ser liberados al medio extracelular en la sinapsis ejercen su acción sobre receptores específicos de membrana. Estos receptores específicos de membrana se sitúan tanto en neuronas como en otras células. Los neurotransmisores pueden actuar a corto o a largo plazo. Pueden actuar en el mismo sitio donde son secretados o en otros sitios distintos de donde se producen. La mayoría de los neurotransmisores y neuromoduladores poseen propiedades excitadoras e inhibitoras, dependiendo de varios factores tales como la composición del neurocircuito, la etapa de desarrollo y el ambiente hormonal (Terasawa y Fernández, 2001).

Los neurotransmisores son aminoácidos constituidos por un péptido y una proteína. Como es sabido, las aminas biogénicas, también conocidas como monoaminas, presentan aminoácidos como precursores, por lo que no es de extrañar que también los aminoácidos puedan funcionar como neurotransmisores. Los aminoácidos reconocidos como neurotransmisores son cinco: el ácido GABA, la glicina, la taurina, el ácido glutámico y el ácido aspártico. Los tres primeros son aminoácidos neutros, tienen un efecto inhibitorio, mientras que los últimos dos son excitadores. El glutamato y el aspartato están presentes en altas concentraciones en el SNC y son liberados de forma dependiente del Ca^{2+} mediante una estimulación eléctrica. El glutamato y el aspartato provienen del ciclo de Krebs y actúan a nivel central como excitadores al incidir sobre receptores específicos: NMDA, AMPA, y Kainato (Meeker *et al.*, 1994).

3.8.1 Neurotransmisores inhibitorios

El sistema de GnRH se encuentra activo en la etapa prenatal, para entrar en un estado de dormancia posterior al nacimiento y volver a activarse en la etapa prepuberal. Dicha dormancia ocurre debido a una red inhibitoria neural que suprime la liberación de GnRH, y que se remueve después de la maduración del hipotálamo, permitiendo la liberación pulsátil de GnRH. Uno de los principales aminoácidos inhibitorios es el GABA. Sin embargo, el papel del GABA en el control de la liberación de GnRH parece ser tanto inhibitorio como estimulador, esto, debido a que tiene diferentes tipos de receptores. En efecto, es inhibitorio a través de su receptor GABA_A, mientras que es estimulador a través de receptores GABA_B, generando de esta forma la liberación pulsátil de GnRH/LH (Terasawa y Fernández, 2001)

En el primero de dos estudios realizados para evaluar el efecto de la administración de leptina exógena sobre la estimulación de GnRH/LH, se observó un aumento significativo de los niveles de LH en animales adultos, así como en los niveles de glutamato en el hipotálamo (Reynoso *et al.*, 2003). En un segundo estudio, la administración de leptina generó un incremento en la liberación de GnRH del hipotálamo durante las etapas prepuberal y peripuberal (Carbone *et al.*, 2005). Dicho incremento fue acompañado por una disminución significativa en la liberación hipotalámica de GABA mientras que en forma paralela, aumentó la liberación de aspartato. Esto último sugiere que en esta fase de la maduración sexual, la leptina ejerce un efecto estimulador sobre la GnRH, induciendo la liberación de aminoácidos excitadores, y al mismo tiempo, reduciendo la liberación de aminoácidos inhibidores tales como GABA, todos ellos implicados en el control de la liberación de GnRH. En dichas etapas, prepuberal y peipuberal, el efecto estimulador de la

leptina sobre la GnRH parece estar relacionado con la acción estimulante de GABA, que en estas etapas de desarrollo, aumenta la liberación de GnRH (Meza-Herrera, 2012).

3.8.2 Los aminoácidos excitadores: Glutamato

Las neuronas de GnRH reciben directamente inervaciones glutamatérgicas, por lo que el glutamato ejerce un control de dichas neuronas (Brann y Mahesh, 1994; 1997). Por lo que, en general, el glutamato ejercerá un marcado efecto estimulante sobre el eje reproductivo, particularmente en el momento de la pubertad (Mahesh y Brann, 2005; Parent *et al.*, 2005).

Entre otras señales neuronales la acción estimuladora del glutamato en la secreción de GnRH se lleva a cabo mediante las inervaciones glutamatérgicas, así como mediante el aumento en los niveles del propio glutamato y el aumento de la sensibilidad del canal NMDA (Brann y Mahesh, 1997). En este sentido Ojeda *et al.* (2006b) reportó que el inicio de la pubertad requiere una comunicación recíproca neurona-glía que involucra aminoácidos excitadores, principalmente al glutamato y el aspartato. También son necesarios algunos factores de crecimiento y la acción coordinada de un grupo de los neuromoduladores, con lo cual se obtiene un mayor control para regular el proceso de la pubertad.

3.8.2.1 Receptores del glutamato

Con base en los mecanismos diferenciales que a nivel intracelular ejercen en la transducción de señales los GluRs se clasifican en dos clases principales. Metabotrópicos (mGluRs) y Iontrópicos (iGluRs), (Fig. 7) (Hinoi Eiichu *et al.*, 2004). El mayor porcentaje de receptores pertenece al tipo mGluRs, que, a su vez están divididos en tres subtipos. El

grupo I estimula la formación de inositol 1, 4,5-trifosfato y diacilglicerol, mientras que ambos grupos, II y III (mGluR2 y mGluR3), inducen reducción de cAMP. Los iGluR se subclasifican, sobre la base de homologías de secuencia y de la preferencia de los agonistas, en NMDA, AMPA y KA, que están asociados con los canales de iones permeables a los cationes particulares (Hollmann y Heinemann, 1994).

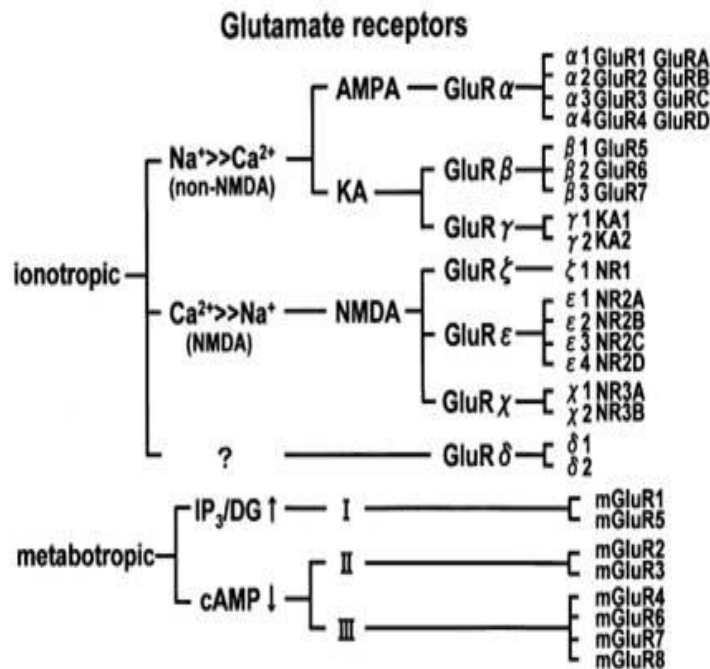


Figura 7. Receptores de Glutamato Inotrópicos (iGLUR) y Metatrópicos (mGLUR).
(Tomado de Hinoi Eiichu *et al.*, 2004).

La transmisión en las sinapsis excitatorias se realiza a través de los receptores post-sinápticos AMPAR y NMDAR. La transmisión sináptica basal está mediada por los AMPAR, que son rápidamente activados por el glutamato, mientras que los NMDAR, más lentos, regulan diversas formas de plasticidad sináptica (Hollmann y Heinemann, 1994). En estudios recientes se observó que existen receptores de glutamato en tejidos periféricos, tales como el hueso, donde el glutamato está relacionado con la formación y mantenimiento

de los dos tipos de células del hueso (Ducy *et al.*, 2000), a nivel testicular, donde participa en la síntesis de testosterona, en el ovario regula el número de receptores, mientras que en la glándula pineal participa en la síntesis y secreción de melatonina (Yatsushiro *et al.*, 2000). También se han descrito en páncreas, donde modula la secreción tanto de glucagón como de insulina (Hayashi *et al.*, 2003), mientras que en órganos como el hígado (Bai *et al.*, 2001), pulmones (Dickman *et al.*, 2004), riñones (Gill y Pulido, 2001) y corazón (Gill *et al.*, 2000), el mecanismo de acción del glutamato no está bien definido.

Se estudio el papel del glutamato como un factor metabólico potenciador de la secreción de insulina, a través de un receptor de glutamato del subtipo de AMPA (Bertrand *et al.*, 1992; Maechler *et al.* 2002). Esta última vía pudiera ser activada en cabras suplementadas con glutamato, ya que la suplementación con glutamato afectó positivamente el patrón de liberación a través del tiempo del INS en suero (Meza-Herrera *et al.*, 2011).

3.8.3 El glutamato en la reproducción

El glutamato parece jugar un papel central en la regulación de la reproducción, mediando las señales esteroidales en el hipotálamo para la liberación de GnRH, que a su vez, controla la secreción de LH por la pituitaria. Los esteroides gonadales aumentan la liberación de glutamato hipotalámico durante la fase preovulatoria, justo en el momento del pico de LH. Diversos estudios realizados en cabras prepúberes han demostrado que el glutamato afecta positivamente la reproducción, al modificar positivamente el porcentaje de cabras entrando a la pubertad durante fotoperiodos decrecientes. En efecto, al suplementar glutamato por vía intravenosa, se observaron incrementos, no solo en el porcentaje de animales mostrando pubertad, sino también en el inicio temprano de dicho proceso

reproductivo (Torres-Moreno *et al.*, 2009; López-Medrano *et al.*, 2009; Meza-Herrera *et al.*, 2011).

En las neuroterminales la disponibilidad de glutamato es fundamental para estimular la liberación de GnRH, y por lo tanto, para el control de la aparición de la pubertad. Se ha demostrado que la aplicación de la glutamina, un precursor para la síntesis de glutamato, estimula la secreción de GnRH de una manera dependiente de la dosis de glutamina (Roth *et al.*, 1998). En otro estudio, se evaluó la actividad de la enzima glutaminasa en la síntesis de glutamato a partir de la glutamina, concluyendo que la actividad de la enzima fue marcadamente mayor después de la pubertad con respecto a etapas prepúberes. Lo anterior demuestra que se produce un incremento en la señalización glutamatérgica hacia las neuronas GnRH antes y después de la pubertad (Bourguignon *et al.*, 1995).

Previo a la oleada de LH antes de la ovulación, se observa un aumento de la producción de glutamato y GnRH en el hipotálamo, lo cual sugiere un aumento en los efectos excitatorios generados por las señales glutamatérgicas de origen glial sobre las redes de las neuronas de GnRH, evento que contribuye a la activación de la secreción pulsátil de GnRH en la pubertad. La regulación transcripcional de la expresión de los transportadores vesiculares de glutamato puede representar un punto de control muy importante de la homeostasis del glutamato, ya que los transportadores vesiculares del glutamato son extremadamente importantes en el control de la liberación de neurotransmisores (Ojeda *et al.*, 2006a, Hinoi *et al.*, 2004).

Durante el establecimiento de la pubertad, el glutamato ejerce diferentes acciones de importancia relevante a nivel hipotalámico (Parent *et al.*, 2005). Se ha considerado el área preóptica como el principal sitio de acción del NMDA, mientras que los agonistas de

NMDA parecen actuar principalmente a nivel de la eminencia mediana y el ARC (Mahesh y Brann, 2005). Existe la evidencia de un proceso dependiente de estradiol, donde los receptores del glutamato del grupo KA participan en el estímulo para que se presente en forma precoz la pubertad. Lo anterior sugiere que este receptor puede estar implicado en la activación de la secreción de GnRH mediada por el estradiol, observado durante la pubertad. Además, y en paralelo con el aumento de la liberación de glutamato en el hipotálamo durante el proceso de la pubertad, también aumenta el número de receptores AMPA que desempeñan un papel importante en los efectos reguladores del glutamato durante el establecimiento de la pubertad (Zamorano *et al.*, 1998).

Estudios recientes refuerzan lo anterior, ya que al suplementar glutamato se obtuvo un incremento en el porcentaje de cabras presentando pubertad, esto pudiera haber desencadenado un incrementando en el número de receptores, estimulando de esta forma la secreción del pulso de GnRH necesario para desencadenar el proceso de la pubertad (Meza-Herrera *et al.*, 2011). Además de lo anterior, los agonistas de glutamato, y otros receptores tales como el KA, ácido domoico, y el NMDA, generaron un aumento de la hormona TSH, así como de las concentraciones de la TH, lo cual provoca una extraordinaria multiplicidad de respuestas bioquímicas, celulares y fisiológicas.

Estas diversas acciones de la TH, en específico de la T3, pueden activar procesos de crecimiento, desarrollo y regulación del metabolismo (Tata, 2007), lo que sugiere un papel importante del sistema de aminoácido excitatorio de glutamato en la activación del eje pituitaria-tiroides. Al respecto, Meza-Herrera *et al.* (2011) observaron que en las cabras prepúberes, el glutamato actúa como una señal para la maduración sexual en una vía

independiente de la glucosa, mientras que tanto la T3 como la insulina, parecen actuar como moduladores metabólicos para el establecimiento de la pubertad en las cabras.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Localización del área de estudio

El estudio se realizó en la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo, localizada en el municipio de Tlahualilo, Durango, entre las coordenadas geográficas 25° 53' 31.99'' LN y 103° 36' 11.23'' LO, a una altura de 1,117 metros. Las condiciones ambientales son de clima del tipo semidesértico extremoso con oscilaciones térmicas muy extremas, con precipitación y temperatura media anual de 217.1 mm, y 22.3 °C, respectivamente. El mes más cálido es junio con temperaturas superiores a los 40°C y el mes más frío es enero con temperaturas mínimas de 4°C.

4.2 Animales, alimentación y periodo experimental

Se utilizaron 18 cabras prepúberes encastadas 7/8 Saanen – Alpino y 1/8 Criollo, de tres meses de edad y peso promedio de 16 kg. Las cabras fueron alimentadas dos veces al día: por la mañana (0.700 Kg) con heno de alfalfa (14% PC, 1.14 ENm Mcal kg⁻¹) y ensilado de maíz (8.1% PC, 1.62 ENm Mcal kg⁻¹), y por la tarde (1.800 Kg) maíz rolado (11.2% PC, 2.38 ENm Mcal kg⁻¹). Se ofreció agua limpia, sales minerales *ad libitum* y sombra durante todo el periodo experimental. Se registró el peso de los animales una vez por mes y previo a su alimentación, acondicionándose una bascula (modelo G-30) con una jaula que permitiera la inmovilización de las cabras. La condición corporal se midió mediante palpación dorsal y costal, utilizando una escala de 5 unidades de nivel de grasa en la región lumbar que va desde 1 (muy flaca) a 5 (muy gorda), y se realizó cada mes, al mismo tiempo del registro del peso vivo.

4.3 Diseño de tratamientos y preparación de la solución buffer

Las cabras ($n = 18$) fueron distribuidas aleatoriamente en dos grupos con PV y CC homogéneos, con 10 y 8 repeticiones por tratamiento (AAE y CONT), respectivamente, considerando un diseño completamente al azar, donde la unidad experimental fue la cabra. Tratamiento 1: Suplementadas con L-glutamato (AAE, $n = 10$; 16.52 ± 1.04 kg, CC 3.4 ± 0.12), mediante administración endovenosa de 7 mg kg^{-1} PV de L-glutamato, cada lunes y viernes durante todo el periodo experimental y, Tratamiento 2: Grupo control (CONT, $n = 8$; PV 15.96 ± 0.98 kg, CC 3.15 ± 0.11) recibieron una aplicación de agua destilada y esterilizada por vía endovenosa, al mismo tiempo que se les suministraron las infusiones de glutamato al grupo AAE, con objeto homogenizar las posibles condiciones de estrés en las cabras de ambos grupos.

Se pesaron 4 g de L-glutamato, -presentación en polvo- (Merck- $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$ -art-289, Germany) en una balanza analítica y se disolvieron en 50 mL de agua destilada estéril. Es importante mencionar que dicho polvo se agrega lentamente al agua para lograr la disolución completa, de lo contrario, la disolución es prácticamente imposible. Posteriormente se procedió a llevar la solución a pH neutro. Todo el proceso de preparación se llevó a cabo en ambiente estéril. La solución preparada contenía 80 mg mL^{-1} de L-glutamato.

4.4 Muestreo sanguíneo intermitente

A partir del mes de junio, las muestras de sangre fueron colectadas de cada cabra mediante punción yugular una vez cada quince días, utilizando agujas estériles de 0.8×38 mm y tubos colectores estériles Vacutainer de 10 mL; dicho muestreo se realizó de junio a octubre. Una vez en el laboratorio, las muestras, se dejaron reposar a temperatura ambiente

por un lapso de 30 minutos hasta que ocurriera la retroacción del coágulo, después de esto, fueron centrifugadas (1,500 *g* x 15 min), el suero fue colectado y almacenado con su réplica en tubos de propileno de 1.5 mL a una temperatura de -4° C.

4.5 Cuantificación de progesterona y determinación del inicio de la pubertad.

Se utilizaron las 40 muestras por cabra colectadas durante el sangrado intermitente para evaluar su contenido de P4, mediante RIA. La prueba fue modificada y validada para el uso en suero de rumiantes, de acuerdo con los procedimientos señalados por Schneider y Halford (1996). Los análisis se efectuaron en el Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Ciencia Animal, de la Universidad Estatal de Nuevo México, Las Cruces, NM, EUA, observando un coeficiente de variación intra-ensayo de 9.8% y un límite de detección de 0.2 ng mL. Las concentraciones séricas de P4 >1 ng mL⁻¹ en dos muestras consecutivas por cabra, fueron clasificadas como indicativo de inicio de la pubertad (Cushwa *et al.*, 1992).

4.6 Cuantificación de metabolitos sanguíneos

La cuantificación de colesterol y glucosa se realizó mediante análisis espectrofotométricos (Coleman 15 Junior II). La glucosa fue analizada utilizando el kit 115-A basado en la oxidación de la glucosa, mientras que los niveles séricos de colesterol fueron analizados mediante el kit EnzyChrom™ (ECCH-22-100, Bioassay Systems, Hayward, CA; USA).

4.7 Análisis estadístico

Los pesos vivos y la condición corporal fueron evaluados mediante ANOVA, con un diseño completamente al azar con dos tratamientos de 10 y 8 unidades experimentales por tratamiento (AAE y CONT), respectivamente (Snedector y Corchran, 1966). Las concentraciones séricas de glucosa y colesterol fueron cuantificadas por medio de un ANOVA con un diseño completamente aleatorizado con un arreglo de bloques divididos para muestras repetidas en el tiempo.

El efecto de tratamiento fue incluido en el bloque mayor utilizando el término de cabra dentro del tratamiento para calcular el error. El tiempo de muestreo y la interacción del tratamiento por tiempo fueron incluidos en el bloque menor, utilizando el cuadrado medio residual para contrastar sus diferencias. Para la comparación de las medias se utilizó la opción PDIFF, para probar sus diferencias mediante LSMEANS del procedimiento GLM (PROC GLM) del SAS (Littell *et al.*, 1991).

Debido a que los datos de las concentraciones de los metabolitos mostraron una alta variabilidad, se realizó su transformación mediante raíz cuadrada con objeto de homogenizar la varianza de los diferentes grupos de datos y proceder a hacer los análisis estadísticos pertinentes (Bland y Douglas, 1996). Las proporciones de cabras que presentaron o no el inicio de la pubertad fueron comparados con una prueba de ji-cuadrada.

4.8 Modelos estadísticos

Modelo 1: Para peso vivo y condición corporal

$$\text{Modelo 1: } Y_{ij} = \mu + T_i + ID_{j(i)} + t_k + T_{(ik)} + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ij} = medida en la i-ésima cabra en el j-ésimo tratamiento.

μ = Media general, común a todas la unidades experimentales antes de aplicar los tratamiento

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento, donde $i = 1, 2$ (AAE, CONT)

$ID_{j(i)}$ = Efecto de la j-ésima cabra en el i-ésimo tratamiento (ERROR A)

t_k = Efecto del k-ésimo tiempo de muestreo, donde $k = 1, \dots, 26$

$Tt_{(jk)}$ = Efecto de la interacción del i-ésimo tratamiento dentro del k-ésimo tiempo de muestreo

E_{ijk} = Error experimental del i-ésimo tratamiento más la j-ésima cabra más el k-ésimo tiempo de muestreo ($\sim \text{NID}, \mu=0, \sigma^2 e$)

Modelo 2: Para la concentración sérica de colesterol y glucosa

$$\text{Modelo 2: } Y_{ijk} = \mu + T_i + ID_{j(i)} + t_k + Tt_{(ik)} + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Concentración de colesterol

Y_{ijk} = Concentración de glucosa

μ = Media general, común a todas la unidades experimentales antes de aplicar los tratamientos

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento $i=1,2$ (AAE, CONT)

$ID_{j(i)}$ = Efecto de la j-ésima cabra en cada i-ésimo tratamiento (error A) $j=1,\dots,10$ ($n=10$ cabras por tratamiento)

t_k = Efecto del k-ésimo tiempo de muestreo. $K=1,\dots,6$ (tiempos de muestreo)

$Tt_{(ik)}$ = Efecto de la interacción tiempo muestreo y tratamiento

E_{ijk} = Error experimental $E_{ijk} \sim \text{NID}(0, \sigma_e)$ (error B)

Modelo 3: χ^2 para evaluar la distribución del % de cabras en pubertad

$$\text{Modelo 3: } \chi^2_0 = \sum_{i=1}^h \sum_{j=1}^c \frac{(n_{ji} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Donde:

χ^2_0 = Estadística de prueba para probar H_0

h = Tratamiento (AA, CC)

c = Tiempo de muestreo (1,...,15).

n_{ij} = Concentración de P4 en la i-ésima cabra en el j-ésimo tratamiento.

E_{ij} = Valores esperados de concentración de progesterona bajo el supuesto de homogeneidad de poblaciones de grupos de tratamiento para la i-ésima cabra en el j-ésimo tratamiento.

Calculados mediante:

$$E_{ij} = \frac{(n_i \cdot c_j)}{n}$$

Donde los componentes de la ecuación representan:

n_i = Número de cabras por tratamiento

c_j = Número de cabras muestreadas por tiempo

n = Número total de cabras

Se plantearon las siguientes hipótesis:

H_0 : Los dos tratamientos muestran las mismas concentraciones de progesterona en dos muestras consecutivas, sin diferencias en el tiempo para el inicio y el porcentaje de la pubertad.

H_1 : Los dos tratamientos muestran diferentes concentraciones de la progesterona en dos muestras consecutivas, con diferencias en el inicio y el porcentaje de la pubertad.

V. RESULTADOS

No existieron diferencias significativas ($p>0.05$) entre tratamientos para las variables PV y CC. Mientras que los valores iniciales de PV y CC fueron de 16.65 kg y 3.31 unidades, los valores finales para estas variables fueron 23.2 kg y 3.37 unidades, respectivamente. Tampoco se observaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre tratamientos con respecto a los promedios séricos globales de colesterol ($p>0.56$) y glucosa ($p>0.33$). Sin embargo, existió un efecto de tratamiento ($p<0.05$) sobre el porcentaje de cabras mostrando pubertad, observándose un 70% de las cabras en actividad reproductiva en el grupo suplementado con glutamato (7/10 cabras), mientras que solo el 25% de las cabras del grupo control iniciaron pubertad (2/8 cabras) (Cuadro 1 y Figura 8).

Cuadro 1. Medias de mínimos cuadrados para peso vivo (PV4), condición corporal (CC4), concentraciones séricas de glucosa (Glucosa mg dL⁻¹) y colesterol (Colesterol mg dL⁻¹) y porcentaje de cabras en pubertad (Pubertad %).

Variables	AAE	CONTROL	P	EE ²
PV4	23.75 ^a	22.76 ^a	0.34	0.72
CC4	3.69 ^a	3.38 ^a	0.06	0.10
Colesterol mg dL	77.89 ^a	76.97 ^a	0.56	1.10
Glucosa mg dL	94.5 ^a	93.9 ^a	0.33	0.46
Pubertad % ¹	70.0 ^a	25.0 ^b	0.05	46.0

¹ Dos o más muestras consecutivas con valores de P4 en suero ≥ 1 mg mL marco inicio de la pubertad

² EE, error estándar de medias de mínimos cuadrados

^{a b} Literales diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P<0.05$)

El grupo AAE no solamente logró un mayor porcentaje de cabras mostrando pubertad, sino también mostro un anticipado inicio de la pubertad (207 ± 9 días comparado con 225 ± 12 días; $P<0.05$). Los resultados obtenidos nos muestra que existe una reducción en el tiempo de inicio de la pubertad en aproximadamente 21 días. Lo anterior nos sugiere

que durante el inicio de la función reproductiva, la suplementación con glutamato impacta positivamente el desarrollo folicular, generando una actividad ovulatoria anticipada (Figura 8).

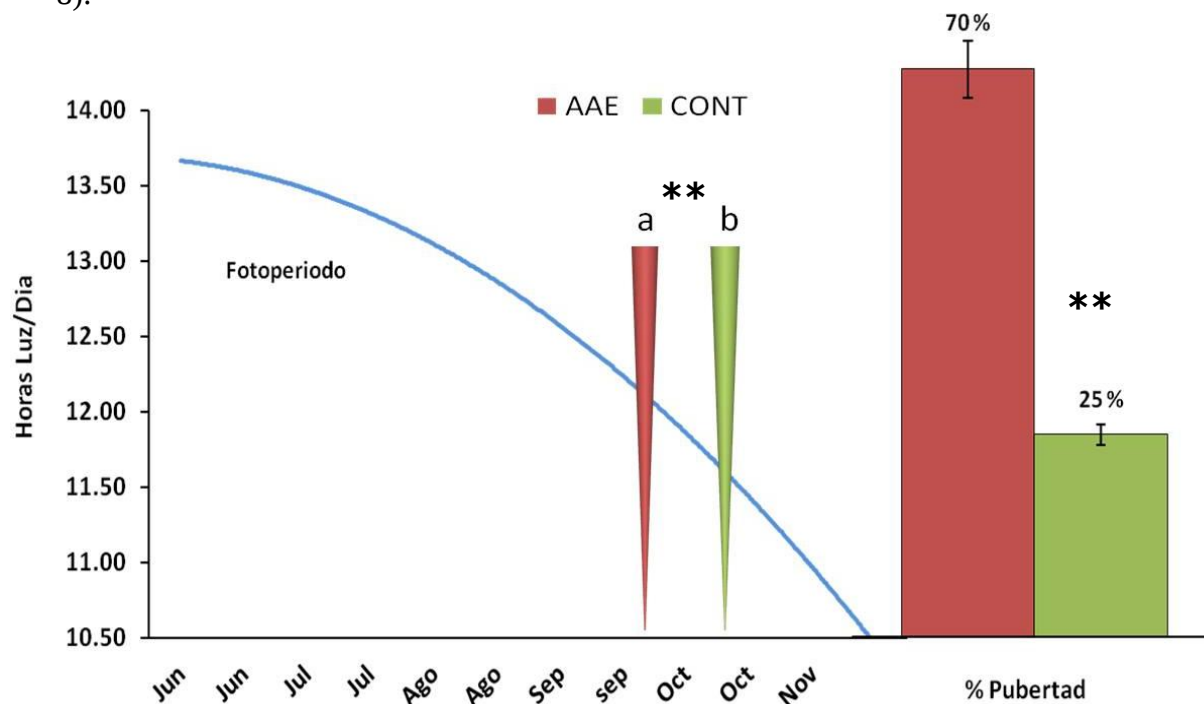


Figura 8. Inicio de pubertad AAE=Grupo suplementado con Glutamato (207 ± 9 días) y CONT=Grupo control (225 ± 12 días) y fotoperiodo natural decreciente durante el periodo experimental. Las barras (derecha) muestran el porcentaje de cabras que entraron a pubertad de ambos grupos durante el periodo experimental (* $p < 0.05$).

Con respecto a los niveles séricos de glucosa a través del tiempo, aunque no existieron diferencias entre tratamientos ($p > 0.05$; Figura 9), sí se observó una tendencia ($p = 0.07$) al través del tiempo para observar las mayores concentraciones de glucosa en el grupo suplementado con glutamato. Por el contrario, respecto a la concentración de colesterol a través del tiempo, las diferencias observadas favorecieron al grupo AAE (Figura 10; $p < 0.05$). En forma interesante, las mayores concentraciones séricas tanto de glucosa ($p = 0.07$) como de colesterol ($p < 0.05$) en el grupo suplementado con glutamato, fueron observadas particularmente, entre el 2/3 y 3/3 del período experimental (Figuras 9 y 10).

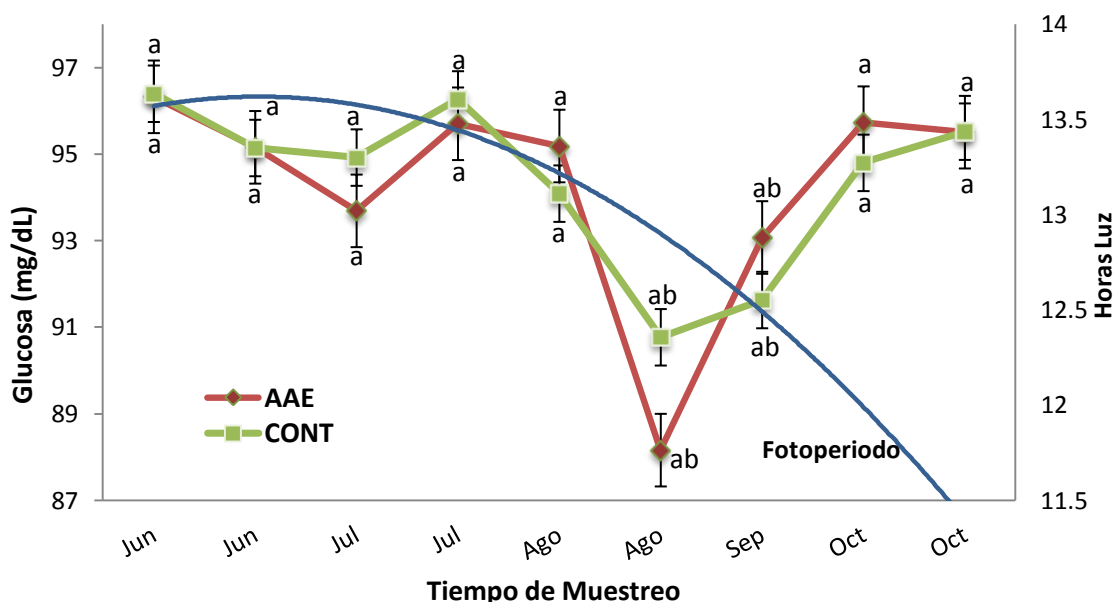


Figura 9. Concentraciones séricas de glucosa a través del tiempo en cabras suplementadas con glutamato (AAE) y grupo control (CONT) bajo fotoperiodo natural decreciente en la Comarca Lagunera. Se incluye la línea que denota el fotoperiodo prevaleciente durante el período experimental junio – octubre, en cabras peripúberes ($n=18$; $p=0.07$).

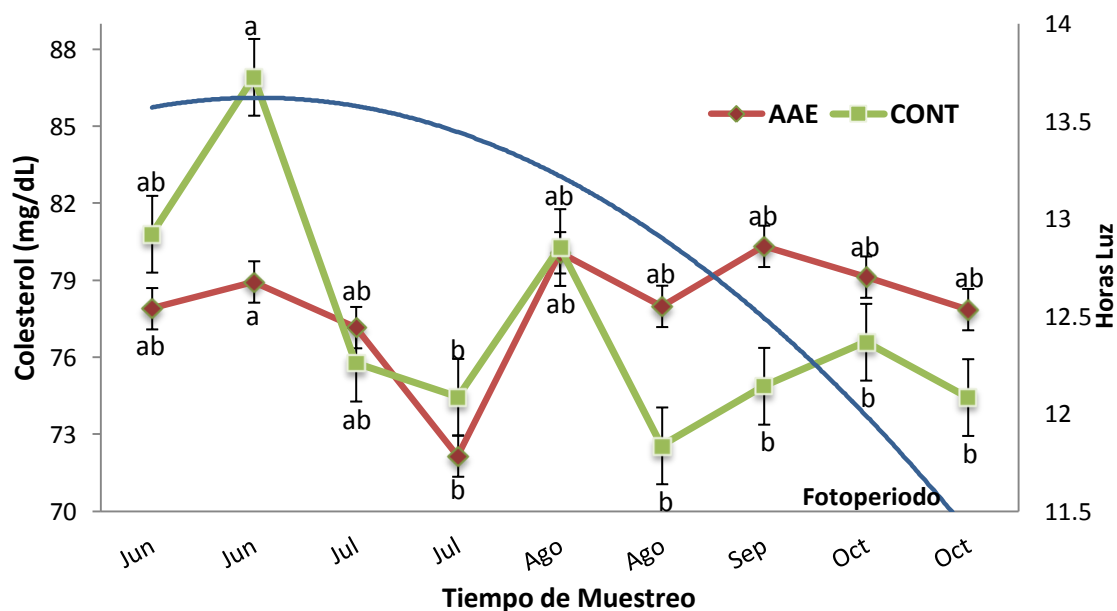


Figura 10. Concentraciones séricas de colesterol a través del tiempo en cabras suplementadas con glutamato (AAE) y grupo control (CONT) bajo fotoperiodo natural decreciente en la Comarca Lagunera. Se incluye la línea que denota el fotoperiodo prevaleciente durante el período experimental junio – octubre, en cabras peripúberes ($n=18$; $p<0.05$).

VI. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio, favorecen la hipótesis planteada al inicio del experimento, ya que la suplementación con glutamato no solo incrementó el porcentaje de cabras mostrando pubertad, sino que el inicio de la misma ocurrió en un menor periodo de tiempo con respecto al grupo control. En cuanto a los niveles séricos de metabolitos, la hipótesis original es parcialmente aceptada, ya que paralelo a un inicio más precoz y un mayor porcentaje de pubertad observado en las cabras tratadas con glutamato, dicho escenario fisiológico aunque solamente se asoció a una tendencia estadística con respecto a los niveles séricos de glucosa, sí generó un efecto significativo sobre las concentraciones de colesterol al través del tiempo en favor del grupo suplementado con glutamato. En efecto, se observó un incremento en las concentraciones de colesterol ($p<0.05$) y en menor grado de glucosa ($p=0.07$) en el grupo suplementado con glutamato, particularmente hacia el 3/3 del período experimental, coincidente con el mayor porcentaje de cabras mostrando pubertad.

Estudios que evaluaron el efecto del glutamato en la reproducción han concluido que este aminoácido excitador juega un rol crítico para la función endocrina, la pubertad, la pulsatilidad de LH y la función reproductiva. De acuerdo a Mahesh y Brann (2005), el glutamato probablemente afecte en forma directa a las neuronas de GnRH, promoviendo la secreción de LH y FSH en el estado peripuberal. En el mismo sentido, antagonistas de los receptores ionotrópicos de glutamato inhibieron la liberación de LH y abolieron el pico preovulatorio de LH inducido por esteroides. Antagonistas de los receptores NMDA y AMPA también pueden inhibir la liberación pulsátil de LH en animales castrados (Mahesh y Brann, 2005; Parent *et al.*, 2005).

En el mismo sentido, tanto el PV como la CC han sido relacionados con cambios en el estado metabólico del animal previo al inicio de la pubertad (Meza-Herrera, 2008; Meza-Herrera *et al.*, 2010a, b). Al respecto, al evaluar el inicio de la pubertad en humanos en diferentes regiones de México, se observó que la aparición de esta etapa de transición a la madurez reproductiva se relacionó positivamente a la ganancia de peso y al índice de masa corporal (Vázquez *et al.*, 2009).

Sin embargo, Meza-Herrera *et al.* (2011) reportaron que la suplementación con glutamato adelantó tanto el inicio como el porcentaje de pubertad en cabras, pero que dicho escenario no estuvo relacionado con cambios en el PV y la CC. Por lo tanto, los resultados de este estudio no apoyan la hipótesis de que en caprinos la pubertad está estrechamente relacionada con el peso corporal y la deposición de grasa corporal (Schneider *et al.*, 2000). Lo anterior concuerda con otros estudios que informan que la pubertad no puede producirse incluso con aumento de la grasa corporal y la leptina sérica (Bronson, 2001).

Por lo anterior, los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que el inicio de la pubertad en caprinos está significativamente relacionado al efecto positivo que el glutamato ejerce sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, particularmente sobre las neuronas GnRH. Torres-Moreno *et al.* (2009) concluyeron que el inicio de la pubertad pareciera implicar un mecanismo independiente de insulina para regular la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas en cabras jóvenes, ya que los niveles séricos de insulina no estuvieron asociados con el inicio de la pubertad en las cabras suplementadas con glutamato.

Al respecto, es conveniente recordar que la suplementación nutricional altera el sistema de glucosa-insulina (Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2005; Scaramuzzi *et al.*, 2006), la

leptina y los niveles de IGF-I (Gámez-Vázquez *et al.*, 2008; Guerra-García *et al.*, 2009; Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2005). En el presente estudio, también se observaron diferencias en las concentraciones de glucosa a través del tiempo en favor del grupo suplementado, lo cual pudiera estar relacionado a la absorción mediada por el GLUT4, principalmente por los tejidos muscular y adiposo, además de que las células de la granulosa contienen este transportador de glucosa (Williams *et al.*, 2001; Nishimoto *et al.*, 2006), lo cual es potencialmente importante en la activación de esteroidogénesis folicular y la primovulación.

Berlinguer *et al.* (2012) evaluó el efecto de la suplementación a corto plazo con sustratos glucogénicos en ovejas Sardas adultas, observando diferencias en las concentraciones de glucosa, en los días 10 y 11 del período experimental en el grupo tratado. En este sentido Gallet *et al.* (2011) describió que infusiones de corto plazo de glucosa incrementaron el número de folículos, lo cual sugiere que la glucosa estimula el crecimiento del folículo. Sin embargo, la administración de glucogénicos no afectó el número total de folículos, aunque sí mostró una mejor dinámica de crecimiento y en su competencia funcional ya que después de la fertilización *in vitro*, los ovocitos de las ovejas tratadas lograron mayores tasas de fertilización en comparación con las ovejas no tratadas. Asimismo, las concentraciones de progesterona mostraron un patrón coincidente con las diferencias en las concentraciones de glucosa en el grupo tratado. Por ello, la acción local de la glucosa en el ovario puede explicar el efecto positivo que ejerce el suministro de energía sobre la secreción de progesterona por cuerpo lúteo, ya que los transportadores de glucosa no se expresan sólo por el folículo, sino también por el cuerpo lúteo (Nishimoto *et al.*, 2006). Dichos resultados sugieren que la glucosa es una fuente primordial de energía

para las células lúteas, las cuales utilizan grandes cantidades de glucosa durante la fase lútea temprana y media, mientras que la captación de glucosa disminuye paralelo a la regresión del cuerpo luteo (Chase *et al.*, 1992).

La ovulación ocurre debido a un incremento en el crecimiento del folículo, mediado por un aumento en la síntesis de estradiol en la fase de reclutamiento folicular (Chappel y Howles, 1991). Un incremento de estradiol en el reclutamiento fue reportado por Letelier *et al.*, (2008) debido a la administración de energía, lo cual coincide con los hallazgos reportados por Berlinguer *et al.*, (2012), quienes reportaron un incremento en las concentraciones de estradiol entre los días 9 y 11, en favor del grupo tratado. El estradiol es considerado un marcador fiable de la función folicular en ovejas (Campbell *et al.* 1995.); una disminución en la secreción de estradiol folicular está relacionada con deficiencias en salud folicular y, por lo tanto, en la competencia de desarrollo del ovocito (Oussaid *et al.* 1999).

Por otra parte, los folículos estimulados con gonadotropinas exógena muestran una funcionalidad deficiente, comprometiendo la competencia funcional y el desarrollo de sus ovocitos para transformarse en embriones viables. Estudios previos han informado de que los ovocitos de hembras estimuladas con FSH exógena, muestran un tamaño menor y una menor tasa de maduración *in vitro* (Driancourt 2001), lo que conduce a una mayor incidencia de deficiencias en la maduración *in vitro* (de Loos *et al.* 1991) y posterior desarrollo del embrión (Rubianes *et al.* 1997). Sin embargo, tratamientos glucogénicos muestran una influencia positiva sobre la calidad de los ovocitos, específicamente, sobre la capacidad de ser fertilizado.

Por lo anterior, los datos obtenidos en el presente estudio son relevantes, ya que las concentraciones de glucosa aumentaron ($p=0.07$) en el grupo tratado con glutamato, mostrando asimismo un mayor porcentaje de pubertad en un período de tiempo menor con respecto al grupo control, sugiriendo un efecto dependiente de glucosa, como principal metabolito energético el cual pudiera haber actuado directamente sobre sus receptores en el ovario y folículo.

Con respecto al patrón de concentración de colesterol al través del tiempo en nuestro estudio, éste favoreció al grupo AAE, lo cual se relacionó positivamente con un mayor porcentaje de hembras mostrando el inicio de la pubertad. Al respecto, existe evidencia de que las concentraciones tanto de glucosa como de colesterol están estrechamente ligadas al estado metabólico así como a la activación de la función reproductiva. En humanos se han descrito diferencias significativas en las concentraciones de colesterol total en diferentes etapas dentro del periodo de pubertad, lo cual se relacionó positivamente con los niveles nutricionales. Asimismo, infantes subnutridos de zonas rurales mostraron menores concentraciones de colesterol total, paralelo a un retraso en la presentación de la pubertad. Por otra parte, infantes de zonas urbanas con un mejor estado nutricional mostraron una pubertad precoz, correlacionándose positivamente con niveles altos de colesterol (Vázquez *et al.*, 2009). Diferencias

En el presente estudio, las cabras del grupo tratado con glutamato lograron el mayor porcentaje de pubertad en un menor periodo de tiempo, paralelo a las mayores concentraciones de colesterol total a través del tiempo sin diferencias para PV y CC con respecto al grupo control. Lo anterior sugiere que la actividad del glutamato no solamente promovió la estimulación del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, sino que también pudo

haber actuado sobre otros sistemas metabólicos involucrados en la modulación del metabolismo energético, particularmente aquellos relacionados a glucosa y lípidos.

Debido a que los receptores de glutamato se localizan en una variedad de núcleos hipotalámicos críticos en la activación de las funciones reproductiva y neuroendocrina, se ha planteado la hipótesis de que este aminoácido excitador puede desempeñar un papel decisivo en los procesos reproductivos como el inicio de la pubertad, la secreción de hormonas gonadales, el comportamiento reproductivo y la respuesta al estrés (Brann y Mahesh, 1997; Parent *et al.*, 2005; Meza-Herrera, 2008; 2011).

Al respecto, estudios recientes han reportado receptores a glutamato a nivel hepático, lugar en donde se sintetiza y almacena el colesterol, el cual a su vez es el principal precursor de hormonas esteroidales al hacer uso de la ruta esteroidogénica. Dichas hormonas esteroidales, en turno, son responsables de activar los procesos de espermatogénesis y foliculogénesis, además de estar involucradas en el comportamiento sexual de machos y hembras (Meza-Herrera *et al.*, 2010a).

En adición a lo anterior, los esteroides actúan sobre la función reproductiva mediando el efecto de retroacción sobre la secreción de GnRH, esto gracias a las neuronas de kisspeptina que de acuerdo a Lehman *et.al.*, (2010) son las encargadas de controlar dicha acción de los esteroides sobre la secreción de GnRH, dado que estas células presentan receptores a dichos esteroides.

Respecto al fotoperiodo registrado en el presente estudio, se observó un decremento de 13.5 a 11.3 horas de luz entre julio y noviembre, generando una disminución global en la señales fóticas de poco más de dos horas luz. Sin embargo, aún enfrentando dicho patrón

lumínico, el grupo tratado con glutamato mostró un inicio más temprano de la pubertad, logrando una anticipación de poco más de tres semanas con respecto al grupo control. Lo anterior sugiere un efecto positivo de la suplementación de glutamato sobre la activación del eje hipotalámico-hipofisiario que indica una menor sensibilidad a la retroacción negativa que estradiol pudiera estar ejerciendo sobre los centros hipotalámicos en los estados previos a la pubertad, desencadenando finalmente la reactivación del eje H-H-G en el grupo tratado con glutamato (Meza-Herrera *et al.*, 2009; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2011; Meza-Herrera y Tena-Sempere, 2012).

Dado que ambos, KiSS-1 y kisspeptinas, han sido identificados en neuronas glutamatérgicas, un posible escenario en nuestro estudio sugiere una regulación positiva en la expresión del trinomio KiSS-1/kisspeptinas/GPR54 dependiente de la suplementación con glutamato. Lo anterior aún cuando el grupo suplementado enfrentó un período más prolongado de horas luz al momento de iniciar la pubertad con respecto al control, aproximadamente 30 minutos más de luz, generando una activación anticipada de las neuronas de GnRH. En estados peripuberales, se ha reportado un control glutamatérgico de las neuronas de GnRH modulado por kisspeptinas al momento de la activación del eje H-H-G (Meza-Herrera, 2012), mientras que las neuronas kisspeptinérgicas integran señales tanto circadianas como estacionales que permiten sincronizar la actividad reproductiva entorno a la ciclicidad ambiental, y más particularmente entorno al fotoperíodo prevaleciente (Simonneaux *et al.*, 2012).

Las ovejas al igual que las cabras son reproductores estacionales, con una marcada reducción en la expresión de kisspeptinas en el núcleo arqueado en la época de anestro, lo cual sugiere que los mecanismos que controlan los cambios estacionales en la función

reproductiva involucran la activación de neuronas kisspeptidérgicas,. Tanto la época de anestro como los estados prepuberales se caracterizan por mostrar una exquisita sensibilidad del hipotálamo hacia la retroacción negativa que ejerce estradiol sobre la secreción de GnRH, por lo que las neuronas kisspeptidérgicas parecieran estar involucradas no solo en la determinación del anestro estacional (Clarke *et al.* 2009) sino en la activación de la cascada neuroendocrina que determina el inicio de la pubertad (Meza-Herrera, 2012)

La activación inicial de las neuronas de GnRH es afectada por la estimulación de los neurotransmisores tales como GABA y glutamato, lo que resulta en un aumento en los niveles circulantes de estradiol. En turno, la expresión kisspeptina es estimulada por los niveles crecientes de estradiol, que luego amplifica la actividad de las neuronas de GnRH mediante un efecto de retroalimentación positiva que conduce al inicio de la pubertad. En efecto, la estimulación de las neuronas de kisspeptina es mediada por los incrementos en los niveles de estradiol, en donde el glutamato regula la esteroidogénesis ovárica, además de afectar la expresión de receptores a estradiol (Yatsushiro *et al.*, 2000), actuando, de esta forma, como una co-gonadotropina en la fase de reclutamiento folicular. Posteriormente, los niveles de kisspeptina fluctúan con los niveles cíclicos de estradiol para impulsar la generación del pico preovulatorio de GnRH/LH.

Adicionalmente, el glutamato ha sido definido como el principal neurotransmisor en el tracto retinohipotalámico que informa al sistema circadiano del SNC respecto al nivel de señales fóticas prevalecientes en el ambiente externo (Ebling 1996; Hannibal, 2002). Lo expuesto es de importancia fundamental, ya que las consecuencias reproductivas de iniciar la pubertad entrañan la activación de procesos fisiológicos altamente demandantes desde una óptica energética (v.g. gestación y lactancia). Por ello, la activación de éste tipo de

sistemas neuroendocrinos que alinean la función reproductiva con un medioambiente cambiante, son de fundamental importancia para asegurar el éxito reproductivo de las especies.

VII. CONCLUSIONES

La suplementación con glutamato no solamente generó un inicio precoz sino que promovió un mayor porcentaje de pubertad en cabras con un nivel de encaste de 7/8 Saanen-Alpino, a 26° LN, sin observar diferencias entre grupos con respecto al peso vivo o la condición corporal. Dicho escenario fisiológico se relacionó positivamente con incrementos en las concentraciones tanto de glucosa como de colesterol. Por lo anterior, los resultados sugieren que tanto el inicio y el porcentaje de pubertad están relacionados a cambios en el metabolismo energético, en las cabras suplementadas con glutamato.

En el mismo sentido, los resultados sugieren una posible regulación positiva de glutamato en la expresión del trinomio KiSS-1/kisspeptinas/GPR54 a nivel de neuronas glutamatéricas o de GnRH. Lo anterior generó, en una ruta aún no definida, una disminución en la sensibilidad a la retroacción negativa ejercida por estradiol sobre los núcleos centrales hipotálamicos en cabras enfrentando un fotoperiodo más inhibitorio -30 minutos más de luz- con respecto al grupo control, cuyo resultado final, promovió una activación anticipada de las neuronas de GnRH en el grupo suplementado con glutamato.

La suplementación con glutamato al generar un mejor estado metabólico, con incrementos en los niveles séricos de glucosa y colesterol, pudo haber promovido una mejor comunicación entre los componentes del eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal, aún bajo fotoperíodos más inhibitorios de la función reproductiva con respecto al grupo control. Lo anterior a su vez, promovió un mejor ambiente neuroendocrino para la activación de la esteroidogénesis y el desarrollo folicular, promoviendo la primo-ovulación en las cabras tratadas; dichos resultados destacan una importancia no solo clínica sino productiva.

VIII. LITERATURA CITADA

- Aréchiga C, Aguilera J, Rincón R, Méndez de Lara S, Bañuelos R, Meza-Herrera CA. 2008. Situación actual y perspectivas de la producción caprina ante el reto de la globalización. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 9:1-14.
- Arroyo LJ, Gallegos-Sanchez J, Villa-Godoy A, Berruecos JM, Perera G, Valencia J, 2007. Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Animal Reproduction Science*. 102: 24–30.
- Bai L, Xu H, Collins JF, Ghishan FK. 2001. Molecular and functional analysis of novel neuronal vesicular glutamate transporter. *Journal of Biological Chemistry*. 276: 36764-36769.
- Barrell GK, Thrun LA, Brown ME, Viguie C, Karsch FJ. 2000. Importance of photoperiodic signal quality to entrainment of the circannual reproductive rhythm of the ewe. *Biology of Reproduction*. 63: 769–774.
- Bertrand G, Gross R, Puech R, Loubatieres-Mariani MM, Bockaert J. 1992. Evidence for a glutamate receptor of the AMPA subtype which mediates insulin release from rat perfuse pancreas. *British Journal of Pharmacology*. 106: 354-359.
- Bland JM, Douglas G. 1996. Statistics notes: measurement error. *BMJ*;313doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.313.7059.744>.
- Bourguignon J-P, Gerard A, González M-LA, Purnelle G, Franchimont P. 1995. Endogenous glutamate involvement in pulsatile secretion of gonadotropin-releasing hormone: evidence from the effect of glutamine and developmental changes. *Endocrinology*. 136:911–916.
- Brailoiu GC, Dun SL, Ohsawa M, Yin D, Yang J, Chang JK, Brailoiu E, Dun NJ. 2005. KiSS-1 expression and metastin-like immunoreactivity in the rat brain. *Journal of Comparative Neurology*. 48: 314-329.
- Brann DW, Mahesh VB. 1994. Excitatory amino acids: function and significance in reproduction and neuroendocrine regulation. *Frontiers in neuroendocrinology*. 15: 3-49.
- Brann DW, Mahesh VB. 1995. Glutamate: A major neuroendocrine excitatory signal mediating steroid effects on gonadotropin secretion. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 53: 325-329.
- Brann DW, Mahesh VB. 1997. Excitatory amino acids: evidence for a role in the control of reproduction and anterior pituitary hormone secretion. *Endocrine Reviews*. 18: 678-700.
- Bronson FH, 2001. Puberty in female mice is not associated with increases in either body fat or leptin. *Endocrinology*. 142: 4758-4761.

- Brown RE, Imran SA, Ur E, Wilkinson M. 2008. KiSS-1 mRNA in adipose tissue is regulated by sex hormones and food intake. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 281: 64-72.
- Bucholtz DC, Vidwans NM, Herbosa CG, Schillo KK, Foster DL. 1996. Metabolic interfaces between growth and reproduction. V. Pulsatile LH secretion is dependent upon glucose availability. *Endocrinology*. 137: 601–607.
- Budak E, Fernandez-Sanchez M, Bellver J, Cervero A, Simon C, Pellicer A. 2006. Interactions of the hormones leptin, ghrelin, adiponectin, resistin and PYY3-36 with the reproductive system. *Fertility and Sterility*. 85: 1563–1581.
- Burdakov D, Lesage F. 2010. Review: Glucose-induced inhibition: how many ionic mechanisms? *Acta Physiologica*. 198: 295–301.
- Burger K, Gimpl G, Fahrenholz F. 2000. Regulation of receptor function by cholesterol. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 57: 1577–1592.
- Berlinguer F, Gonzalez-Bulnes A, Contreras-Solis I, Spezzigu A, Torres-Rovira L, Succu S, Naitana S, Leoni GG. 2012. Glucogenic supply increases oocyte developmental competence in sheep. *Reproduction, Fertility and Development*. doi.org/10.1071/RD11299
- Campbell BK, Scaramuzzi RJ, Webb R. 1995. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *Journal Reproduction Fertil. Suppl*. 49: 335–350.
- Carr BR, Simpson ER. 1981. Lipoprotein utilization and cholesterol synthesis by the human fetal adrenal gland. *Endocrine Reviews*. 2: 306-326.
- Casanueva FF, Dieguez C. 1999. Neuroendocrine regulation and actions of leptin. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 20: 317-63.
- Castellano JM, Bentsen AH, Sanchez-Garrido MA, Ruiz-Pino Francisco, Romero M, Garcia-Galiano David, Aguilar E, Pinilla L, Diéguez C, Mikkelsen JD, Tena-Sempere M. 2011. Early metabolic programming of puberty onset: impact of changes in postnatal feeding and rearing conditions on the timing of puberty and development of the hypothalamic kisspeptin system. *Endocrinology*. 152: 3396-340.
- Castellano JM, Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Nogueiras R, Tovar S, Roa J, Vazquez MJ, Viego E, Casanueva F, Aguilar E, Dieguez C, Tena-Sampere M. 2005. Changes in hypothalamic KiSS-1 system and restoration of pubertal activation of the reproductive axis by kisspeptin in undernutrition. *Endocrinology*. 146: 3917-3925.
- Castellano JM, Roa J, Luque RM, Dieguez C, Aguilar E, Pinilla L, Tena-Sempere M. 2009. KiSS-1/kisspeptins and the metabolic control of reproduction: physiologic roles and putative physiopathological implications. *Peptides*. 30: 139–145.
- Castrejón V, Carbó R, Martínez M. 2007. Mecanismos Moleculares que Intervienen en el Transporte de la Glucosa. *REB*. 26: 49-57.

- Chappel SC, Howles C. 1991. REVIEW Reevaluation of the roles of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the ovulatory process. *Human Reproduction*. 6: 1206-1212.
- Chase CC, Jr Del Vecchio RP, Smith SB, Randel RD. 1992. *In vitro* metabolism of glucose by bovine reproductive tissues obtained during the oestrous cycle and after calving. *Journal Animal Science*. 70: 1498–1508.
- Chemineau P, Malpaux B, Brillard JP, Fostier A. 2007. Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal*. 1: 419-432.
- Choi J, Ha CM, Choi EJ, Jeong CS, Park JW, Baik JH, Park JY, Costa ME, Ojeda SR, Lee BJ. 2008. Kinesion superfamily-associated protein 3 is preferentially expressed in glutamatergic neurons and contributes to the excitatory control of female puberty. *Endocrinology*. 149: 6146-6156.
- Clarke IJ, Smith JT, Caraty A, Goodman RL, Lehman MN. 2009. Kisspeptin and seasonality in sheep. *Peptides*. 30: 154-163.
- Clarkson J, d'Anglemont de Tassigny X, Moreno AS, Colledge WH, Herbison AE. 2008. Kisspeptin-GPR54 signaling is essential for preovulatory gonadotropin-releasing hormone neuron activation and the luteinizing hormone surge. *Journal of Neuroscience*. 28: 8691–8697.
- Clarkson J, Han SK, Liu X, Lee K, Herbison AE. 2010. Neurobiological mechanisms underlying kisspeptin activation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons at puberty. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 324: 45–50.
- Cushwa WT, Bradford GH, Stabenfeldt YM, Berger M, Rally MR. 1992. Ram influence on ovarian and sexual activity in anestrus ewes: effects of isolation of ewes from rams before joining and date of ram introduction. *Journal Animal Science*. 70:1195-1200.
- de Loos F AM, Bevers MM, Dieleman SJ, Kruip ThAM. 1991. Follicular and oocyte maturation in cows treated for superovulation. *Theriogenology* 35: 537–546.
- DeNicolo G, Morris ST, Kenyon PR, Morel PCH, Parkinson TJ. 2008. Melatonin-improved reproductive performance in sheep bred out of season. *Animal Reproduction Science*. 109: 124–133.
- Dickman KG, Youssef JG, Mathew SM, Said SI. 2004. Ionotropic glutamate receptors in lungs and airways: molecular basis for glutamate toxicity. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 30: 139-144.
- Diskin MG, Mackey DR, Roche JF, Sreenan JM. 2003. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science*. 78: 345-370.
- Driancourt MA. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*. 55: 1211–1239.

- Ducy P, Schinke T, Karsenty G. 2000. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science*. 289: 1501-1504.
- Ebling FJ. 1996. The role of glutamate in the photic regulation of the suprachiasmatic nucleus. *Progress in Neurobiology*. 50(2):109-32.
- Ebling FJ. 2005. The neuroendocrine timing of puberty. *Reproduction*. 129:675–683.
- Echavarría CF, Salinas GH, Hoyos FG, Falcón RJ, Flores RR. 1999. Comercialización de carne de caprino en Zacatecas. Fundación Produce SAGAR-INIFAP. Folleto Científico No. 4.
- FAO. Estadísticas de producción caprina. Disponible en <http://www.fao.org>. Consultado 8 Diciembre 2011.
- Fernández-Fernández R, Martini AC, Navarro VM, Castellano JM, Dieguez C, Aguilar E, Pinilla L, Tena Sempere M. 2006. Novel signals for the integration of energy balance and reproduction. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 254-255: 127–132.
- Foster DL, Nagatani S. 1999. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Biology of Reproduction*. 60: 205-215.
- Fruhbeck G. 2006. Intracellular signaling pathways activated by leptin. *Biochemical Journal*. 393:7-20.
- Gallet C, Dupont J, Campbell B, Monniaux D, Guillaume D, Scaramuzzi R. 2011. The infusion of glucose in ewes during the luteal phase increases the number of follicles but reduces oestradiol production and some correlates of metabolic function in the large follicles. *Animal Reproduction Science*. 127: 154-63.
- Gómez-Vázquez HG, Rosales-Nieto CA, Bañuelos-Valenzuela R, Urrutia-Morales J, Díaz-Gómez MO, Silva-Ramos JM, Meza-Herrera CA. 2008 Body condition score positively influence plasma leptin concentrations in creole goats. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 7: 1237-1240.
- Gazal S, Kouakou B, Amoah EA, Barb CR, Barrett JB, Gelaye S. 2002. Effects on N-methyl-D,L-aspartate on LH, GH, and testosterone secretion in goat bucks maintained under long or short photoperiods. *Journal of Animal Science*. 80: 1623-1628.
- Gill SS, Pulido OM, Mueller RW, McGuire PF. 2000. Potential target sites in peripheral tissues for excitatory neurotransmission and excitotoxicity. *Toxicologic Pathology*. 28: 277–284.
- Gill SS, Pulido OM. 2001. Review: Glutamate receptors in peripheral tissues: current knowledge, future research, and implication for toxicology. *Toxicologic Pathology*. 29: 208–223.

- Gimpl G, Gehrig-Berger K. 2007. Cholesterol reporter molecules. *Bioscience Reports*. 27: 335-358.
- Goldman BD. 1999. The circadian timing system and reproduction in mammals. *Steroids*. 64:679-85.
- Goldman BD. 2001. Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. *Journal of Biological Rhythms*. 16:283-301.
- González-Bulnes A, Meza-Herrera CA, Rekik M, Ben Salem H, Kridli RT. 2010. Limiting factors and strategies for improving reproductive outputs of small ruminants reared in semi-arid environments. *Semi-arid environments: Agriculture, water supply and vegetation*. Ed: KM Degenovine. Nova Science Publishers Inc. Hauppauge, NY, USA. 41-60.
- González-Bulnes A, Meza-Herrera CA, Rekik M, Ben Salem H, Kridli RT. 2011. *Semi-Arid Environments Agriculture, Water Supply and Vegetation*. Kara M. Degenovine, Editor. Pulished by Nova Science Publishers, Inc. New York: 41-62.
- Gottsch ML, Clifton DK, Steiner RA. 2006. Kisspeptin-GPR54 signaling in the neuroendocrine reproductive axis. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 254-255: 91-96.
- Guerra-García M, Meza-Herrera CA, Sanchez-Torres-Esqueda MT, Gallegos-Sanchez J, Torres-Hernandez G, Pro-Martinez A. 2009. IGF-1 and ovarian activity of goats in divergent body condition and supplemented with non-degradable ruminal protein. *Agrociencia*. 4: 241-247.
- Guerrero CM. 2010. La caprinocultura en México, una estrategia de desarrollo. *Revista Universitaria Digital de Ciencias Sociales*. 1:8.
- Han SK, Gottsch ML, Lee KJ, Popa SM, Smith JT, Jakawich SK, Clifton DK, Steiner RA, Herbison AE. 2005. Activation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons by kisspeptin as a neuroendocrine switch for the onset of puberty. *Journal of Neuroscience*. 25:11349–11356.
- Hannibal J. 2002. Neurotransmitters of the retino-hypothalamic tract. *Cell and tissue research*. 309: 73-88.
- Hayashi M, Yamada H, Uehara S, Morimoto R, Muroyama A, Yatsushiro S, Takeda J, Yamamoto A, Moriyama Y. 2003. Secretory granule-mediated co-secretion of L-glutamate and glucagon triggers glutamatergic signal transmission in islets of langerhans. *Journal Biological Chemistry*. 278: 1966– 1974.
- Hinoi E, Takarada T, Ueshima T, Tsuchihashi Y, Yoneda Y. 2004. Review: Glutamate signaling in peripheral tissues. *European Journal of Biochemistry*. 271: 1–13.
- Hollmann, M, Heinemann S. 1994. Cloned glutamate receptors. *Annual Review of Neuroscience*. 17: 31–108.

- Hu J, Zhonghua Z, Shen WJ, Azhar S. 2010. Review: Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutrition and Metabolism*. 7:47.
- Jordán SD, Könnér AC, Brúning JC. 2010. Review: Sensing the fuels: glucose and lipid signaling in the CNS controlling energy homeostasis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 67: 3255–3273.
- Lehman MN, Merkley CM, Coolen LM, Goodman RL. 2010. Anatomy of the kisspeptin neural network in mammals. *Brain Research*. 1364:90–102
- Letelier C, Mallo F, Encinas T, Ros JM, González-Bulnes A. 2008. Glucogenic supply increases ovulation rate by modifying follicle recruitment and subsequent development of preovulatory follicles without effects on ghrelin secretion. *Reproduction*. 136: 65-72
- Levin BE. 2001. Glucosensing neurons do more than just sense glucose. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*. 25:68-72.
- Littell C.R., Freud J.R., Philip C. 1991. Sas[®] system for linear models, third edition, Cary, NC, SAS Institute Inc., 329 pp.
- López-Medrano J, Meza-Herrera CA, González-Bulnes A, Torres-Moreno M, Mellado BM, Wurzinger M, Trejo CR. 2009. Effect of exogenous glutamate supply on the onset of puberty in goats ii. serum levels of triiodothyronine. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 11: 197-200
- Louis GW, Greenwald-Yarnell M, Phillips R, Coolen LM, Lehman MN, Myers MG. 2011. Molecular mapping of the neural pathways linking leptin to the neuroendocrine reproductive axis. *Endocrinology*. 152: 2302–2310
- Luque RM, Kineman RD, Tena-Sempere M. 2007. Regulation of hypothalamic expression of KiSS-1 and GPR54 genes by metabolic factors: analyses using mouse models and a cell line. *Endocrinology*. 148: 4601–4611.
- Maechler P, Gjinovic A, Wolheim CB, 2002. Implication of glutamate in the kinetics of insulin secretion in rat and mouse perfused pancreas. *Diabetes*. 51: 99-102.
- Mahesh VB, Brann WD. 2005 Regulatory role of excitatory amino acids in reproduction. *Endocrine*. 28: 271-280.
- Malpoux B, Chemineau P, Pelletier J. 1993. Melatonin and reproduction in sheep and goats. Melatonin: biosynthesis, physiological effects and clinical applications. 253-287.
- Martínez MJ, Espinosa-García MT, Maldonado G, Uribe A, Flores O, Milán R, García C. 2001. El colesterol es esencial en el desarrollo embrionario y en el crecimiento celular. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*. 44:168-176.

- Marty N, Dallaporta M, Thorens B. 2007. Brain glucose sensing, counterregulation, and energy homeostasis. *Physiology*. 22:241–251.
- Mayén M. 1989. *Explotación Caprina*. Editorial Trillas. México: 9 -15.
- Meeker RB, Greenwood RS, Hayward JN. 1994. Glutamate receptors in the rat hypothalamus and pituitaria. *Endocrinology*. 134:621-629.
- Mellado M. 1997. La cabra criolla en América Latina. *Veterinaria México*. 28: 333-343.
- Meza-Herrera CA, González-Bulnes A, Kridli R, Mellado M, Arechiga-Flores CF, Salinas H, Luginbuhl JM. 2009. Neuroendocrine, metabolic and genomic cues signaling the onset of puberty in females. *Reproduction in Domestic Animals*. doi:10.1111/j.1439-0531.2009.01355.x
- Meza-Herrera CA, Ross T, Hallford D, Hawkins D, González-Bulnes A. 2007. Effects of body condition and protein supplementation on LH secretion and luteal function in sheep. *Reproduction in Domestic Animals*. 42: 461-465.
- Meza-Herrera CA, Ross T, Hallford D, Hawkins D, González-Bulnes A. 2010a. High periconceptional protein intake modifies uterine and embryonic relationships increasing early pregnancy losses and embryo growth retardation in sheep. *Reproduction in Domestic Animals*. 45: 723-728.
- Meza-Herrera CA, Sánchez JM, Chávez PG, Salinas H, Mellado M. 2004. Protein supplementation, body condition and ovarian activity in goats. Preovulatory serum profile of insulin. *South African Journal of Animal Science*. 34: 223-226.
- Meza-Herrera CA, Tena-Sempere M. 2012. Interface between nutrition and reproduction: the very basis of production. In: *Animal Reproduction in Livestock*. [eds. S. Astiz, A. González-Bulnes], in *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*, under the auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Oxford, UK, [<http://www.eolss.net>].
- Meza-Herrera CA, Torres-Moreno M, López-Medrano J, González-Bulnes A, Veliz-Deras FG, Mellado M, Wurzinger M, Soto-Sanchez M, Calderón-Leyva MG. 2011. Glutamate supply positively affects serum release of triiodothyronine and insulin across time without increases of glucose during the onset of puberty in female goats. *Animal Reproduction Science*. 125: 74–80.
- Meza-Herrera CA, Veliz-Deras FG, Wurzinger M, Lopez-Ariza B, Arellano-Rodriguez G, Rodríguez-Martínez R. 2010b. The KiSS-1, kisspeptin, GPR-54 complex: a critical modulator of GnRH neurons during pubertal activation. *Journal of Applied Biomedicine*. 8: 1-9.
- Meza-Herrera CA. 2008. Regulatory mechanisms of puberty in female goats: recent concepts. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 9: 29-38
- Meza-Herrera CA. 2012. Puberty, kisspeptin and glutamate: A ceaseless golden braid. *Advances in Medicine and Biology*, Ed: Benhardt, L.V. Nova Science Publishers, NY, USA. 52: 97-124.

- Moffatt-Blue CS, Sury JJ, Kelly AY. 2006. Short photoperiod induced ovarian regression is mediated by apoptosis. *Reproduction*.131: 771-782.
- Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy A, Michalovich D, Moore DJ, Calamari A, Szekeres PG, Sarau HM, Chambers JK, Murdock P, Steplewski K, Shabon U, Miller JE, Middleton SE, Darker JG, Larminie CGC, Wilson S, Bergsma DJ, Emson P, Faull R, Philpott KL, Harrison DC. 2001. AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *Journal of Biological Chemistry*. 276: 28969-28975.
- Muñoz-Gutierrez M, Findlay PA, Adam CL, Wax G, Campbell BK, Kendall NR, Khalid M, Forsberg M, Scaramuzzi RJ. 2005. The ovarian expression of mRNAs for aromatase, IGF-I receptor, IGF- binding protein-2, 4 and 5, leptin receptor in cycling ewes after three days of leptin infusion. *Reproduction*.130: 869-881.
- Navarro VM, Castellano JM, Tena-Sempere M. 2007. Nuevas señales en pubertad: sistema KiSS-1/GPR54. *Endocrinología y Nutrición*. 54:299-306
- Neal-Perry Gs, Zeevalk GD, Santoro NF, Etgen AM. 2005. Attenuation of preoptic area glutamate release correlates with reduced luteinizing hormone secretion in middle-aged female rats. *Endocrinology*. 146: 4331-4339.
- Nishimoto H, Matsutani R, Yamamoto S, Takahashi T, Hayashi K, Miyamoto A, Hamano S, Tetsuka M. 2006. Gene expression of glucose transporter (GLUT) 1, 3 and 4 in bovine follicle and corpus luteum. *Journal of Endocrinol*. 188: 111-119.
- Ohkura S, Ichimaru T, Itoh F, Matsuyama S, Okamura H. 2004. Further evidence for the role of glucose as a metabolic regulator of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in goats. *Endocrinology*. 145: 3239–3246.
- Ojeda SR, Lomniczi A, Mastronardi C, Heger S, Roth Ch, Parent AS, Matagne V, Mungenast AE. 2006a. Minireview: The Neuroendocrine regulation of puberty: Is the Time Ripe for a Systems Biology Approach? *Endocrinology* 147: 116-1174.
- Ojeda SR, Roth C, Mungenast A, Heger S, Mastronardi C, Parent AS, Lomniczi A, Jung H. 2006b. Neuroendocrine mechanisms controlling female puberty: new approaches, new concepts. *International Journal of Andrology*. 29: 286-290
- Ojeda SR, Skinner MK. 1994. Puberty in the rat. *The Physiology of Reproduction*. 2: 363-409.
- Oussaid B, Mariana JC, Poulin N, Fontaine J, Lonergan P, Beckers JF, Cognie Y. 1999. Reduction of the developmental competence of sheep oocytes by inhibition of LH pulses during the follicular phase with a GnRH antagonist. *Journal Reproduction Fertil*. 117: 71–77.
- Parent AS, Matagne V, Bourguignon JP. 2005. Control of puberty by excitatory amino acid neurotransmitters and its clinical implications. *Endocrine*. 28: 281-285.

- Paul MJ, Zucker I, Schwartz WJ, 2008: Tracking the seasons: the internal calendars of vertebrates. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 363: 341–361.
- Pinos RJ, Sánchez TM. 2001. Efecto del consumo de energía en los procesos reproductores de la hembra bovina. Una revisión. *Revista científica-LUZ*. 11: 256-263
- Plant TM, Witchel SM. 2006. Puberty in non-human primates and humans. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (3rd ed.), edited by Neill JD: Elsevier. 3: 2177–2230.
- Polkowska J, Lerrant Y, Wankowska M, Wojcik-Gladysz A, Starzec A, Counis R. 2003. The effect of dietary protein restriction on the secretion of LH and FSH in pre-pubertal female lambs. *Animal Reproduction Science*. 76: 53-56.
- Ponzo OJ, Reynoso R, Rimoldi G, Rondina D, Szwarcfarb B, Carbone S, Scacchi P, Moguilevsky JA. 2005. Leptin stimulates the reproductive male axis in rats during sexual maturation by acting on hypothalamic excitatory amino acids. *Experimental and Clinical: Endocrinology and Diabetes*. 113: 135–138.
- Reynoso R, Ponzo OJ, Szarcfarb B, Rondina D, Carbone S, Rinoldi G, Scacchi P, Moguilevsky JA. 2003. Effect of leptin on hypothalamic release of GnRH and neurotransmitter amino acids during sexual maturation in female rats. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. 111: 274-277.
- Rodríguez-Castillo JC, Pro-Martínez A. 2005. Factores metabólicos que intervienen en la secreción de GnRH. *Memorias IV curso internacional de fisiología de la reproducción en rumiantes. Colegio de Posgraduados*. 29-40.
- Roseweir AK, Millar RP. 2009. The role of kisspeptin in the control of gonadotrophin secretion. *Human Reproduction Update*. 15: 203–212
- Roth C, Leonhardt S, Theiling K, Lakomek M, Jarry H, Wuttke W. 1998. Ontogeny of the GnRH-, glutaminase- and glutamate decarboxylase- gene expression in the hypothalamus of female rats. *Developmental Brain Research*. 110:105–114
- Rubianes, E., Ungerfeld, R., Vin˜oles, C., Rivero, A., and Adams, G. P. 1997). Ovarian response to gonadotrophin treatment initiated relative to wave emergence in ultrasonographically monitored ewes. *Theriogenology* 47: 1479–1488.
- Salinas GH. 1993. Sistemas de producción caprina en el noreste de México. En: *Memorias del Seminario Nacional sobre Producción y Comercialización del Ganado Caprino*. Monterrey, NL., México.
- Santiago-Moreno J, López-Sebastián A, González-Bulnes A, Gómez-Brunet A, Chemineau P. 2000. Seasonal changes in ovulatory activity, plasma prolactin, and melatonin concentrations, in Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) and Manchega (*Ovis aries*) ewes. *Reproduction Nutrition Development*. 40: 421-430.

- Scaramuzzi RJ, Campbell BK, Downing JA, Kendall NR, Khalid M, Muñoz-Gutierrez M, Somchit A. 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition Development*. 46: 339-354.
- Schneider F.A., Hallford D.M. 1996. Use of rapid progesterone radioimmunoassay to predict pregnancy and fetal numbers in ewes. *Sheep Goat Research Journal*. 12: 33–38.
- Schneider JE, Blum RM, Wade GN. 2000. Metabolic control of food intake and estrous cycles in syrian hamsters. I. Plasma insulin and leptin. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 278:476-85.
- SIAP, Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. 2010. SAGARPA, México. www.siap.gob.mx. Consultado el día 14/06/2012.
- Silver IA, Erecinska M. 1998. Glucose-induced intracellular ion changes in sugar-sensitive hypothalamic neurons. *Journal of Neurophysiology*. 79:1733–1745.
- Simonneaux V, Bur I, Ancel C, Ansel L, Klosen P. 2012. A kiss for daily and seasonal reproduction. *Progress in Brain Research*. 199: 423-437.
- Smith JT. 2008. kisspeptin signalling in the brain: steroid regulation in the rodent and ewe. *Brain Research Reviews*. 57:288-298.
- Snedecor GW, Cochran WG. 1969. *Statistical Methods*. 6th ed. The Iowa State Univ. Press, Ames.
- Stocco DM. 2001. Tracking the role of a star in the sky of the new millennium. *Molecular Endocrinology*. 15: 1245-1254.
- Tata JR. 2007. A hormone for all seasons. *Perspectives in Biology and Medicine*. 50: 89-103.
- Tatman WR, Judkins MB, Dunn TG, Moss GE. 1990. Luteinizing hormone in nutrient-restricted ovariectomized ewes. *Journal of Animal Science*. 68: 1097-1102.
- Tena-Sempere M, Huhtaniemi I. 2003. Gonadotropins and gonadotropin receptors. *Reproductive medicine-molecular, cellular and genetic fundamentals*. New York: Parthenon: 225–24
- Tena-Sempere M. 2010a. Kisspeptin signaling in the brain: recent developments and future challenges. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 314: 164–169.
- Tena-Sempere M. 2010b. Roles of kisspeptins in the control of hypothalamic-gonadotropic function: focus on sexual differentiation and puberty onset. *Endocrine Development*. 17: 52–62

- Tena-Sempere M. 2012. Endocrinology and adolescence: Deciphering puberty: novel partners, novel mechanisms. *European Journal of Endocrinology*. 167: 733-747
- Terasawa EI, Fernández DL. 2001. Neurobiological mechanism of the onset of puberty in primates. *Endocrine Reviews*. 22: 111-115
- Thatcher WW, Stamples CR, Donet-Desnoyers G, Oldick B, Schmitt EP. 1994. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *Journal of Animal Science* 72:16-30.
- Thompson J. G, Lane M, Gilchrist RB. 2007. Metabolism of the bovine cumulus-oocyte complex and influence on subsequent developmental competence. *Society for Reproduction and Fertility*. 64: 179–190.
- Torres-Moreno M, Meza-Herrera CA, González A, López-Medrano I, Mellado M, Wurzinger M, Trejo CR. 2009. Effect of exogenous glutamate supply on the onset of puberty in goats: i. serum levels of insulin. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 11: 193-196
- Tureck RW, Strauss JF. 1981. Progesterone synthesis by luteinized human granulosa cells in culture: the role of de novo sterol synthesis and lipoprotein-carried sterol. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 54: 367-373.
- Urrutia-Morales J, Meza-Herrera CA, Escobar-Medina FJ, Gamez-Vazquez HG, Ramirez-Andrade BM, Díaz-Gomez MO, González-Bulnes A. 2009. Relative roles of photoperiodic and nutritional cues in modulating ovarian activity in goats. *Reproductive Biology*. 9: 283-294.
- Vázquez-Vidal I, Aradillas-Garcia C, De la Cruz-Mendoza E, Vargas-Morales JM, Metlich-Medlich BA, Dávila-Esqueda ME. 2009. Caracterización por género de: índices antropométricos, parámetros bioquímicos del metabolismo de carbohidratos y lípidos durante 3 etapas de la pubertad en población rural y urbana de San Luis Potosí, SLP México. *Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, A.C. México. Bioquímica*, 34:5-12
- Walton JC, Weil ZM, Nelson RJ. 2011. Influence of photoperiod on hormones, behavior, and immune function. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 32: 303–319.
- Williams SA, Blache D, Martin GB, Foot R, Blackberry MA, Scaramuzzi RJ. 2001. Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells. *Reproduction*. 122: 947–956
- Wintermantel TM, Campbell RE, Porteous R, Bock D, Gröne HJ, Todman MG, Korach KS, Greiner E, Pérez CA, Schütz G, Herbison AE. 2006. Definition of estrogen receptor pathway critical for estrogen positive feedback to gonadotropin-releasing hormone neurons and fertility. *Neuron*. 52: 271–280
- Yatsushiro S, Yamada H, Hayashi M, Yamamoto A, Moriyama Y. 2000. Ionotropic glutamate receptors trigger microvesicle-mediated exocytosis of L-glutamate in rat pinealocytes. *Journal of Neurochemistry*. 75: 288–297.

- Zamorano PL, Mahesh VB, De Sevilla L, Brann DW, 1998. Excitatory amino acids receptors and puberty. *Steroids*. 63: 268-270.
- Zhou J, Bievre M, Bondy CA. 2000. Reduced GLUT1 expression in *Igf1*^{-/-} null oocytes and follicles. *Growth Hormone & IGF Research*. 10: 111–117