

## Interacción reproducción-nutrición en los animales domésticos: es la leptina la clave?

Zulma T Ruiz<sup>1</sup>, MV, Candidata PhD; Bruce D Murphy<sup>1</sup>, PhD  
Martha Olivera Angel, Dr. Sci. Agr<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup>Centre de Recherche en Reproduction Animale, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe Québec;

<sup>2</sup>Biogénesis, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad de Antioquia

(Recibido: 30 julio, 99; aprobado: 13 septiembre, 99)

### Resumen:

*Diversos factores como la disposición de energía, de vitaminas, de minerales y de ácidos grasos podrían influenciar la función reproductiva en los animales domésticos por su doble efecto a nivel del eje hipotálamo-pituitaria y a nivel local en el ovario. La importancia del estado metabólico del animal sobre la capacidad reproductiva ha sido ampliamente evidenciada en diferentes especies. El desarrollo del tejido adiposo junto con la producción y secreción de citoquinas y otras proteínas por los adipocitos serían puntos de control de diversos procesos metabólicos. Así, ha sido descubierta recientemente una hormona secretada por el tejido adiposo, la leptina, la cual parece jugar un papel preponderante sobre la regulación de la toma de alimento, el gasto energético, y la secreción de gonadotropinas. Los sitios de acción y los diferentes efectos potenciales de la leptina sobre la reproducción están siendo elucidados.*

*Palabras claves:* nutrición, reproducción, adipocitos, leptina

### Introducción

El éxito reproductivo, durante 65 millones de proceso evolutivo ha sido el factor más importante para la supervivencia de los mamíferos. Esta estrategia requiere del desarrollo puberal de machos y hembras, la presentación de ovulación de manera estacionaria y/o cíclica, fertilización exitosa, gestación a término. El desarrollo de la zootecnia y la selección de animales domésticos ha demostrado que el aspecto nutricional, en particular la disponibilidad de alimento, tiene profunda influencia en la función reproductiva.

El proceso reproductivo, en todas sus etapas, se ve afectado por el estado nutricional del individuo. Así, es bien conocido como el momento de la pubertad se ve influenciado por la dieta y la tasa de crecimiento. En rumiantes, por ejemplo, se postula un límite o punto ideal en la masa corporal determinado genéticamente

para alcanzar la pubertad (49). La presentación del primer estro y del primer parto, demuestran un alto nivel de correlación con la condición corporal (19). En ovejas, factores nutricionales modulan la estacionalidad (20). La pubertad en los cerdos es determinada por la composición corporal relacionada con los depósitos grasos (22). El intervalo postparto está directamente correlacionado con la nutrición y la condición corporal en ovejas (24; 1) ganado de leche (7), de carne (9; 6; 46; 42) y doble propósito (19). Las tasas de concepción (40; 21), así como el porcentaje de preñez, (48) aumentan al mejorar la nutrición en ganado bovino.

El crecimiento de los mamíferos depende de la disponibilidad de nutrientes lo que incluye adecuadas cantidades de carbohidratos, proteínas y lípidos en el material absorbido por el tracto digestivo. Un consumo insuficiente de energía afecta negativamente la función reproductiva, lo que demuestra que la energía to-

tal juega un papel importante en la ecuación metabólica del consumo, utilización y reserva como determinantes del peso corporal. Un incremento en el consumo de energía justo antes del momento de la ovulación aumenta la tasa de ovulación en ovejas y cerdas, deficiencias en vitaminas (vitamina A) o minerales (Zn y Se) conllevan a una marcada reducción en la eficiencia reproductiva (49).

### *Sitios de acción de los efectos nutricionales*

Se postula que algunos nutrientes específicos afectan los procesos reproductivos directamente. Experimentos suplementando composiciones variadas en ácidos grasos han demostrado mejorar las tasas de concepción y estimular el desarrollo folicular durante el postparto temprano en ganado de carne y de leche (48; 17; 27). El suministro de lípidos por infusión intravenosa, es igualmente efectiva, lo que sugiere que la respuesta es independiente de la fermentación bacteriana en el rumen (38).

Suplementación específica con ácidos grasos demuestra efectos favorables de los lípidos en las funciones reproductivas. Lucy et al. (39) demostraron que las sales de calcio de los ácidos grasos de cadena larga (40% ácido oléico y 9.5% ácido linoléico) estimulan el desarrollo folicular en ganado de leche y mejora las tasas de concepción (21); en ganado de carne se han reportado resultados similares (28). En vacas Brahman durante el postparto el suplemento alimenticio con altas concentraciones de ácidos linoléico y oléico incrementan el número de folículos sin importar su estado de desarrollo (pequeño, mediano, grande) (17). Al contrario si el contenido de ácidos grasos es de apenas 14% de ácido oléico y de 1% de ácido linoléico en el rumen es poco el efecto en el desarrollo folicular de los ovarios en ganado de leche (4).

Los claros efectos sobre la capacidad reproductiva de la nutrición y de la suplementación con lípidos conllevan de manera tácita a la pregunta de dónde sería su sitio y cuál su mecanismo de acción. Parece claro que la nutrición actúa simultáneamente o en tandem en múltiples sitios del sistema reproductivo. El primero identificado y quizás el más importante mecanismo de acción es sobre el eje hipotálamo-pituitaria regulando la secreción de gonadotropinas. El crecimiento y las señales metabólicas incrementan la frecuencia de los pulsos de gonadotropinas en oveja (20), y la frecuencia de las pulsaciones de LH así como la res-

puesta a la aplicación exógena de GnRH se ven dramáticamente disminuidas en ovejas Pelibuey bajo condiciones de stress nutricional (23; 24). Un segundo sitio potencial de acción sería el ovario, donde la disponibilidad del precursor de las hormonas esteroideas esenciales para lograr la eficiencia reproductiva, el colesterol, se ve aumentado por una suplementación grasa en la dieta y afectado por una nutrición deficiente (48). Otra posibilidad es la de efectos a nivel pancreático, ya que la secreción de insulina se ve modulada al suplementar con ácidos grasos (48). El mismo autor plantea que éstos ácidos grasos de cadena larga incrementarían la vida media del cuerpo lúteo inhibiendo la síntesis de prostaglandinas por el útero. Más recientemente, el efecto de los ácidos grasos sobre el tejido adiposo ha sido definido como un intermediador en el mecanismo de los cambios reproductivos inducidos por la dieta.

### *Papel modulador del tejido adiposo*

La principal reserva de energía de los animales domésticos es el tejido adiposo el cual acumula triacilglicerol cuando se presenta exceso de energía en la dieta y moviliza dichas reservas al producirse deficiencia de energía. El tejido adiposo se distribuye por zonas, es fácilmente metabolizable y está bajo un estricto control hormonal. El principal estímulo para que se produzca acúmulo de triglicéridos en las células lipídicas es la insulina, mientras que los glucocorticoides, los b-adrenérgicos y las hormonas de la tiroides, en general, causan el metabolismo de los triglicéridos. Además de sus funciones en la reserva de energía, se ha demostrado que el tejido adiposo tiene igualmente importantes funciones secretoras. Los adipocitos maduros producen citoquinas, incluyendo el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  y el factor inhibitorio de la migración de macrófagos e igualmente produce proteínas reguladoras del sistema vascular como la angiotensina y el activador del plasminógeno (25).

Investigaciones recientes han revelado mayor actividad secretora del tejido adiposo, una proteína de 16 Kda la cual ha sido llamada leptina (53). La leptina tendría efectos en el estado energético de los mamíferos (30). Esto incluye regulación de la secreción de insulina, regulación del apetito, movilización de las reservas grasas y hasta incremento en la tasa metabólica (11). Como se mencionará más adelante, la leptina tiene profundos efectos sobre la función reproductiva y podría ser el tan buscado eslabón entre nutrición y reproducción en los animales domésticos.

***La leptina como regulador fisiológico importante del consumo de alimentos y de las reservas energéticas.***

Una distribución adecuada de los nutrientes en pro de una adecuada composición corporal es una herramienta clave para el mejoramiento de la eficiencia productiva. La regulación del consumo de alimentos y el mantenimiento del balance energético ayuda a optimizar la cría de animales, mejorar su estado reproductivo y lactacional. Desde 1953, Kennedy (34) postulaba la existencia de "un factor hormonal" que regularía el peso y la cantidad de tejido adiposo. A partir de allí, la hormona de la tiroides, factores de crecimiento (como el factor de necrosis tumoral), factores hepáticos y la insulina fueron fuertes candidatos. En 1994 (53) encontraron que la leptina, de la palabra griega *leptos* (delgado), responde activamente a los cambios nutricionales y metabólicos. Su producción aumenta con la alimentación y con el contenido adiposo del cuerpo (27) y se describió como el "factor de la saciedad", en los mamíferos la producen los adipocitos y la placenta (29), en las ratas también el tejido gástrico (2), y en los pollos se ha encontrado que el hígado la produciría (49).

La leptina ha sido implicada desde su descubrimiento en la regulación del consumo de alimento, el consumo de reservas y el balance energético corporal en roedores y en humanos. El gen que codifica para la producción de la leptina fue clonado en la rata (53) y se ha estudiado igualmente su forma de expresión en el cerdo (44). Se demostró en ratones transgénicos que la mutación del gen produce obesidad por lo que fueron llamados ratones *ob/ob* (53). Al administrarles de manera exógena leptina, se mejoró el funcionamiento reproductivo y endocrino, se produjo así una marcada reducción en el consumo alimenticio y pérdida de peso. La expresión y secreción de leptina se correlacionó de manera marcada con el contenido adiposo corporal y con la talla de los adipocitos (30). En hombres y mujeres existe una fuerte correlación entre los niveles séricos de leptina y la masa corporal, aunque los niveles son mayores en mujeres que en hombres dado el igualmente mayor grado de obesidad en éstas últimas (31).

En nutrición, los niveles basales (balance energético igual a cero) se traducen en expresión y secreción de leptina que reflejan la cantidad de tejido adiposo en el organismo. Su correlación con el tejido adiposo, se ve drásticamente alterado por cambios en el balance

energético y por la privación de alimento (por un tiempo de 12 a 48 horas) lo que resulta en una rápida y dramática caída en la expresión del gen de la leptina (16); cambios más sutiles en el balance energético tienen igualmente profundos efectos en su expresión. 10% de disminución en el peso corporal en individuos obesos resulta en una reducción del 53% de los niveles séricos de leptina y un incremento de 10% en el peso corporal se traduce en aumento del 300% en los niveles de leptina en suero (15). La leptina entonces no sólo actúa como un "adipostato" para indicar el estado de reservas energéticas al cerebro, y a otros tejidos donde se han encontrado receptores, sino que igualmente funciona como un sensor del balance energético (27).

Se ha demostrado que el tratamiento de animales con leptina causa una disminución en el consumo de alimento de una manera dosis-dependiente, pérdida en el peso corporal, disminución de los depósitos grasos y un incremento del metabolismo energético (37). En éste estudio, las pérdidas potenciales de peso corporal se ven incrementadas dado el aumento en la tasa metabólica. Esto contrasta con la reducida tasa metabólica que se presenta en casos de una alimentación limitada o insuficiente.

Se propone la teoría lipostática como mecanismo de acción de la leptina. La hormona es secretada por los adipocitos en la sangre y es transportada hacia el cerebro donde actúa para estimular o inhibir la liberación de factores, que se mencionan más adelante, lo que finalmente resulta en una reducción en el consumo alimenticio (fenómeno de saciedad), incremento del gasto energético y una mayor actividad física. Igualmente, la leptina ejerce un efecto de retrocontrol negativo inhibiendo su propia expresión (41).

***Sitios Potenciales de acción de la leptina:***

***Efectos centrales***

El mecanismo por medio del cual la leptina actúa sobre el hipotálamo parece ser mediado por su efecto sobre el neuropéptido (NPY). Al contrario de la leptina, el NPY es un potente estimulador de la ingestión de alimentos e inhibidor de la secreción de gonadotropinas (32). El suministro de leptina hace disminuir la expresión de NPY en el núcleo arcuato y por ende retiraría el efecto inhibitorio de éste sobre la liberación de GnRH. En efecto, se han encontrado receptores de leptina en neuronas NPY de ratón y oveja, lo que corroboraría

ésta vía de acción (8). Estudios en ratones demuestran que otros posibles blancos hacia los cuales estaría dirigido el efecto de la leptina serían la galanina hipotalámica (GAL), hormona concentradora de melanina y la proopiomelanocortina (POMC) (45). El transcripto regulado por la cocaína y la anfetamina (CART) es otro factor que ha sido estudiado recientemente y que tendría su acción como intermediario para el efecto de la leptina sobre el neuropeptido Y (35).

#### *Efecto de la leptina sobre el sistema reproductivo de los animales domésticos*

Se especula mucho acerca del cuál es la señal que comunica el estado nutricional y el sistema reproductivo, diálogo importante y determinante en estadios fisiológicos claves como la llegada de la pubertad o el restablecimiento reproductivo postparto en los animales domésticos. Luego de múltiples estudios en los que se evidenció que la aplicación exógena de leptina recombinante humana solucionaba problemas de infertilidad, hipogonadismo, anovulación en ratas con deficiencia de dicha hormona (ratas obesas *ob/ob*) se empezó a postular a la leptina como el posible “eslabón perdido” entre nutrición y reproducción (14).

#### *¿Cómo serían los efectos de la leptina sobre la reproducción?*

Barash et al. (3) propusieron que la leptina informa al eje reproductivo acerca del estado nutricional. Se asemejaría a un semáforo que da luz verde al sistema reproductivo cuando el balance metabólico es positivo, luz roja cuando es negativo e igualmente alerta cuando el sistema metabólico está en “stress” lo que se presenta frecuentemente en el período postparto.

Un primer paso lógico para entender el mecanismo por medio del cual la leptina tiene influencia sobre el sistema reproductivo, es por medio de la localización de receptores funcionales para esta hormona. Estudios en humanos y roedores han demostrado que existen hasta cinco isoformas, denominadas largas, cortas y solubles (13; 36). Se han detectado ARN mensajeros en los núcleos ventromedial y arcuato del hipotálamo e igualmente en la hipófisis anterior de la oveja (18). En ratas, el ARN mensajero se encontró en ovario, testículo, útero, hipotálamo y glándula pituitaria (52), así como en ovarios y testículo de humano (13). Se ha encontrado ampliamente distribuido en tejidos de cerdo como testículo, útero, epidídimo, glándula adrenal (41). Ha sido detectada igualmente la expresión de diferentes isoformas del receptor según el estado del

ciclo estral en mujeres. La forma larga del receptor expresándose de manera baja durante el metaestro siendo inversamente proporcional a los niveles de esteroides y de NPY (5). La conclusión general de éstos y otros experimentos es la hipótesis que postula que la leptina tiene su efecto sobre el sistema reproductivo de manera secundaria por inducción de producción de gonadotropinas. Existe evidencia de que la leptina tiene la capacidad de acelerar la aparición de la pubertad por medio del estímulo en la liberación de la hormona luteinizante LH, lo que indica un estímulo a nivel de la pituitaria anterior y/o el hipotálamo (50). Así, la leptina ha sido bautizada como la “puerta de entrada metabólica hacia la pubertad” luego de experimentos de aplicación de leptina junto con alimentación controlada que llevaron a la presentación de la pubertad de manera precóz, frente a los controles aunque, el consumo de alimento era exactamente el mismo (10, 12).

Los frecuentes problemas de amenorrea asociados con el ejercicio en mujeres bailarinas, se han relacionado con bajos niveles séricos de leptina comparado con mujeres ciclando normalmente, lo que confirmaría el efecto de la leptina sobre el ciclo menstrual (31).

Aunque los estudios mencionados anteriormente evidencian los efectos centrales por la vía de los neuropéptidos, la posibilidad de efectos directos sobre órganos reproductivos no se descarta habiéndose encontrado receptores en éstos tejidos. En varias especies, se han encontrado receptores en ovario por ejemplo en ratas, vacas y en mujeres así como niveles de leptina en el fluido folicular (33). Existen estudios acerca de cómo la leptina tendría efectos intraováricos directos inhibiendo el sinergismo entre el factor de crecimiento insulinoide (IGF-1) y la hormona folículo estimulante FSH para estimular la producción de estradiol 17 $\beta$  por las células de granulosa (51), así como inhibición de la esteroidogénesis por las células de la teca y granulosa (47). Zamorano et al. (52) hallaron que tratamientos con leptina en ratas (*ob/ob*) en dosis de 0.15mg/Kg, 2 semanas, resultan en una marcada disminución en la expresión de ARNm de las enzimas de esteroidogénesis: P450 $s_{cc}$  y 17 $\alpha$  hidroxilasa en el ovario lo que para ellos fue indicio de la regulación por la leptina de la expresión genética en ovario. Por otro lado, estudios más recientes demuestran que la leptina estimula directamente la actividad aromatasa en células de granulosa durante la luteinización *in vitro* (Kitawaki et al., 1999).

Estudios en cerdos han evidenciado la distribución de receptores de leptina en células de granulosa y de teca, cuerpo luteo en diferentes estadios (temprana, media y tardía) (41). Después de aplicar un modelo de luteinización *in vitro* como reflejo fidedigno de lo que ocurre durante la luteinización *in vivo* (43), se ha venido constatando que la expresión del gene del receptor de leptina varía en ésta fase del ciclo presentándose niveles máximos durante la fase media y mínimos en el cuerpo lúteo temprano y al momento de su regresión. De igual manera, luego de realizar análisis de ARN hibridando con sondas de ADN complementario obtenida a partir del secuenciamiento del fragmento extracelular común del receptor de leptina, se ha hallado que hay expresión de isoformas, de acuerdo al momento de la fase lútea, lo que lleva a plantear la hipótesis de una acción directa e igualmente de una posible regulación de éste momento del ciclo estral en cerdos por parte de la leptina a través de diferentes vías intracelulares de "señalización",

#### *Efectos de leptina en animales domésticos*

Aunque la obesidad *per se* no es un problema mayor en animales domésticos, el mejoramiento de la eficiencia productiva y reproductiva, de la composición de la carcasa y un buen estado general de salud son objetivos importantes, todos relacionados con la nutrición del animal. Efectos *in vivo* de la leptina en animales de granja no han sido hasta ahora muy bien documentados. Sin embargo, la revisión de literatura mencionada a lo largo del texto lleva fácilmente a especular acerca del papel de ésta nueva hormona. Así, en situaciones críticas, como lo es el posparto en ganado de carne, se pensaría en la combinación de técnicas de manejo nutricional junto con aplicación de leptina en aras de reducir el período de anestro. Por otro lado, la selección de animales precoces que inicien su etapa pro-

ductivo de manera muy temprana buscando engrosar las filas de las bases de datos del hato, ha sido siempre meta principal del productor, cabe preguntarse si es la leptina el elemento clave para lograr éste objetivo.

Se podría proponer que la estrategia del flushing, utilizada con relativo éxito en el manejo alimenticio de las reproductoras suínas y caprinas, pone en juego un retrocontrol negativo de la leptina. Al verse el organismo sometido a una sobregarga energética, se genera inmediatamente señal de saciedad, que no es otra cosa que mover el interruptor de la leptina hacia el "on". El estímulo hacia el eje hipotálamo-pituitaria se genera y la hormona luteinizante se dispara. El ambiente endocrino se torna ideal para que el animal emule su tasa máxima de ovulaciones.

### **Conclusiones**

Parece claro el papel regulatorio de la leptina sobre el sistema reproductivo por la vía neuroendocrina y quizás directamente sobre tejidos reproductivos. La potencial aplicabilidad de éstos conocimientos para mejorar la eficiencia reproductiva de los animales domésticos queda abierta a la especulación. Así, retirar la inhibición del mecanismo de liberación de GnRH durante la transición hacia la pubertad o durante otros períodos de quiescencia neuroendocrina como en "anestro" estacional o el del postparto sería de gran utilidad en la tan buscada eficiencia reproductiva. Estados de subnutrición y baja condición corporal que afectan la eficiencia reproductiva, serían otros blancos obvios. Sin embargo, no se debe olvidar que no estamos hablando de la "panacea" descubierta sino de una herramienta del conocimiento dentro del complejo engranaje del sistema interactivo nutrición-reproducción.

#### **Summary**

*Numerous factors including energy intake, vitamins, minerals and fatty acids influence reproductive function in domestic animals by means of their effects both on the hypothalamus-pituitary axis and directly on the gonads. Metabolic condition has been amply demonstrated to affect reproductive capacity. Development of adipose tissue in conjunction with production and secretion of cytokines and other proteins by fat cells are expected to exercise control over metabolic processes. In this context, leptin a recently discovered hormone secreted by adipose tissue appears to play a preponderant role in regulating appetite, energy expenditure and gonadotropin secretion. Currently the sites of action and potential effects of leptin on reproduction are being elucidated.*

## Referencias

1. Alvarez J, Zarco L, Rubio I, Cruz C. Use of inexpensive feed supplementation to improve reproductive efficiency of Pelibuey sheep in the tropics. Effect of pre- and post-partum supplementation. In Development of feed supplementation strategies for improving ruminant productivity on small holder farms in Latin America through the use of immunoassay techniques. IAEA TECDOC 877. 1996. pp45-52.
2. Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, Moizo L, Lehy T, Guerre-Millo M, Le March-Brustel Y, Lewin MJ. The stomach is a source of leptin. *Nature*. 1998. 394:790-793
3. Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabigting EB, Kuijper JL, Klifton DK, Steiner RA. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology*. 1996. 137:3144-3147
4. Beam SW, Butler WR. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J. Dairy Sci.* 1998. 81:121-131.
5. Bennett PA, Wilson C, Lindell K, Carlsson LMS, Carlsson B, Robinson ICAF. 1998. Expression of leptin receptor isoforms is differentially regulated during the estrous cycle. Proc. 80<sup>th</sup> Meeting, Endocrin. Soc. Abs. 1998. P3-247
6. Bond J, Wiltbank JN. Effect of energy and protein on estrus, conception rate, growth and milk production of beef females. *J. Anim. Sci.* 1970. 30:438-44
7. Broster, WH, Broster VJ. Body score of dairy cows. *J. Dairy Res.* 1998. 65:155-173
8. Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*. 1995. 269: 546-549
9. Castillo, J., Ruiz, ZT, Olivera-Angel, M, Jimenez C. Reactivacion ovarica posparto en vacas Cebu Brahman con relacion al peso y la condicion corporal. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 10(1), 12-18
10. Chehab FF, Mounzih K, Lu R, Lim. ME. Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. *Science (Wash., D.C.)*. 1997. 271:994-996
11. Chen G, Koyama K, Lee Y, Zhou Y, O'Doherty R, Newgard CB, Unger RH. Disappearance of body fat in normal rats induced by adenovirus-mediated leptin gene therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996. 93:14795-14799
12. Cheung CC, Thornton JE, Kuijper JL, Weigle DS, Clifton DK, Steiner RA. *Endocrinology*. 1997. 138:855-858
13. Cioffi JA, Shafer AW, Zupancic TJ, Smith-Gbur J, Mikhail A, Platika D, Snodgrass HR. Novel B219/OB receptor isoforms: Possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. *Nat. Med.* 1996. 2: 585-593
14. Conway GS, Jacobs HS. Leptin: a hormone of reproduction. *Hum Reprod.* 1997. 12:633-635
15. Cosidine RV, Sinha M, Heiman M, Kriauciunas A, Stephens T, Nyce M, Ohannesian J, Marco C. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese human. *Engl. J. Med.* 1996. 334: 292-295
16. Cusin I, Sainsbury A, Doyle P, Rohner-Jeanrenaud Jeanrenaud B. The ob gene and insulin. A relationship leading to clues to the understanding of obesity. *Diabetes*. 1995. 44: 1467-1470
17. De Fries CA, Neuendorff DA, Randel RD. Fat supplementation influences reproductive performance in dairy cows. *J. Anim Sci.* 1998. 76:864-870.
18. Dyer CJ, Simmons JM, Matteri RL, Keisler DH. Leptin receptor mRNA is expressed in ewe anterior pituitary and adipose tissues and is differentially expressed in hypothalamic regions of well-fed and feed-restricted ewes. *Domest. Anim. Endocrinol.* 1997 14: 119-128
19. Echevarría L., De La Torre M. Feed supplementation for improving reproductive efficiency of crossbred zebu cattle in the Peruvian tropics. In Development of feed supplementation strategies for improving ruminant productivity on small holder farms in Latin America through the use of immunoassay techniques. IAEA TECDOC 877. 1996. pp 107-111.
20. Foster DL. Puberty in sheep. In Knobil E, Neill JD. (eds.) *The physiology of reproduction.* Vol. 2 Second edition. 1994. 411-452, Raven Press, NY.
21. García-Bojalil CM, Staples CR, Risco CA, Savio JD, Thatcher WW. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: Reproductive responses. *J. Dairy Sci.* 1998. 81:1385-1395.
22. Gaughan JB, Cameron RDA, Dryden GMcL, Young BA. Effect of body composition at selection or reproductive development in large white gilts. *J. Anim Sci.* 1997. 75:1764-1772.
23. González, A, Murphy, BD, de Alba M, J., Manns, JG. Endocrinology of the postpartum period in the Pelibuey ewe. *J. Anim. Sci.* 1987. 64:1717-1724.
24. González RA, Murphy, BD. Effects of GnRH on luteinizing hormone release and onset of cyclic ovarian activity postpartum in Pelibuey ewes. *Can. J. Anim. Sci.*, 1998. 68:359-366.
25. Gregoire FM, Smas CM, Sul HS. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol. Rev.* 1998. 78: 783-809
26. Grummer RR, Carroll DJ. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance in dairy cattle. *J. Anim Sci.* 1991. 69:3838-3852.
27. Hamman A, Matthaei S. Regulation of energy balance by leptin. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 1996. 104: 293-300
28. Hightshoe RB, Cochran RC, Corah LR, Kiracofe GH, Harmon DL, Perry RC. Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows. *J Anim Sci.* 1991. 69: 4097-103

29. Hoggard N, Hunter L, Duncan JS, Williams LM, Trayhurn P, Mercer JG. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997. 94:11073-11078
30. Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL, Spurlock ME. The biology of leptin: A review. *J.Anim.Sci*. 1998. 76: 1405-1420
31. Jenkins PJ, Taylor L, Keay N, Edwards R, Grossman A. Decrease serum leptin levels in female dancers are affected by menstrual status. *Proc. 80<sup>th</sup> Ann. Meet. Endocrin. Soc. Abs*. 1998. P3-51.
32. Kalra WH, Kalra PS. Nutritional infertility- The role of the interconnected hypothalamic neuropeptide Y-Galanin-Opioid network. *Front. Neuroendocrinol*. 1996. 17:371-401
33. Karlsson C, Kajsa L, Svensson E, Bergh C, Lind P, Billig H, Carlsson LMS, Carlsson B. Expression of functional leptin receptors in the human ovary. *J.Clin. Endocrinol. Metab*. 1997. 82: 4144-4148.
34. Kennedy GC. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc. Roy. Soc*. 1953. 140: 578-592
35. Kristensen P, Judge ME, Thim L., Ribel U, Christjansen KN, Wulff BS, Clausen JT, Jensen PB, Madsen OD, Vrang N, Larsen PJ, Hastrup S. Hypothalamic CART is a new anorectic peptidic regulated by leptin. *Nature*. 1998. 393: 72-76
36. Lee G-H, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, Friedman JM. Abnormal splicing of the leptin receptor in *diabetic* mice. *Nature*. 1997.379:732-735.
37. Levin N, Nelson C, Gurney A, Vadlen R, Sauvage FJ. Decreased food intake does not completely account for adiposity reduction after ob protein infusion. *Proc. Natl.Acad. Sci. USA*. 1996. 93: 1726-1730
38. Lucy MC, Staples CR, Michel FM, Thatcher WW. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *J.Dairy Sci*. 1991. 74:473-482
39. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De la Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci*. 1992. 70:3615-3626
40. Marston TT, Lusby KS, Wettemann RP, Purvis HT. Effects of feeding energy or protein supplements before or after calving on performance of spring-calving cows grazing native range. *J. Anim. Sci*. 1995. 73:657-664.
41. Murphy B.D, Ruiz-Cortés ZT, Song JH, Pescador N, Downey BR. Leptin receptor expression in pig granulosa and luteal cells. *Biol. Reprod*. 1998. 58 (Suppl.1):177
42. Osoro K, Wright IA. The effect of body condition, live weight, breed, age, calf performance and calving date on reproductive performance of spring-calving beef cows. *J. Anim. Sci*. 1996. 70:1661-1666.
43. Pescador N, Stocco DM, Murphy BD. Growth factor modulation of steroidogenic acute regulatory protein and luteinization in the pig ovary. *Biol. Reprod. (in press)*. 1998.
44. Ramsay TG, Yan X, Morrison C. The obesity gene in swine: Sequence and expression of porcine leptin. *J. Anim. Sci*. 1998. 76:484-490.
45. Sahu A. 1997 Evidence suggesting that galanin (GAL), melanin-concentrating hormone (MCH), neurotensin (NT), proopiomelanocortin (POMC) and neuropeptide Y (NPY) are targets of leptin signalling in the hypothalamus *Endocrinology*. 1997. 139: 2. 795-798
46. Short RE, Bellows RA, Staigmiller RB, Berardinelli JG, Custer EE. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci*. 1990. 68:799-816
47. Spicer LJ, Francisco CC. The adipose obese gene product, leptin: Evidence of a direct inhibitory role in ovarian function. *Endocrinology*. 1997. 138: 3374-3379
48. Staples CR, Burke JM, Thatcher WW. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance in lactating cows. *J. Dairy Sci*. 1998. 81:856-871.
49. Taouis M, Chen JW, Daviaud C, Dupont J, Derouet M, Simon J. Leptin is expressed in chicken liver. *Proc. 80<sup>th</sup> Meeting, Endocrin Soc. Abs*. 1998 P2-240
50. Yu WH, Kimura M, Walczewska A, Karanth S, McCann SM. Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94L1023-1028.
51. Zachow RJ, Magoffin DA. Direct intraovarian effects of leptin: Impairment of the synergistic action of insulin-like growth factor-I on follicle-stimulating hormone-dependent estradiol 17 $\beta$  production by rat ovarian granulosa cells. *Endocrinology*. 1997. 138: 847-850.
52. Zamorano PL, Mahesh VB, DeSevilla LM, Chorich LP, Bhat GK, Brann DW. Expression and localization of the leptin receptor in endocrine and neuroendocrine tissues of the rat. *Neuroendocrinology*. 1997. 65:223-228
53. Zhang Y, Proenca R, Maffel M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994. 372:425-432.