



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

UNIDAD REGIONAL UNIVERSITARIA DE ZONAS ÁRIDAS
Coordinación de Posgrado

EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE BETACAROTENO SOBRE EL INICIO DE LA PUBERTAD EN CABRAS: NIVELES SÉRICOS DE TRIYODOTIRONINA

TESIS

QUE COMO REQUISITO
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN RECURSOS NATURALES
Y MEDIO AMBIENTE EN ZONAS ÁRIDAS**

Presenta:

QFB. Juan Martín Reyes Ávila



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

Bermejillo, Durango, México, Junio, 2012

Tesis realizada por **Juan Martín Reyes Ávila** 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



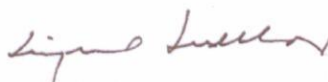
Director

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



Asesor

Dr. Manuel Tena-Sempere
IMIBIC, Departamento de Biología Celular, Fisiología e
Inmunología, Universidad de Córdoba, España



Asesor

Dr. Miguel Mellado Bosque
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.



Asesor

Dr. Francisco G. Veliz-Deras
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.

Bermejillo, Durango, México, Junio, 2012.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT, la Universidad Autónoma Chapingo y a México, por el apoyo institucional para realizar mis estudios de maestría.

La presente investigación es resultado del apoyo multi-institucional, nacional e internacional, por la UACH-URUZA-Coordinación de Posgrado, UAAAN, Universidad de Córdoba, España, & BOKU-University, Vienna, Austria. Financiado por los Proyectos de investigación CONACYT-FOMIX-DURANGO: DGO-2008-C01-87559 & DGO-2009-C02-116746, URUZA-UACH-REBIZA No. 09-3000-803, por México y ALFA-III-ALAS, DCI-ALA/A9.09.01/08/ 19189/161-358/ALFA-III-82, por la Unión Europea.

A mi familia por su completo apoyo y a ti, Maricela de Jesús Yépez Hernández, que me has acompañado en cada logro de mi vida.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
CUADRO DE ABREVIATURAS.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	3
2.1. Hipótesis.....	3
2.2. Objetivos	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA	4
3.1. PUBERTAD	4
3.2. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA	5
3.3. BETACAROTENO.....	7
3.4. HORMONAS TIROIDEAS	9
3.4.1. Hormonas tiroideas y estacionalidad reproductiva	10
3.4.2. Hormonas tiroideas y función reproductiva	13
3.4.3. Mecanismos moleculares de los receptores de hormonas tiroideas y estrógenos .	14

3.4.4. Hormonas tiroideas y esteroidogénesis	15
3.4.5. Enfermedades tiroideas e inicio de la pubertad	16
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	19
4.1. Localización del área experimental, condiciones ambientales, animales y alimentación	19
4.2. Diseño de tratamientos	19
4.3. Muestreo de sangre	20
4.4. Cuantificación de progesterona en suero, criterio para evaluar la actividad reproductiva	20
4.5. Análisis estadísticos	21
4.6. Modelos estadísticos	21
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
5.1. Resultados	23
5.1.1 Peso corporal y condición corporal	23
5.1.2. Concentraciones séricas de triyodotironina y porcentaje de cabras con actividad ovárica	24
5.2 DISCUSIÓN	26
5.2.1 Peso corporal y condición corporal	27

5.2.2. Concentraciones séricas de triyodotironina y porcentaje de pubertad	28
VI. CONCLUSIONES	30
VII. LITERATURA CITADA	31

ÍNDICE DE CUADROS

No.	Titulo	Pag
1	Medias de mínimos cuadrados para peso corporal (P C, kg), y condición corporal (CC, unidades) durante junio (1), julio (2), agosto (3) y septiembre (4) en cabras prepúberes suplementadas con betacaroteno (BETA) o control (CONT) bajo fotoperiodo natural en la Comarca Lagunera (26° N).	25
2	Medias de mínimos cuadrados para las concentraciones séricas de insulina y el porcentaje de cabras mostrando actividad ovárica (pubertad, %) durante el período experimental junio – noviembre, (n=17) suplementadas con betacaroteno (BETA) o control (CONT) en la Comarca Lagunera (26° N).	26
3	Interrelación de medias de mínimos cuadrados para las concentraciones séricas de triyodotironina (T3) aplicando el procedimiento diferencia mínima significativa (DMS) de acuerdo al tiempo de muestreo (TIEMPO) durante el período experimental junio – noviembre, en cabras peripúberes (n=17) suplementadas con betacaroteno (BETA) o Control (CONT) en la Comarca Lagunera (26° N).	27

ÍNDICE DE FIGURAS

No.	Titulo	Pag
1	Patrón de secreción de T3 en suero sanguíneo a través del tiempo en cabras suplementadas (BETA) o no suplementadas (CONT) con betacaroteno bajo fotoperiodo natural decreciente en la Comarca Lagunera 26°N.	28

CUADRO DE ABREVIATURAS

AR	Ácido retinoico
BC	Betacaroteno
BETA	Grupo tratado con betacaroteno
CC	Condición corporal
CONT	Grupo control
CONT	Grupo control
DIO1	Deyododinasa tipo 1
DIO2	Deyododinasa tipo 2
DIO3	Deyododinasa tipo 3
DNA	Ácidodesoxiribonucleico
EE	Error estándar
ER	Receptores de estrógeno
ERK ½	Señal extracelular regulada por quinasa ½
FSH	Hormona folículo estimulante
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
GPR54	Proteína G activadora del gen 54
HHG	Hipotálamo-hipófisis-gonadal
LH	Hormona luteinizante
LN	Latitud norte
LO	Longitud oeste
MAPK	Proteínquinasa activada por mitógenos
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
Msnm	Metros sobre el nivel medio del mar
NcoR	Receptor nuclear corepresor
NPO	Nivel de probabilidad observado
P4	Progesterona
PC	Proteína cruda
PG	Prostaglandinas
PV	Peso vivo
RAR	Receptores a ácido retinoico

ROS	Radicales libres de oxígeno
SMRT	Mediador silenciante de receptores para hormonas tiroideas
T3	Triyodotironina
T4	Tiroxina
TH	Hormona tiroidea
TR	Receptores de hormonas tiroideas
TRα1	Receptor de hormonas tiroideas alfa-1
TRα2	Receptor de hormonas tiroideas alfa-2
TRβ1	Receptor de hormonas tiroideas beta-1
TRβ2	Receptor de hormonas tiroideas beta-2
UACH	Universidad Autónoma Chapingo
URUZA	Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE BETACAROTENO SOBRE EL INICIO DE LA PUBERTAD EN CABRAS: NIVELES SÉRICOS DE TRIYODOTIRONINA

EFFECT OF BETACAROTENE SUPPLEMENTATION UPON THE ONSET OF PUBERTY IN GOATS: SERUM LEVELS OF TRIIODOTHYRONINE

¹ Juan Martín Reyes Ávila y ² César Alberto Meza Herrera

RESUMEN

El presente estudio evaluó el efecto de la suplementación de betacaroteno (BC) en el inicio de la pubertad y las concentraciones séricas de triyodotironina (T3) en hembras caprinas. Cabras prepuberales (n=17; 3 meses de edad; 7/8 Saanen-Alpina; 26° LN) fueron aleatoriamente asignadas a uno de dos grupos experimentales: 1/ Grupo betacaroteno, con una suplementación diaria de 200 mg of BC (n=9; peso vivo [PV]: 17.3±1.0 kg; calificación de condición corporal [CCC]: 3.34±0.12) ó 2/ Grupo control (CONT; n=8; PV:16.1±1.0 kg; CCC=3.17±0.12). Al inicio del experimento, los promedios para PV (16.7±1.0 kg) y CCC (3.31±0.12) fueron similares (p>0.05) en ambos grupos experimentales. El promedio sérico de T3 (1.45 vs. 1.39±0.04 ng/ml), la edad a la pubertad (215.7 vs. 226.7±6.6 days) y el porcentaje de cabras mostrando pubertad (44.4 vs. 25.0±17.0%) no difirieron (p>0.05) entre los grupos BC y CONT, respectivamente. Sin embargo, se observaron incrementos en los niveles séricos de T3 hacia la segunda parte del período experimental en el grupo BC. Notablemente, conforme incrementaban el PV y los niveles séricos de T3, el fotoperíodo (FP) natural decrecía, revelando una correlación negativa (p<0.05) entre dichas variables; los valores observados fueron del orden de r = - 0.94 para PV y FP, así como de r = - 0.41 entre T3 y FP. En el presente estudio, la suplementación con BC no generó una pubertad más precoz, ni afectó el porcentaje de cabras alcanzando la pubertad. Sin embargo, la suplementación con BC afectó positivamente el patrón de secreción de T3 al través de tiempo, sugiriendo un efecto potencial del BC como una molécula activadora de la tiroides. Dichos resultados pueden poseer importancia no solo productiva sino también pueden ser de significancia clínica.

Palabras clave. Cabras, betacaroteno, pubertad, progesterona, triyodotironina.

¹ Tesista

² Director

ABSTRACT

The effect of betacarotene (BC) supplementation upon the onset of puberty and serum triiodothyronine (T3) concentration in goats was evaluated in this study. Prepuberal goats (n=17; 3 months old; 7/8 Saanen-Alpine; 26° NL) were randomly assigned to one of two experimental groups: 1/ betacarotene group, daily supplemented with 200 mg of BC (BC, n=9; live weight [LW]: 17.3±1.0 kg; body condition score [BCS]: 3.34±0.12) or 2/ control group (CONT; n=8; LW: 16.1±1.0 kg; BCS=3.17±0.12). At the beginning of the experiment, averages for LW (16.7±1.0 kg) and BCS (3.31±0.12) were similar (p>0.05) in both groups. Averages for LW (16.7±1.0 kg) and BCS (3.31±0.12) were similar (p>0.05) in both groups. Mean serum triiodothyronine (1.45 vs. 1.39±0.04 ng/ml), age of puberty (215.7 vs. 226.7±6.6 days) and the percentage of goats reaching puberty (44.4 vs. 25.0±17.0%) did not differ (p>0.05) between BC and CONT group, respectively. Nevertheless, increases in serum T3 during the second half of the experiment were observed in BC group (p<0.05); as LW and serum T3 levels increased, the natural photoperiod (PP) decreased, revealing a negative correlation (p<0.05) between such variables; the observed values were r = - 0.94 for LW and PP, and r = - 0.41 for T3 and PP. In this study, BC supplementation did not promote precocious puberty and did not affect the percentage of goats reaching puberty; nevertheless, it positively affected the release pattern of triiodothyronine suggesting a potential role of BC as thyroid-activating molecule. Such findings may pose not only productive but clinical significance.

Key words: Goats, betacarotene, puberty, progesterone, triiodothyronine.

I. INTRODUCCIÓN

En mamíferos, el inicio y mantenimiento de la función reproductiva es crítica para su supervivencia de las especies y está gobernada por factores genéticos y ambientales (Gonzalez-Bulnes et al., 2010; Meza-Herrera et al., 2010a,c). La homeostasis fisiológica dicta las condiciones óptimas para el éxito reproductivo, y cualquier alteración de este equilibrio, ya sea de origen nutricional o socio-sexual, puede afectar la función de las neuronas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y en general, de la actividad del eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal (Meza-Herrera, 2008; Gamez-Vazquez et al., 2008; Guerra-García et al., 2009; Meza-Herrera et al., 2007 & 2008). La homeostasis metabólica, asociada con cambios endocrinos, es necesaria para el mantenimiento de la eficiencia reproductiva (Busato et al., 2002; Torres-Moreno et al., 2009). El control integrado de todos los sistemas que convergen al establecimiento de la función reproductiva es un fenómeno multifacético que incluye la activación de señales en diferentes niveles de los ejes neuroendocrinos que gobiernan la ingesta de comida, la homeostasis energética, el metabolismo y la función reproductiva (Nogueiras et al., 2004; Meza-Herrera et al., 2004, 2006; Urrutia-Morales et al., 2009; Flores-Najera et al., 2010; Meza-Herrera et al., 2010b).

El betacaroteno (BC) pertenece al grupo de los carotenoides, el cual es considerado como un antioxidante activo, y por lo tanto capaz de disminuir el daño inducido por radicales macromoleculares (van Helden et al., 2010) esperando así un efecto benéfico a través de su

ingesta. Algunas de sus principales funciones como su capacidad de isomerización y de transferir electrones se derivan de su estructura única, la cual consiste en ocho unidades isoprenoides unidas a través de sus enlaces dobles. Su metabolismo genera retinal, vitamina A (retinol) y ácido retinoico (AR) (Ziouzenkova et al., 2007). Algunos estudios han reportado un efecto benéfico de la suplementación de BC sobre la función reproductiva en caprinos (Arellano-Rodríguez et al., 2007, 2009).

Por su parte, las hormonas tiroideas son fundamentales para el desarrollo normal de vertebrados, controlan la actividad metabólica de muchos tejidos durante la vida de un individuo (Wirth et al., 2009), regulan la reproducción, la neuroprotección, la función cardiovascular (Zhao et al., 2006) y desempeñan un papel crucial en la importancia fisiológica de la generación del ciclo estacional de reproducción de diversas especies (De Moraes, 1998; Yasuo et al., 2006; Yokus et al., 2006). La triyodotironina (T3) es la principal hormona tiroidea activa y presenta una alta afinidad por los receptores nucleares (Zamaratskaia et al., 2004). Recientemente, se ha propuesto una relación positiva entre los niveles séricos de T3 y el inicio de pubertad tanto en hembras (Lopez-Medrano et al., 2009) como en machos caprinos (Gunnarsson et al., 2009). El objetivo del presente estudio fue evaluar la relación que tiene la suplementación de betacaroteno sobre el inicio de la pubertad mediante la cuantificación de la concentración sérica de progesterona como marcador endocrino del inicio de la actividad ovárica en cabras prepúberes y los niveles de T3, durante un período de 148 días (junio –noviembre) en la Comarca Lagunera (26° N).

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis

La suplementación de largo plazo de con BC adelanta la pubertad en cabras cruzadas en el norte de México, y tal escenario está positivamente relacionado a altos niveles séricos de triyodotironina.

2.2. Objetivos

Evaluar el efecto de la suplementación con BC sobre el inicio de la pubertad en cabras.

Evaluar el efecto de la suplementación con BC sobre los niveles séricos de triyodotironina, como un indicador hormonal asociado al inicio de la actividad reproductiva de la cabra durante la pubertad.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. PUBERTAD

La pubertad se define como el período de transición entre la etapa infantil y adulta en el que se adquiere la capacidad reproductora y tiene lugar la maduración de los órganos genitales y el desarrollo completo de los caracteres sexuales secundarios, además de importantes cambios somáticos y de conducta (Grumbach, 2005). Este conjunto orquestado de cambios endocrinos y físicos está determinado por una gran variedad de factores, desde genéticos a ambientales, cuya interacción dinámica es la responsable de la cronología de la pubertad y de sus posibles alteraciones; pubertad precoz, retrasada o ausente (Meza-Herrera *et al.*, 2010 a, b).

Los principales avances en las últimas décadas para entender el inicio de la pubertad incluyen el descubrimiento de que las neuronas GnRH-1 se desarrollan en la placa olfatoria y migran hacia el cerebro. El inicio de la pubertad incluye una reactivación de la secreción de GnRH, la identificación de las señales metabólicas periféricas y la identificación del receptor GPR54 como elementos clave en la vía de señalización hacia las neuronas GnRH (Francis, 2005; Meza-Herrera *et al.*, 2010a). El control central del sistema neuronal GnRH no es llevado a cabo únicamente por señales transinápticas, sino que intervienen factores provenientes de células gliales. Este conjunto de señales reguladoras se encuentran bajo control de diversos factores de transcripción. De esta forma, se ha propuesto recientemente una aproximación holística, relacionada con la biología de sistemas, para lograr un análisis integral de los mecanismos desencadenantes de la

pubertad, dirigida a identificar circuitos de señales, más que factores individuales amplificados en este proceso (Meza-Herrera et al., 2010b).

Desde un punto de vista neuroendocrino, la pubertad se caracteriza por la activación completa del eje gonadotrófico o hipotálamo-hipófisis-gonadal. En este eje neuroendocrino, la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH), es un decapeptido sintetizado por un número reducido y relativamente disperso de neuronas hipotalámicas, juega un papel jerárquico clave, siendo el principal estímulo fisiológico de la síntesis y liberación de las gonadotrofinas hipofisarias, LH, hormona luteinizante y FSH, hormona folículo-estimulante, éstas, a su vez, operan sobre receptores específicos a nivel gonadal, siendo los principales reguladores hormonales tanto de la generación de gametos (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., 2010 a,b). 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 de la acción reguladora de numerosos factores adicionales, tanto centrales como periféricos, que actúan primariamente sobre el sistema GnRH hipotalámico.

3.2. ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA

Los ciclos estacionales son una característica de los hábitats desde los trópicos hasta los polos, y la vida se adapta a éstos a través de los correspondientes cambios en el comportamiento o la fisiología (Morgan y Hazlerigg, 2008). El ciclo anual del cambio en la duración del día

(fotoperiodo) es la principal señal que sincroniza la adaptación estacional, y permite a los organismos expresar respuestas adaptativas en anticipación de los cambios ambientales. El termino sincronización implica que la interacción externa del fotoperiodo con el proceso endógeno de temporización permite la apropiada respuesta a la etapa estacional (Yoshimura et al., 2003).

Los pequeños rumiantes expresan variaciones estacionales en sus rasgos productivos, induciendo así cambios en la disponibilidad de productos derivados de estos animales (carne, leche y queso). Esto es debido a una marcada distribución estacional de nacimientos en ovejas y cabras. En latitudes mayores a 30 N, el pico de nacimientos ocurre al final del invierno y principios de la primavera, el más favorable periodo para la supervivencia de la progenie (Chemineau et al., 2008). La mayoría de las especies muestran variaciones estacionales en su frecuencia ovulatoria, actividad espermatogénica, calidad de los gametos y también su comportamiento sexual. El mecanismo implicado es una compleja combinación de ritmo circanual endógeno impulsado y sincronizado por la luz y la melatonina (Yoshimura et al., 2003). Profundos cambios neuroendocrinos de largo plazo que implican sistemas diferentes de neurotransmisión desempeñan un papel en estos procesos (Morgan y Hazlerigg, 2008). La selección genética pudiera ser una de las futuras alternativas para disminuir la estacionalidad reproductiva en ovejas y cabras. La disponibilidad de los productos animales para el consumo humano fue estacional por mucho tiempo antes de la domesticación. Aunque la domesticación generalmente reduce la estacionalidad de la reproducción, comparado con lo observado en sus compañeros salvajes. Los ciclos de reproducción y producción son en sí estacionales porque los animales domésticos han

heredado las características de las poblaciones naturales de las cuales se originaron. Bajos climas templados, la cantidad de crías y la colecta de leche varía ampliamente a través del año, lo cual provoca altas variaciones en el precio que se paga a los productores o en la capacidad para que estos productos sean procesados por la industria alimenticia. Por ejemplo, en Francia, la producción de leche de cabra es altamente estacional, desde 10 millones de litros en Noviembre hasta 30 millones en Mayo. Lo anterior causa una gran variación en los precios pagados al productor (53%), igualmente la producción promedio mensual de crías es baja en octubre y alta en abril, causando cambios significativos en el precio de su carne. La frecuencia de ovulaciones y comportamiento estral en cabras Alpino y Saanen sin empadrar, aun cuando mantienen una excelente condición corporal, tienen un largo periodo de inactividad sexual, la época de anestro (Chemineau et al., 2008).

3.3. BETACAROTENO

El BC es el precursor de la vitamina A, se ha observado que ratas y cerdos inyectados con BC tienen baja mortalidad embrionaria y un mayor tamaño de camada al nacer, además en bovinos suplementados con esta vitamina baja la incidencia de placenta retenida y metritis comparadas con aquellos que no fueron suplementadas (Weng et al., 2000). La vitamina A está asociada a un retraso en la madurez sexual, abortos, crías muertas o débiles al nacimiento, retención de placenta, metritis y periodos más cortos de gestación (Haliloglu et al., 2008). Sin embargo, su precisa función no está aún clara, se piensa que la acumulación de BC puede influir en la síntesis

hormonal y proteínica durante el desarrollo folicular (Haliloglu et al., 2008), mejorando el ambiente uterino o la respuesta endocrina. El BC estimula la producción de progesterona mediante la dispersión de colagenasa en células lúteas de porcinos y bovinos *in vitro*. La importancia fisiológica del consumo de BC por las células ováricas no está clara. Sin embargo forma un componente integral de la membrana microsomal en células lúteas bovinas, sugiriendo un posible papel del BC en este tejido reproductivo. El BC es un potente antioxidante especialmente en tejidos donde hay una presión parcial de oxígeno baja. Como antioxidante el BC protege a las células del daño provocado por especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), las cuales son producidas por el metabolismo celular o inducidos por stress químico o ambiental. Durante el embarazo el útero se somete a cambios dramáticos para asegurar el éxito de la implantación y la supervivencia del “conceptus” en rápido desarrollo, durante esta etapa altamente activa el útero está comúnmente bajo un alto grado de estrés oxidativo. Después de la ovulación las células de la granulosa y de la teca del folículo ovárico se someten a una diferenciación y proliferación para desarrollar un cuerpo lúteo funcional. El cuerpo lúteo produce progesterona, hormona crítica para el mantenimiento del embarazo. Por lo tanto, como el útero, el desarrollo del cuerpo lúteo es altamente activo, el cual está implicado en la producción de hormonas esteroideas. Por lo tanto el BC puede servir para proteger al cuerpo lúteo del daño funcional y estructural provocado por especies reactivas de oxígeno manteniendo la actividad esteroideogénica óptima (Weng et al., 2000).

3.4. HORMONAS TIROIDEAS

La tiroides es la glándula endocrina maestra que juega un papel central en el metabolismo intermediario de prácticamente todos los tejidos, y es de fundamental importancia para el desarrollo del sistema nervioso central (SNC) fetos y el recién nacido. Los efectos generalizados de la tiroides resultan de la biosíntesis y secreción de dos únicas hormonas, triyodotironina (T3) y tiroxina (o tetrayodotironina, T4), las únicas hormonas que contienen yodo en vertebrados. El yodo es un constituyente esencial de T3 y T4 de tal manera que tanto la función tiroidea en su conjunto y sus repercusiones sistémicas dependen del adecuado aporte de yodo a la glándula. Un eficiente y especializado sistema ha evolucionado en la tiroides que asegura que la mayoría de la ingestión dietética de yodo es acumulada en la glándula y por lo tanto, disponible para la biosíntesis de T3 y T4. El significado de esto se vuelve más aparente cuando se considera que el yodo es escaso en el medio ambiente (Delange, 1994).

Las hormonas tiroideas son reguladores clave del metabolismo y tienen efectos pleiotrópicos en muchos diferentes órganos (Boelaert y Franklin, 2005). Las hormonas de la tiroides provocan una extraordinaria multiplicidad de respuestas bioquímicas, celulares y fisiológicas en los organismos desde los más simples hasta los más complejos. Las diversas acciones de la hormona tiroidea biológicamente activa, T3, pueden ser divididos en dos grupos: crecimiento-desarrollo y regulación del metabolismo (Tata, 2007). Aunque las hormonas tiroideas están relacionadas en múltiples aspectos de la reproducción su papel en aspectos reproductivos como la pubertad no ha sido ampliamente estudiado. El entendimiento de los mecanismos que regulan la función reproductiva

tiene importantes implicaciones para diversos campos del desarrollo de la biología, la neurociencia y la psicobiología, además de impactar la ecología del comportamiento y la evolución de las especies (Greives et al., 2008). Muchas de las especies animales experimentan marcadas variaciones en las condiciones ambientales a través del año (Bronson 1989).

Un cambio en el estado metabólico, definido como el cambio en la disponibilidad de nutrientes y energía a los tejidos, es un poderoso regulador de la función reproductiva en pequeños rumiantes. La naturaleza y la función de varios de los componentes de las rutas vinculando el estado metabólico a la reproducción son considerados: nutrientes y metabolitos, el sistema endocrino y el sistema nervioso (Blache, 2006). Tanto T3 y T4 están involucradas en la diferenciación y crecimiento del tejido y en la regulación de numerosas funciones corporales, principalmente afectando la tasa metabólica (Karsch, 1995).

3.4.1. Hormonas tiroideas y estacionalidad reproductiva

La naturaleza metabólica y termorreguladora de las limitantes fisiológicas actuando sobre el tiempo de empadre sugiere que varias hormonas están involucradas, incluyendo las hormonas tiroideas. Las hormonas tiroideas y especialmente la T3 juegan un papel importante en el metabolismo y termogénesis, además de otros aspectos específicos en los que ya se ha establecido que interviene (Chastel et al., 2003). Las hormonas tiroideas juegan un papel importante en la adaptación a los cambios ambientales. La T4 y T3 estimulan el consumo de oxígeno y la producción de calor en las células, incrementando la tasa metabólica basal, promueve la utilización de glucosa, modifica el metabolismo de los lípidos y estimula las funciones

cardiacas y neuronales. Las glándulas tiroideas principalmente secretan T4, el cual es monodeyodado a T3 antes de interactuar con las células con receptores a dicha hormona (Ocak et al., 2009). Además, parecen jugar un papel esencial de significancia fisiológica sobre el control estacional del ciclo reproductivo en ovejas y hembras gorriones americanas. La T4 toma parte en una regulación inhibitoria de la secreción hormonal ovárica y la foliculogénesis en ratas inmaduras. Se ha observado que pequeñas dosis de hormonas tiroideas administradas a ratones hembras resulta en el logro temprano de la madurez sexual con una abertura temprana de la vagina y el inicio del ciclo estral. Durante el ciclo menstrual, los niveles de las hormonas tiroideas fluctúan en relación a los niveles de estrógeno circulante (Dainat et al, 2009). El hipotiroidismo inhibe la respuesta al fotoperiodo y el patrón de empadre estacional en ovejas y aves (Doufas y Mastorakos, 2006).

El mecanismo molecular de medida del tiempo estacional o fotoperiódico, hasta el momento, no se ha comprendido en ningún organismo. En aves, el hipotálamo mediobasal (MBH) incluye el núcleo hipotalámico posterior medial (NHPM), el núcleo infundibular y la eminencia media. El MBH es un importante centro de control de la medida del tiempo fotoperiódico. La ruptura de ésta resulta en la perdida de la respuesta fotoperiódica de las gónadas aun si el sistema de liberación de la hormona GnRH del animal lesionado se mantiene intacto. La estimulación eléctrica de esta área incrementa la secreción de la hormona luteinizante e induce el crecimiento testicular. Además, la expresión de c-Fos ha sido reportada en estas estructuras como el resultado de la fotoestimulación de un día largo y fotoreceptores que se piensa están localizados en el núcleo infundibular. Recientemente,

se ha observado la expresión de los genes del reloj circadiano en el MBH, y propone que éste puede funcionar como un reloj fotoperiódico. Esta observación indica que toda la maquinaria esencial para la medida del tiempo fotoperiodico está localizada en el MBH. Al identificar estos genes se encontró que sólo Dio2 fue inducido significativamente por un pulso de luz durante esta fase fotoinducible, en los niveles de expresión entre los días cortos y días largos en la región de núcleo infundibular y la eminencia media (Yoshimura et al., 2003).

La posibilidad de que la hormona tiroidea (TH) juega un papel importante en la expresión del ciclo estacional, se remonta a estudios realizados en especies de aves y mamíferos, estableciendo un lazo entre la función tiroidea y el período de fecundación. Sin embargo, la ausencia de consistentes cambios en los niveles séricos de TH dependientes del fotoperiodo, ha mantenido indefinido como la señalización de TH podría suponer nada más allá de un papel permisivo en los mecanismos del proceso reproductivo estacional (Morgan y Hazlerigg, 2008). La enzima Dio2 convierte T4 en T3, la cual es la principal forma activa de las hormonas tiroideas. La Dio2 es esencial en el control local de los niveles de T3 en el cerebro a través de mecanismos que operan bajo una variedad de condiciones para mantener las concentraciones de T3 dentro de un rango estrecho. Aunque las concentraciones séricas de T3 y T4 fueron no significativas entre días cortos y días largos, el contenido de ambos en el MBH es diez veces mayor en días largos en comparación con los días cortos. Esta diferencia no se observa en otras partes del cerebro. Se ha sugerido que la liberación fotoperiódica de GnRH pudiera estar controlada en las terminales de

GnRH por las células glía, las hormonas tiroideas están involucradas en el desarrollo, plasticidad y funcionamiento del sistema nervioso central (Yoshimura et al., 2003).

3.4.2. Hormonas tiroideas y función reproductiva

Los receptores de hormonas tiroideas y estrógenos son miembros de una subclase dentro de esta familia debido a su estructura homóloga y la similitud entre el DNA de la hormona respuesta y los elementos a los que se unen. La secuencia nucleotídica constitutiva del elemento de respuesta del receptor de hormona tiroideas AGGTCA, es la misma para el elemento de respuesta del receptor de estrógeno. De hecho la triyodotironina puede interferir con la regulación del estrógeno en ratas (Dellovade et al., 1999).

El tamaño de la tiroides medido a través de ultrasonografía varía durante el ciclo menstrual, siendo mayor a mitad del ciclo, como era de esperarse, este incremento se correlaciona positivamente con los niveles séricos de tiroglobulina (Zhao et al., 2006). Hay pocos datos sobre los efectos del exceso de hormonas tiroideas sobre el desarrollo del aparato reproductivo femenino. La administración de grandes dosis de T4 en ratas neonatales resulta en un retraso en la apertura vaginal y el primer estro (Doufas y Mastorakos, 2006). En contraste, la administración de hormonas tiroideas ha sido reportada que actúa en sinergia con FSH para estimular la diferencia de células de la granulosa porcinas. Además también existen estudios que indican la presencia de receptores de hormonas tiroideas en el útero por lo que podrían esperarse cambios después de su administración, de hecho el exceso de esta hormona causa engrosamiento del endometrio, así como, una disminución en la retención y el consumo de estradiol por el útero en ratas (Aghajanova

et al., 2009). Igualmente un exceso en hormonas tiroideas perjudica al feto, causando abortos y muertes neonatales. Sin embargo, un muy bajo grado de tirotoxicosis ayuda en el mantenimiento de la implantación del blastocito tardío y un aumento de tamaño de camada (Doufas y Mastorakos, 2006).

3.4.3. Mecanismos moleculares de los receptores de hormonas tiroideas y estrógenos

Los estrógenos y las hormonas tiroideas son importantes porque regulan la reproducción, neuroprotección y función cardiovascular en mamíferos. Actúan uniéndose a receptores nucleares afines que regulan la transcripción de los genes blanco. Los receptores de estrógeno (ER) y los receptores de hormonas tiroideas (TR) pertenecen a una superfamilia de receptores nucleares cuyos miembros se caracterizan por una estructura modular dominante en común (Aghajanova et al., 2009). La N-terminal del Dominio A/B contiene una hormona independiente de transcripción para la activación de su función, AF-1. El Dominio C, la región más conservada de la superfamilia de receptores nucleares, posee dos dedos de zinc, los cuales unen DNA. El Dominio E incluye un dominio de unión del ligando, la región AF-2 dependiente de la hormona, así como regiones que permiten al receptor dimerizar y traslocar dentro del núcleo (Zhao et al., 2006). Los receptores nucleares de Tipo I como los ER permiten proceder la transcripción basal en el estado no-ligado mientras de los receptores nucleares Tipo II como los TR reprimen la transcripción en el estado no-ligado, a través del reclutamiento de co-represores tales como SMRT y NcoR (Charlotte et al, 1999). En presencia de ligandos, los receptores nucleares reclutan co-activadores que poseen

actividad histona acetil-transferasa que remodelan cromatina, permitiendo la iniciación de la transcripción de genes (Zhao et al., 2006).

3.4.4. Hormonas tiroideas y esteroidogénesis

La interacción de T3 con gonadotropinas modula la esteroidogénesis folicular *in vitro*, dependiendo del tamaño folicular y el tipo de célula, probablemente influyendo en el proceso de aromatización en el folículo. Parece ser que T3 activa el posicionamiento de la 3- β -hidroesteroide deshidrogenasa / Δ 5- Δ 4-isomerasa ováricas promoviendo una mayor conversión de pregnenolona a progesterona (Dainat et al., 2009). El mRNA del receptor de hormonas tiroideas es expresado tanto en células de la granulosa como en células estromales de ovarios no estimulados en mujeres durante un ciclo normal (Doufas y Mastorakos, 2006).

En humanos, el mRNA del receptor de hormonas tiroideas está presente en la luteinización en las células de la granulosa de mujeres jóvenes saludables bajo ninguna estimulación. Las hormonas tiroideas están presentes en el líquido folicular de mujeres bajo tratamiento de fertilización *in vitro* (IVF) y las células de la granulosa de estos sujetos contienen receptores para hormonas tiroideas. Oocitos maduros (MII) de mujeres bajo IVF contienen TR α 1, TR α 2, TR β 1 y TR β 2 mRNA, lo cual sugiere un efecto directo de T3 sobre el oocito humano. Recientes estudios reportan la presencia de receptores de hormonas tiroideas en la superficie del epitelio de ovarios humanos y mostraron su participación en la regulación hormonal en la superficie del epitelio ovárico *in vitro*. Además mostraron la expresión de deiodinasas DIO2 y DIO3, pero no DIO1, sobre la superficie del epitelio

indicando la presencia de una enzima que genera T3 a partir de T4 y otra que inactiva T3 a T3 reversa (Aghajanova et al., 2009).

3.4.5. Enfermedades tiroideas e inicio de la pubertad

Las enfermedades tiroideas son más comunes en mujeres que en hombres y pueden causar disturbios en la menstruación y la ovulación. En hipertiroidismo la manifestación más común es oligomenorrea mientras que en hipotiroidismo, menorragia, oligomenorrea, pérdida del embarazo e infertilidad (Doufas y Mastorakos, 2006). Sin embargo, los mecanismos detrás de estas anormalidades no son bien conocidos. Los sitios de unión nuclear de hormonas tiroideas en muchos tejidos y órganos en el humano, tales como el corazón, cerebro, placenta, pulmón, hígado, músculo esquelético, riñones y páncreas (Zhao et al., 2006). Algunos efectos de las hormonas tiroideas ocurren dentro de pocos minutos (llamadas respuesta no-genómica) y otros asociados con rutas de señalización mediante mensajeros secundarios, tales como la ruta de proteinaquinasa activada por mitogénicos (MAPK). La tiroxina promueve estos efectos mediante su unión a la superficie celular activando el complejo MAPK, en particular el complejo de la señal extracelular regulada por quinasa 1/2 (ERK 1/2), a través del receptor de TR β 1. La tiroxina (T4) actúa sobre la fosforilación de MAPK y la subsecuente activación de TR β 1 aparentemente dentro de los 10 minutos y alcanzando su límite superior a los 30-40 minutos. La ruta de ERK1/2 ha mostrado ser importante para la maduración del complejo oocito-cumulus en ratones bajo la estimulación de FSH (Aghajanova et al., 2009).

Aunque el ciclo menstrual ocurre en mujeres con tirotoxicosis los disturbios menstruales son comunes. La pérdida de peso y los disturbios psicológicos (principalmente ansiedad) vistos en la tirotoxicosis pueden también contribuir a la disfunción sexual. Las mujeres con tirotoxicosis frecuentemente presentan un incremento en los niveles de LH, FSH y estrógenos, así como la respuesta de gonadotropina a la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), aunque el pico de LH a la mitad del ciclo puede reducirse e incluso no presentarse (Doufas y Mastorakos, 2006).

La formación de quistes ováricos puede ampliamente intensificarse en mujeres con hipotiroidismo primario y en animales con hipotiroidismo experimental expuestos a una estimulación con gonadotropinas. Usando un ultrasonido antes y después del tratamiento, se observó en los scanner que las anormalidades correspondían más claramente a la concentración de hormonas tiroideas circulantes que a las concentraciones de FSH, LH o andrógenos. Estas observaciones concuerdan con anteriores estudios de que las hormonas tiroideas influyen directamente sobre las células de la granulosa de ovarios porcinos (Aghajanova et al., 2009).

El hipotiroidismo durante la vida fetal no parece afectar el desarrollo normal del sistema reproductivo. Sin embargo, en la etapa prepuberal conduce a una disminución de la estatura y quizás un retraso en la madurez sexual. En ovejas el hipotiroidismo fetal no afecta el desarrollo del sistema reproductivo pero da lugar a una gestación prolongada a pesar del eutiroidismo materno (Doufas y Mastorakos, 2006). Sin embargo, en las ratas los ovarios se empequeñecen y hay una deficiencia en lípidos y colesterol. La tiroidectomía de ratas sexualmente inmaduras resulta en un retraso de la abertura vaginal y la maduración sexual, además de presentarse ovarios y folículos

más pequeños que los controles, útero y vagina sin un buen desarrollo. Cuando las ratas adultas entran en hipotiroidismo su ciclo estral comienza a ser irregular y sus ovarios se vuelven atróficos (Dainat et al., 2009). El hipotiroidismo en hámsteres y vacas está asociado con ciclos estrales anormales; en gallinas, se observa una disminución en la producción de huevos. En ratas maduras, el hipotiroidismo aparentemente no produce esterilidad pero interfiere con la gestación especialmente en la primera mitad de la preñez, con una reabsorción del embrión con la subsecuente reducción del tamaño de camada y un incremento en la mortalidad neonatal (Doufas y Mastorakos, 2006).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Localización del área experimental, condiciones ambientales, animales y alimentación

El estudio se realizó en la Unidad de Investigación Caprina Sur, de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo (URUZA-UACH, 26° LN, 103° LO, a 1,117 msnm). El clima es del tipo cálido seco con oscilaciones térmicas extremas. Los promedios anuales de precipitación y temperatura máximas son 217.1 mm y 22.3°C, respectivamente. Cabras prepúberes (n=17) de 3 meses de edad con un encaste mínimo de $\frac{3}{4}$ Saanen y $\frac{1}{4}$ Alpina, recibieron una dieta para cubrir el 100% de sus requerimientos nutricionales ajustados al peso corporal (NRC, 1998). Tanto el PC como la condición corporal (CC) fueron registradas semanalmente previo a su alimentación. La CC se evaluó mediante palpación dorsal y costal utilizando una escala de 1 (muy flaca) a 5 (muy gorda). Las cabras fueron alimentadas dos veces al día: por la mañana (0700) heno de alfalfa (14% PC, 1.14 ENmMcal kg⁻¹) y ensilado de maíz (8.1% PC, 1.62 ENmMcal kg⁻¹), y por la tarde (1800) maíz roado (11.2% PC, 2.38 ENmMcal kg⁻¹) bajo condiciones naturales de luz de junio a noviembre.

4.2. Diseño de tratamientos

A inicios de junio, las cabras fueron aleatoriamente distribuidas en dos grupos experimentales: 1) betacaroteno (**BETA**, n=9), y 2) Control, (**CONT**, n=8). Las cabras-BETA recibieron una suplementación de 200 mg cabra⁻¹ d⁻¹ de betacaroteno (Syntex, SA de CV) durante todo el período experimental. Las cabras de ambos grupos tuvieron libre acceso a agua, sales minerales, sombra

4.3. Muestreo de sangre

De junio 7 a noviembre 1 se realizaron muestreos de sangre (1 vez por semana) del total de las cabras en estudio (n=17). Las muestras sanguíneas se colectaron mediante venopunción de la yugular utilizando agujas estériles de 0.8 x 38 mm (Becton Dickinson & Co., Franklin Lakes, USA) y tubos colectores Vacutainer de 10 mL (Corvac, Sherwood Medical, St Louis, MO, USA). Una vez centrifugadas las muestras (1,500 x g, 15 min), cada muestra de suero con su réplica se almacenaron en tubos de polipropileno a -4°C. En total se colectaron 16 muestras por cabra; 144 (BETA) y 128 (CONT), para un total de 272 muestras de suero sanguíneo.

4.4. Cuantificación de progesterona en suero, criterio para evaluar la actividad reproductiva

Las muestras de suero se evaluaron por duplicado por su contenido de progesterona (P4), mediante radioinmunoanálisis (Diagnostic Products, Los Angeles, CA, USA). La prueba está modificada y validada para el uso en suero de rumiantes (Schneider, 1996). Los coeficientes de variación intra- e inter-ensayo fueron de 0.2 pg mL⁻¹. Los análisis hormonales se realizaron en el Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Estatal de Nuevo México, E.U.A. Cabras con dos muestras consecutivas de suero con niveles séricos de P4 ≥ 1 ng mL⁻¹ fueron clasificadas como reproductivamente activas, considerando en dicho momento el inicio de la pubertad (Cushwa, 1992).

4.5. Análisis estadísticos

Los pesos corporales (PC) y la condición corporal (CC) fueron evaluados mediante un análisis de varianza con un diseño completamente al azar con dos tratamientos de 17 unidades experimentales (BETA y CONT) (Snedector y Cochran, 1967). Las concentraciones séricas de triyodotironina fueron evaluadas mediante un ANOVA con un diseño completamente al azar, con un arreglo de parcelas divididas para muestras repetidas en el tiempo (Gill y Hafs, 1971). El efecto de tratamiento fue incluido en la parcela mayor utilizando el término de cabra dentro de tratamiento para calcular el error. El tiempo de muestreo y la interacción del tratamiento por tiempo fueron incluidos en la parcela menor, utilizando el cuadrado medio residual para probar sus diferencias. En el evento de un efecto significativo, la separación de medias consideró el procedimiento PDIFF, para probar sus diferencias mediante el procedimiento LSMEANS usando el comando GLM (PROC GLM) del SAS (Littell et al., 1991). El porcentaje de cabras mostrando actividad ovárica se comparó con un análisis de χ^2 . El análisis estadístico de los datos consideró un procedimiento estadístico para tablas de frecuencia analizados por ji-cuadrada.

4.6. Modelos estadísticos

Modelo I:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Y_{ij} = La variable respuesta PV y CC de la j-ésima cabra con el i-ésimo tratamiento.

μ = Media general.

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento; $i = 1, 2$ (BETA, CONT).

E_{ij} = Error experimental de la j-ésima cabra asociado al i-ésimo tratamiento ($\sim$ NID, $\mu=0, \sigma^2 e$).

Para evaluar el comportamiento de las concentraciones séricas de triyodotironina(T3), se usó el siguiente modelo:

Modelo II:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + ID_{j(i)} + t_k + T_{(ik)} + E_{ijk}$$

Y_{ijk} = Concentración de T3 (ng mL⁻¹) del i-ésimo tratamiento medida en la j-ésima cabra

μ = Media general

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento, donde $i = 1, 2$ (BETA, 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 $k = 1, \dots, 20$

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

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

Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SAS (Littellet *al.*, 1991). Los valores reportados son las medias de mínimos cuadrados $\pm$ el error estándar de la media.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Resultados

5.1.1 Peso corporal y condición corporal

En el Cuadro 1 se presentan las medias de mínimos cuadrados para peso corporal (PC, kg) y condición corporal (CC, unidades) al inicio (junio 7) y al final (noviembre 1) del período experimental en cabras peripúberes (n=17) suplementadas con betacaroteno (BETA) o Control (CONT). El peso corporal promedio al inicio del período experimental fue de 16.65 ± 1.04 kg, llegando a un peso final promedio de 23.47 ± 1.04 kg, la condición corporal promedió 3.31 ± 0.12 unidades en los dos grupos; durante todo el período experimental no se observaron diferencias ($P > 0.05$) entre los grupos experimentales para las citadas variables.

Cuadro 1. Medias de mínimos cuadrados para peso corporal (PC, kg), y condición corporal (CC, unidades) durante junio (1), julio (2), agosto (3) y septiembre (4) en cabras prepúberes suplementadas con betacaroteno (BETA) o control (CONT) bajo fotoperíodo natural en la Comarca Lagunera

Tratamientos	BETA	CONT	P	EE ¹
PC1	17.29	16.13	0.69	1.04
PC2	20.33	19.86	0.94	1.12
PC3	21.17	20.33	0.77	0.87
PC4	24.16	22.79	0.45	0.80
CC1	3.34	3.17	0.38	0.12
CC2	3.09	3.06	0.89	0.11
CC3	3.18	2.93	0.30	0.11
CC4	3.54	3.43	0.40	0.11

¹ EE, error estándar de medias de mínimos cuadrados

5.1.2. Concentraciones séricas de triyodotironina y porcentaje de cabras con actividad ovárica

El Cuadro 2 muestra las medias de mínimos cuadrados para porcentaje de cabras mostrando actividad ovárica (pubertad) y las concentraciones séricas de triyodotironina en las cabras tratadas durante el período experimental entre junio y noviembre. El porcentaje de cabras mostrando el inicio de la actividad reproductiva (pubertad) determinada por los niveles séricos de P4, no difirió ($P>0.05$) entre los tratamientos. De la misma manera, no hubo diferencias significativas entre tratamientos con respecto a las concentraciones séricas de triyodotironina ($P>0.05$)

Cuadro 2. Medias de mínimos cuadrados para las concentraciones séricas de insulina y el porcentaje de cabras mostrando actividad ovárica (pubertad, % ¹) durante el período experimental junio – noviembre, (n=17) suplementadas con betacaroteno (BETA) o control (CONT) en la Comarca Lagunera.

Tratamientos	BETA	CONT	NPO ¹	EE ²
Pubertad ³	44.4	25.0	0.43	0.17
T3, ng mL ⁻¹	1.45	1.39	0.15	0.09

¹ Nivel de Probabilidad Observado.

² EE, error estándar de medias de mínimos cuadrados.

³ Dos o más muestras consecutivas con valores de P4 en suero ≥ 1 ng mL⁻¹ definieron el inicio de la pubertad.

El Cuadro 3 muestra las medias de mínimos cuadrados para las concentraciones de triyodotironina y sus interacciones de acuerdo al tiempo de muestreo y el tratamiento, durante los meses de junio a noviembre. No hubo efecto de tratamientos para el nivel de triyodotironina (Cuadro 2), sin embargo, se observó una diferencia significativa entre tratamientos durante el último bimestre del muestreo en favor del grupo BETA, alcanzando un máximo de 1.78 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

en el muestreo 5 correspondiente a octubre. De la misma manera hay una alta interacción entre las medias al inicio del periodo de muestreo mientras que a la parte final del periodo de muestreo, las medias del grupo betacaroteno incrementan de manera sustancial.

Cuadro 3. Interrelación de Medias de mínimos cuadrados para las concentraciones séricas de triyodotironina (T3) mediante minima diferencia significativa (LSD) de acuerdo al tiempo de muestreo (TIEMPO) durante el período experimental junio – noviembre, en cabras peripúberes (n=17) suplementadas con betacaroteno (BETA) o Control (CONT) en la Comarca Lagunera.

TIEMPO	BETA	CONT	EE
1	0.89 ^E	0.94 ^{DE}	0.076
2	1.59 ^{CDE}	1.55 ^{CDE}	0.076
3	1.64 ^{DC}	1.46 ^{CD}	0.076
4	1.40 ^A	1.46 ^{BC}	0.076
5	1.78 ^{AB}	1.36 ^{BC}	0.076
6	1.35 ^{AB}	1.55 ^{BC}	0.076

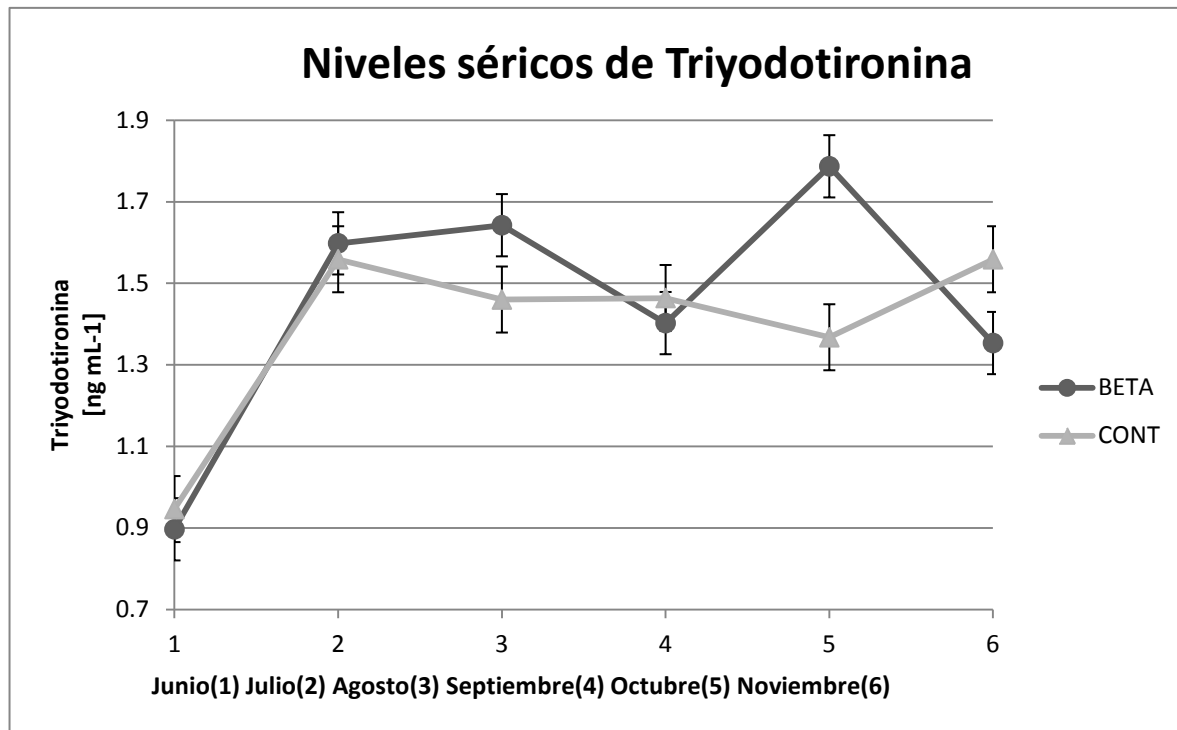
BETA=Grupo Beta caroteno, CONT= Grupo Control EE=Error Estandar

^{A,B,C,DyE} Interacciones entre tratamientos y tiempos de muestreo

Minima diferencia significativa (LSD) $P \leq 0.05$

Las interacciones entre los tiempos de muestreo sobre las concentraciones séricas de triyodotironina durante el periodo experimental demuestran que existió una diferencia significativa ($P < 0.05$) para el tercer bimestre del muestreo, correspondientes a los meses finales del experimento octubre y noviembre en comparación con el primer bimestre del experimento y a favor del grupo BETA (Grafica 1).

La suplementación de betacaroteno afectó positivamente el patrón de secreción de triyodotironina con respecto al tiempo ($P<0.05$) a partir del segundo bimestre (Grafica 1), mostrando un máximo en el muestreo quinto (octubre), correspondiente al tercer bimestre del experimento.



Grafica 1. Patrón de secreción de T3 en suero a través del tiempo en cabras suplementadas (BETA) o no suplementadas (CONT) con betacaroteno bajo fotoperiodo natural decreciente en la Comarca Lagunera 26°LN

5.2 DISCUSIÓN

La hipótesis del estudio planteaba una relación positiva entre la suplementación de BC y el inicio de la pubertad en cabras; sin embargo, los resultados obtenidos no dan sustento a dicha hipótesis. Asimismo, se plateó que la suplementación con BC aumentaría los niveles de T3; aunque dicho

incremento no ocurrió en los niveles séricos promedios durante el estudio, si se observó un efecto de BC sobre el patrón de las concentraciones séricas de T3 a través del tiempo. Por lo anterior, la hipótesis planteada al inicio del estudio es parcialmente aceptada.

5.2.1 Peso corporal y condición corporal

Algunas de las variables más discutidas en investigaciones anteriores en relacion al inico de la pubertad son el peso corporal, la condicion corporal y la edad. Sakuralet *al.*,(2004) concluyeron que las cabras nativas en Japón, inician la pubertad hacia las 27 semanas de edad cuando alcanzan un peso corporal promedio de 12.2 kg. Estudios en el área de Zacatecas, México (22° 58' LN y 102°30') por Escobar Medina (2004), reporta el inicio de la pubertad a edades hasta de 4 meses de edad. En el presente estudio se utilizaron cabras nacidas en marzo con un peso promedio durante el experimento de 20.06 kg y un peso al final del experimento de 24.16, lo cual es consistente con lo reportado previamente, aunque las cabras utilizadas en nuestro estudio tenían un alto encaste a grupos Alpino-Saanen, los cuales tienden a ser muy estacionales. Estudios realizados en animales silvestres, demuestran que la actividad reproductiva está más relacionada con el peso corporal y la condicion corporal. La condicion corporal en nuestro estudio no difirió entre tratamientos; en promedio se observó una condicion buena, que equivale a la definicion aceptable dentro del parametro, entre 3 y 4 unidades.

5.2.2. Concentraciones séricas de triyodotironina y porcentaje de pubertad

Las hormonas tiroideas ejercen una extraordinaria multiplicidad de acciones celulares, bioquímicas y fisiológicas. Las diversas acciones biológicas de T3 pueden dividirse en dos grandes áreas de acción: crecimiento y desarrollo, así como regulación del metabolismo (Tata, 2007). Aunque T3 está ligada a diversos aspectos de la función reproductiva, su papel en el inicio de la pubertad han sido poco estudiados (López-Medrano *et al.*, 2009). De acuerdo a Ziouzenkova *et al.* (2007) el metabolismo del BC genera ácido retinoico, retinal y vitamina A, los cuales son compuestos antioxidantes que podrían mejorar la habilidad del cuerpo lúteo para sintetizar progesterona en un medio con especies de oxígeno reactivo (ROS) y además se sabe que la mayoría de los productos de genes relacionados con la reproducción son modulados por el ácido retinoico.

Aunque no se encontró diferencia ($P > 0.05$) entre grupos experimentales para la relación entre suplementación de BC y los niveles séricos promedio de T3, se pudo observar una diferencia ($P < 0.01$) entre el patrón de las concentraciones de T3 en los grupos experimentales al inicio del tercer bimestre (Octubre-Noviembre), lo cual se relacionó positivamente con un incremento en el porcentaje de cabras iniciando la pubertad, éste incrementó fue observado en ambos grupos experimentales. En efecto, según Chemineau *et al.* (2008) la frecuencia de ovulación y estro en cabras Alpina y Saanen ocurre en los meses de octubre-enero, bajo esquemas fóticos decrecientes.

En machos caprinos, Gunnarsson *et al.*, 2009 reportaron un rol positivo de T3 sobre la diferenciación y función de las células Leydig, promoviendo la esteroidogénesis y disparando el

inicio de la pubertad. Asimismo, Sharp (2005) reportó que la liberación fotoinducida de GnRH puede ser mediada a través de un reloj fotoperiódico dependiente del incremento de T3 en la región basal media del hipotálamo. Dicho incremento de T3 puede actuar a través de los receptores de hormonas tiroideas presentes en la eminencia media para controlar la liberación de GnRH mediante regulación a nivel neuronal. Sin embargo, dicha activación en los neurones de GnRH dependiente de T3 fue un escenario fisiológico que no se presentó en nuestro estudio.

VI. CONCLUSIONES

No existieron diferencias entre tratamientos para el inicio de la pubertad, por lo cual se determina que el suministro de 200 mg/cabra/día de betacaroteno, no generó un inicio más temprano de la activación de las neuronas de GnRH al inicio de la pubertad. La suplementación con betacaroteno BC en cabras peripuberales, no promovió un inicio anticipado de la pubertad y tampoco generó un incremento en los valores séricos promedios de T3.

Sin embargo, la suplementación de betacaroteno afectó positivamente el patrón de secreción concentraciones de T3 a través del tiempo, alcanzando los valores máximos en el tercer bimestre del período experimental (octubre-noviembre), período de tiempo coincidente con el mayor incremento en el número de cabras alcanzando la pubertad en ambos grupos. Dichos resultados podrían tener implicaciones tanto clínicas como productivas.

VII. LITERATURA CITADA

- Aghajanova L, Stavreus-Evers A, et al. (2011). Thyroid-stimulating hormone receptor and thyroid hormone receptors are involved in human endometrial physiology. *Fertil Steril*. 95(1):230-7, 237.e1-2.
- Aghajanova L, Lindeberg M, et al. (2009). Receptors for thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones in human ovarian tissue. *Reprod Biomed Online*. 18(3):337-47.
- Anderson GM, Connors JM, Hardy SL, Valent M, Goodman RL, (2001). Oestradiolmicroimplants in the ventromedial preoptic area inhibit secretion of luteinizing hormone via dopamine neurones in anoestrous ewes. *J Neuroendocrinol* 13:1051-1058.
- Arechiga C.F., Staples C.R., McDowell L.R., and P.J. Hansen. (1998). Effects of Timed Insemination and Supplemental b-Carotene on Reproduction and Milk Yield of Dairy Cows Under Heat Stress. *J. Dairy Sci*, 81, No. 2
- Arechiga CF, Vazquez-Flores S, Ortiz O, Hernandez-Ceron J, Porras A, McDowell LR, Hansen PJ. (1998). Effect of injection of beta-carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology* 50: 65-76.
- Arellano-Rodriguez G, Meza-Herrera CA, et al. (2009). Short-term intake of beta-carotene-supplemented diets enhances ovarian function and progesterone synthesis in goats. *J AnimPhysiolAnimNutr (Berl)*. 2009 Dec;93(6):710-5.
- Blache D, Zhang S, Martin GB, (2006). Dynamic and integrative aspects of the regulation of reproduction by metabolic status in male sheep. *Reprod. Nutr. Dev*. 46: 379–390.
- Boulogne B, Habert R, Levacher C. (2003). Regulation of the proliferation of cocultured gonocytes and Sertoli cells by retinoids, triiodothyronine, and intracellular signaling factors: differences between fetal and neonatal cells. *Mol Reprod Dev*. 65(2):194-203.
- Bronson, FH, 1989. *Mammalian reproductive biology*. University of Chicago Press, USA.
- Busato, A., D. Faissler, et al. (2002). Body Condition Scores in Dairy Cows: Associations with Metabolic and Endocrine Changes in Healthy Dairy Cows. *J. Vet. Med. Series A* 49(9): 455-460.
- Calderón F., Chauveau-Duriot B., Martin B., Graulet B., Doreau M., Noziere P. (2007). Variations in carotenoids, vitamins A and E, and color in cow's plasma and milk during late pregnancy and the first three months of lactation. *J. DairySci*. 90, 2335–2346.
- Castellano JM, Gaytan M, Roa J, Vigo E, Navarro VM, Bellido C, Dieguez C, Aguilar E, Sanchez-Criado JE, Pellicer A, Pinilla L, Gaytan F, Tena- Sempere M. (2006). Expression of KiSS-1 in rat ovary: putative local regulator of ovulation? *Endocrinology* 147:4852-4862.

- Chaube R, Joy KP. (2005). Cyclic AMP-protein kinase a and protein kinase C mediate in vitro T activation of brain tyrosine hydroxylase in the female catfish *Heteropneustes fossilis*. *J Neuroendocrinol.* 17(2):91-6.
- Chemineau P, D Guillaume, M Migaud, JC Thiery, MT Pellicer-Rubio and B Malpoux. (2008). Seasonality of Reproduction in Mammals: Intimate Regulatory Mechanisms and Practical Implications. *Reprod Dom Anim* 43:(Suppl. 2) 40-47.
- Chemineau P, Daveau A, Maurice F, Delgadillo JA. (1992) Seasonality of oestrus and ovulation is not deeply modified by submitting Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Rumin Res* 8:299-312.
- De Moraes GV, Vera-Avila HR, et al. (1998). Influence of hypo- or hyperthyroidism on ovarian function in Brahman cows. *J Anim Sci.* 76(3):871-9.
- Dellovade TL, Zhu YS, Pfaff DW. (1999). Thyroid hormones and estrogen affect oxytocin gene expression in hypothalamic neurons. *J Neuroendocrinol.* 11(1):1-10.
- Firat A, Ozpinar A, Serpek B, Haliloğlu S. (2005). Comparisons of serum somatotropin, 3,5,3'-triiodothyronine, thyroxine, total protein and free fatty acid levels in newborn Sakiz lambs separated from or suckling their dams. *Ann Nutr Metab.* 49(2):88-94.
- Francis J P Ebling. 2005. The neuroendocrine timing of puberty. *Reproduction* (2005) 129 675–683. DOI: 10.1530/rep.1.00367 ISSN 1470–1626 1741–7899.
- Gonzalez-Bulnes A, Meza-Herrera, C.A., R. Kridli, M. Mellado, C.F. Arechiga-Flores, H. Salinas, and J.M. Luginbuhl. 2010a. Neuroendocrine, metabolic and genomic cues signaling the onset of puberty in females. *Reprod. Domest. Anim.* In press. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2009.01355.x
- Greives J.T, Kriegsfeld J.L, Bentley E.G, Tsutsui K and Demas E.G, (2008). Recent advances in reproductive neuroendocrinology: a role for rifamide peptides in seasonal reproduction?. *Proc. R. Soc. B.*, 275, 1943–1951.
- Grumbach MM. (2005). The neuroendocrinology of human puberty revisited. *Horm Res*, 57:2-14.
- Haliloglu S, Baspinar N, Serpek B, Erdem H, Bulut Z. (2002). Vitamin A and beta-carotene levels in plasma, corpus luteum and follicular fluid of cyclic and pregnant cattle. *Reprod Domest Anim* 37: 96-99.
- Haliloglu, S., N. Baspinar, et al. (2002). Vitamin A and β -Carotene Levels in Plasma, Corpus Luteum and Follicular Fluid of Cyclic and Pregnant Cattle. *Reprod Domest Anim* 37(2): 96-99.
- Jiménez-Lara AM, Clarke N, Altucci L, Gronemeyer H. (2004). Retinoic-acid-induced apoptosis in leukemia cells. *Trends Mol Med* 10:508-515.

- Klobucar I, Kosec M, et al. (2003). Postnatal hypothyroidism does not affect prepubertal testis development in boars. *Reprod Domest Anim.* 38(3):193-8.
- Kumar P, Pati AK, et al. (2009). Effects of simulated hypo- and hyper-reproductive conditions on the characteristics of circadian rhythm in hypothalamic concentration of serotonin and dopamine and in plasma levels of thyroxine, triiodothyronine, and testosterone in Japanese quail, *Coturnixcoturnix japonica*. *Chronobiol Int.* 26(1):28-46.
- Maran RR. (2003). Thyroid hormones: their role in testicular steroidogenesis. *Arch Androl.* 2003 Sep-Oct;49(5):375-88.
- Meza-Herrera, C.A., A. Gonzalez-Bulnes, R. Kridli, M. Mellado, C.F. Arechiga-Flores, H. Salinas, and J.M. Luginbhul. (2010b). Neuroendocrine, metabolic and genomic cues signaling the onset of puberty in females. *Reproduction in domestic animals*. In press. Doi: 10.1111/j.1439-0531.2009.01355.x
- Meza-Herrera, C.A., F.G. Veliz-Deras, M. Wurzinger, B. Lopez-Ariza, G. Arellano-Rodriguez, and R. Rodriguez-Martinez. (2010a). The kiss-1, kisspeptin, gpr-54 complex: a critical modulator of gnRH neurons during pubertal activation. *J. Appl Biomed.* 8(1):1-9.
- Meza-Herrera, CA, FG Veliz-Deras, M Wurzinger, B Lopez-Ariza, G Arellano-Rodriguez, R Rodriguez-Martinez. 2010b. The kiss-1, kisspeptin, gpr-54 complex: A critical modulator of GnRH neurons during pubertal activation. *J. Appl. Biomed.* 8:1-9.
- Mochizuki K, Sakaguchi N, Goda T. (2007). Triiodothyronine (T3) and fructose coordinately enhance expression of the GLUT5 gene in the small intestine of rats during weaning period. *Biosci Biotechnol Biochem.* 71(5):1345-7.
- Morgan PJ, Hazlerigg DG. (2008). Photoperiodic signalling through the melatonin receptor turns full circle. *J Neuroendocrinol.* 20(6):820-6.
- Nishimura N, Yonemoto J, et al. (2005). Altered thyroxine and retinoid metabolic response to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in aryl hydrocarbon receptor-null mice. *Arch Toxicol.* 79(5):260-7.
- Nogueiras, R., M. L. Barreiro, et al. (2004). Novel expression of resistin in rat testis: functional role and regulation by nutritional status and hormonal factors. *J Cell Sci* 117(Pt 15): 3247-3257.
- Ojeda S. R. (2006). La regulacion neuroendocrina de la pubertad normal y precoz: nuevos genes y nuevos conceptos. *An Pediatr.* 64 (Supl 2):8-14
- Ojeda SR, Terasawa E. (2002). Neuroendocrine regulation of puberty. *Hormones, Brain and Behavior* (Vol 4). Elsevier, New Yorkpp. 589-659.
- Ojeda SR, Urbanski HF. (2005). Puberty in the rat. En: Neill JD, editor. *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press; p. 2061-126.

- Pals K, Vankelecom H, Deneef C. (2006). Triiodothyronine expands the lactotroph and maintains the lactosomatotroph population, whereas thyrotrophin-releasing hormone augments thyrotroph abundance in aggregate cell cultures of postnatal rat pituitary gland. *J Neuroendocrinol.* 18(3):203-16.
- Sakurai K., Ohkura S., Matsuyama Sh, Katoh K., Obara Y yOkamura H. (2004). Body growth and plasma concentrations of metabolites and metabolic hormones during the pubertal period on female shiba goats. *J. Reprod. Dev.* 50: 197-205,2005.
- Scanes CG, Griminger P. (1990). Endocrine-nutrition interactions in birds. *J ExpZool Suppl.* 1990;4:98-105.
- Steinman MQ, Dinius SC, et al. (2008). Photostimulated expression of type 2 iodothyroninedeiodinase mRNA is greatly attenuated in the rostral tuberal hypothalamus of the photorefractory turkey hen. *J Neuroendocrinol.* 20(11):1260-1269.
- Tan SW, Zoeller RT. (2007). Integrating basic research on thyroid hormone action into screening and testing programs for thyroid disruptors. *Crit Rev Toxicol.* 2007 Jan-Feb;37(1-2):5-10.
- Tata J.R. (2007). A hormone for all seasons. *Perspect. Biol. Med.* Winter; 50: 89-103.
- Tena-Sempere M, Huhtaniemi I. (2003). Gonadotropins and gonadotropinreceptors. En: Fauser BCJM, editor. In: *Reproductive Medicine - Molecular, Cellular and Genetic Fundamentals.* New York: Parthenon Publishing. p. 225-44.
- Tena-Sempere. M. (2007). Kisspeptinas y pubertad. *An Pediatr (Barc).* 66(Supl 1):31-7
- Terasawa E, Fernandez DL. (2001). Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocr Rev.* 2001;22:111-51.
- Thiery JC, Martin GB, Tillet Y, Caldani M, Quentin M, Jamain C, Ravault JP. (1989). Role of hypothalamic catecholamines in the regulation of luteinizing hormone and prolactin secretion in the ewe during seasonal anestrus. *Neuroendocrinology* 49, 80-87.
- Webster JR, Moenter SM, Barrell GK, Lehman MN and Karsch FJ. (1991). Role of the thyroid gland in seasonal reproduction. Thyroidectomy blocks seasonal suppression of gonadotropin-releasing hormone secretion in sheep. *Endocrinology* 129:1635–1643.
- Weng BC, Chew BP, et al. (2000). Beta-carotene uptake and changes in ovarian steroids and uterine proteins during the estrous cycle in the canine. *J Anim Sci.* 2000 May;78(5):1284-90.
- Wirth, E. K., S. Roth, et al. (2009). Neuronal 3',3,5-triiodothyronine (T3) uptake and behavioral phenotype of mice deficient in Mct8, the neuronal T3 transporter mutated in Allan-Herndon-Dudley syndrome. *J Neurosci* 29(30): 9439-9449.
- Yasuo, S., M. Watanabe, et al. (2006). Molecular Mechanism of Photoperiodic Time Measurement in the Brain of Japanese Quail. *Chronobiol. Intern.* 23(1/2): 307-315.

- Yokus, B., D. U. Cakir, et al. (2006). Effects of Seasonal and Physiological Variations on the Serum Chemistry, Vitamins and Thyroid Hormone Concentrations in Sheep. *J. Vet. Med. Series A* 53(6): 271-276.
- Zamaratskaia G, Babol J, et al. (2004). Age-related variation of plasma concentrations of skatole, androstenone, testosterone, oestradiol-17 beta, oestrone sulphate, dehydro-epiandrosterone sulphate, triiodothyronine and IGF-1 in six entire male pigs. *Reprod Domest Anim.* 2004 Jun;39(3):168-72.
- Zhao, X., D. W. Pfaff, et al. (2006). "Estrogens and Thyroid Hormones: Non-Genomic Effects are Coupled to Transcription." *Immunology, Endocrine & Metabolic Agents - Medicinal Chemistry* 6(3): 267-280.
- Ziouzenkova, O., G. Orasanu, et al. (2007). "Asymmetric cleavage of beta-carotene yields a transcriptional repressor of retinoid X receptor and peroxisome proliferator-activated receptor responses." *Mol Endocrinol* 21(1): 77-88.
- Zoeller RT, Tan SW, Tyl RW. (2007). General background on the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis. *Crit Rev Toxicol.* 2007 Jan-Feb;37(1-2):11-53.