



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
División de Estudios de Posgrado



01672  
15  
2ej

**EVALUACION DE LAS VIAS VULVAR E INTRAVULVOSUBMUCOSA PARA LA  
ADMINISTRACION DE DOSIS REDUCIDAS DE PGF2 alfa NATURAL  
O SINTETICA.**

**T E S I S**

Que para obtener el grado de:

MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL (*repr. An*)

P r e s e n t a :

**PONCIANO SALAZAR SANCHEZ**

Asesores: MVZ. Ph D. Luis A. Zarco Quintero  
MVZ. Oscar Ortíz González  
MVZ. Víctor Lima Tamayo  
MVZ. Roberto Guzmán García

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1990.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Lista de contenido

	Página
RESUMEN	
I. INTRODUCCION.....	1
II. OBJETIVOS .....	5
III. HIPOTESIS.....	6
IV. JUSTIFICACION....	6
V. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.....	7
5.1 Reconocimiento de la PGF <sub>2</sub> $\alpha$ como agente luteolítico...7	
5.2 Estructura bioquímica de las prostaglandinas.....8	
5.3 Mecanismo de luteólisis.....10	
5.4 Relación utero ovárica.....15	
5.5 Evaluación de la capacidad luteolítica de la PGF <sub>2</sub> $\alpha$ ..18	
5.6 Vías para la administración de PGF <sub>2</sub> $\alpha$ .....20	
5.6.1 Vía intramuscular.....20	
5.6.2 Uso de dosis reducidas por vías alternas.....21	
VI. MATERIAL Y METODOS.....	27
6.1 Animales y localización.....27	
6.2 Diseño experimental.....27	
6.3 Métodos y técnicas.....28	
6.4 Parámetros evaluados.....29	
6.5 Análisis estadístico.....30	
VII. RESULTADOS.....	31
7.1 Experimento 1.....31	
7.2 Experimento 2.....35	
7.3 Cuadros.....40	
7.4 Figuras.....47	
VIII. DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	65
IX. LITERATURA CITADA.....	75

## LISTA DE CUADROS

Página

Cuadro

1. Número y porcentaje de los animales de cada grupo que realmente tenían un cuerpo lúteo funcional ( $P_4 > 1$  ng/ml) al momento de ser tratados con  $PGF_{2\alpha}$  natural (dinoprost).....40
2. Efecto del tratamiento con  $PGF_{2\alpha}$  natural (dinoprost) sobre la inducción de luteólisis.....40
3. Porcentaje de presentación de estros en relación al total de animales tratados con  $PGF_{2\alpha}$  natural por diferentes vías.....41
4. Efecto del tratamiento con  $PGF_{2\alpha}$  natural (dinoprost) sobre la presentación de estros manifiestos en relación a los animales con luteólisis efectiva.....41
5. Concentraciones promedio de progesterona a diferentes intervalos posteriores al tratamiento con  $PGF_{2\alpha}$  natural aplicada por diferentes vías.....42
6. Intervalo entre el tratamiento y la regresión del cuerpo lúteo en animales tratados con  $PGF_{2\alpha}$  natural aplicada por diferentes vías.....42
7. Número y porcentaje de animales de cada grupo que tenían realmente un cuerpo lúteo funcional ( $P_4 > 1$  ng/ml) al

momento de ser tratados con $PGF_{2\alpha}$ sintética (luprostiol).....	43
8. Efecto del tratamiento con $PGF_{2\alpha}$ sintética (luprostiol) sobre la inducción de luteólisis.....	43
9. Porcentaje de presentación de estros en relación al total de animales tratados con $PGF_{2\alpha}$ sintética (luprostiol) aplicada por diferentes vías.....	44
10.Efecto del tratamiento con $PGF_{2\alpha}$ sintética (luprostiol) sobre la presentación de estros manifiestos en relación a los animales con luteólisis efectiva.....	44
11.Concentraciones promedio de progesterona a diferentes intervalos posteriores al tratamiento con $PGF_{2\alpha}$ sintética (luprostiol) aplicada por diferentes vías.....	45
12.Intervalo entre el tratamiento y la regresión del cuerpo lúteo en animales tratados con $PGF_{2\alpha}$ sintética (luprostiol) aplicada por diferentes vías.....	45
13.Concentración de progesterona plasmática en todos los animales al momento del tratamiento en relación a la respuesta al tratamiento.....	46

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura

- 1-2. Niveles de progesterona después del tratamiento con 25 mg de PGF<sub>2</sub>α natural (dinoprost) por vía intramuscular en animales con luteólisis efectiva.....47-48
3. Niveles de progesterona después del tratamiento con 25 mg de PGF<sub>2</sub>α natural (dinoprost) aplicada por vía intramuscular en animales con luteólisis efectiva y en animales que no estaban en diestro al ser inyectados.....49
- 4-5. Niveles de progesterona después del tratamiento con 12.5 mg de PGF<sub>2</sub>α natural (dinoprost) aplicada por vía intravulvosubmucosa en animales con luteólisis efectiva.....50-51
6. Niveles de progesterona después del tratamiento con 12.5 mg de PGF<sub>2</sub>α natural (dinoprost) aplicada por vía intravulvosubmucosa en animales que no estaban en diestro al momento de ser tratados y en animales con luteólisis efectiva.....52
7. Niveles de progesterona después del tratamiento con 12.5 mg de PGF<sub>2</sub>α sintética (luprostiol) aplicada por vía vulvar en animales con luteólisis efectiva.....53
8. Niveles de progesterona después del tratamiento con 12.5 mg de PGF<sub>2</sub>α sintética (luprostiol) aplicada por vía vulvar

en animales con luteólisis efectiva y en animales que no  
estaban en diestro al ser inyectados.....54

9. Niveles de progesterona después del tratamiento con 12.5  
mg de  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprostiol) aplicada por vía vulvar  
en animales en los que no se produjo luteólisis  
efectiva.....55

10-11. Niveles de progesterona después del tratamiento con 15  
mg de  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprostiol) aplicado por vía  
intramuscular en animales con luteólisis efectiva.....56-57

12. Niveles de progesterona después del tratamiento con 15  
mg de  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprostiol) aplicado por vía  
intramuscular en un animal que no presentó luteólisis  
efectiva, con luteólisis efectiva y 2 animales que no  
estaban en diestro.....58

13-14. Niveles de progesterona después del tratamiento con  
3.8 mg de  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprostiol) aplicado por vía  
intravulvosubmucosa en animales con luteólisis  
efectiva.....59-60

15. Niveles de progesterona después del tratamiento con 3.8  
mg de  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprostiol) aplicado por vía  
intravulvosubmucosa en animales que no estaban en diestro y  
en animales que estaban en diestro pero no presentaron  
luteólisis efectiva.....61

16-17. Niveles de progesterona después del tratamiento con 3.8 mg de  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprostiol) aplicado por vía vulvar en animales con luteólisis efectiva.....62-63

18. Niveles de progesterona después del tratamiento con 3.8 mg de  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprostiol) aplicado por vía vulvar en animales sin luteólisis efectiva y en 2 animales que no estaban en diestro al momento de ser inyectados.....64



EVALUACION DE LAS VIAS VULVAR E INTRAVULVOSUBMUCOSA PARA LA ADMINISTRACION DE DOSIS REDUCIDAS DE PGF<sub>2</sub>α NATURAL O SINTETICA.

1. INTRODUCCION

Las prostaglandinas son compuestos ampliamente distribuidos en el organismo animal, en donde ejercen variadas funciones (Strandberg, 1981). En la reproducción animal son de reconocida importancia las de la serie F<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α), porque intervienen en el proceso de regresión del cuerpo lúteo (CL) durante el diestro, indispensable para un nuevo ciclo ovárico (Mc Cracken, 1984).

En la actualidad existen en el mercado la PGF<sub>2</sub>α natural y análogos sintéticos. Los dos tipos de prostaglandina se utilizan rutinariamente en la manipulación del ciclo estral en varias especies especies (Peters, 1984; Buttler et al, 1985; Turner et al, 1987; Córdova y Castro, 1988; Guay et al, 1988; Plata et al, 1989).

En bovinos se utiliza la PGF<sub>2</sub>α entre los días 5-17 del ciclo estral para producir una luteólisis morfológica y funcional del cuerpo lúteo, que resulta 2-4 días más tarde en estro y posterior ovulación. Este calor regularmente es tan fértil como el de ciclo normal (Henricks et al, 1974;

Lauderdale, 1975 ; Louis et al, 1974; Graves et al, 1985; Guay et al, 1988).

La vía de administración tradicionalmente utilizada para la PGF<sub>2</sub>α o sus análogos es la intramuscular (IM). En el caso de la PGF<sub>2</sub>α natural la dosis efectiva por vía intramuscular es de 25 mg (Stellflug et al, 1975 ; Lauderdale, 1975 ; Ginther, 1981; Turner et al, 1987; Berardineli y Adair, 1989). El análogo de la PGF<sub>2</sub>α, luprostiol (Prosolvin), se recomienda en dosis completa de 15 mg (Kiracofe et al, 1984; Plata et al, 1989) y se presenta en vehiculo a base de propilenglicol. Este hecho podría influir en que se absorba en forma lenta desde el sitio de aplicación, prolongando su efecto y retardando su metabolismo (Tomlinson et al, 1985).

Buscando reducir el costo del tratamiento con prostaglandinas se han utilizado vías alternas que permitan la utilización de dosis reducidas. Entre estas vías se encuentran la intravulvo submucosa (ivsm) ( Ono et al, 1982; Chauhan et al, 1986; Horta et al, 1986; Córdova y Fraga, 1987; Córdova y Castro, 1988; Córdova y Villa, 1988; Córdova et al, 1988) y la intravulvar (Guzmán, 1989).

Al usarlos por las vías ivsm o intravulvar, la PGF<sub>2</sub>α natural o sus análogos podrian incrementar su eficacia, ya que por lo menos una porción del fármaco llegaría directamente al cuerpo lúteo al distribuirse desde el sitio de aplicación hacia el flujo sanguíneo y linfático uterino,

y de ahí al ovario vía el sistema de contra-corriente utero-ovárico (Horta et.al., 1986; Chauhan et al, 1986).

Algunos autores han informado sobre la eficacia de los tratamientos con dosis reducidas de  $\text{PGF}_2\alpha$  o sus análogos por vía ivsm. Sus resultados son poco confiables, ya que no realizaron mediciones de progesterona plásmática antes y después de los tratamientos (Córdova y Fraga, 1987; Córdova y Villa, 1988; Córdova et al, 1988).

En otros experimentos (Ono et al, 1982), se midieron las concentraciones de progesterona antes del tratamiento y varios días después del mismo, omitiéndose la determinación periódica de progesterona durante las primeras 48 horas post-tratamiento, período crítico durante el cual se debe completar la luteólisis cuando un tratamiento es efectivo.

Guzmán (1989) aplicó 8 mg de  $\text{PGF}_2\alpha$  natural en cuatro puntos diferentes de la vulva en vacas y vaquillas Holstein. Obtuvo tan solo entre el 42 y 56 % de efectividad en la inducción de la luteólisis normal evaluada a través de perfiles de progesterona. La presentación de estros fue significativamente menor al usar la dosis reducida por vía intravulvar (36-52%) en comparación con la respuesta (88.2%), al usar la dosis intramuscular completa de 25 mg. Esta pobre eficacia de la dosis reducida se manifestó aún cuando la  $\text{PGF}_2\alpha$  se aplicó en el labio vulvar ipsilateral al cuerpo lúteo.

Aunque el estudio de Guzmán (1989) es el más completo hasta la fecha, y en el se encontró que la administración intravulvar de 8 mg de  $\text{PGF}_2\alpha$  natural no es siempre eficaz para producir luteólisis en el bovino, es necesario destacar que en cerca de la mitad de las vacas sí se produjo luteólisis. Esto sugiere que al aumentar ligeramente la dosis de  $\text{PGF}_2\alpha$  natural o al utilizar un análogo sintético de  $\text{PGF}_2\alpha$ , se podrían aumentar los porcentajes de luteólisis eficaz. De la misma manera, Guzmán no evaluó la vía intravulvosubmucosa y no se descarta que la efectividad de la aplicación intravulvar sea diferente a la de la aplicación intravulvosubmucosa.

## 2. OBJETIVOS.

2.1 - Comparar la eficacia de la dosis completa (25 mg) de  $\text{PGF}_2\alpha$  natural aplicada intramuscularmente con la obtenida al aplicar una dosis reducida de 12.5 mg por vía intravulvar o por vía ivsm, ipsilateral al cuerpo lúteo.

2.2 - Comparar la eficacia de la dosis completa de luprostiol (15 mg) aplicada intramuscularmente con la obtenida al aplicar una dosis reducida de 3.8 mg por vía intravulvar o por vía ivsm, ipsilateral al cuerpo lúteo.

### 3. HIPOTESIS.

3.1 - Las dosis de 12.5 mg de prostaglandina F<sub>2α</sub> natural administradas por vía ivsm o intravulvar, ipsilateral al cuerpo lúteo, son tan eficaces como la dosis de 25 mg por vía intramuscular.

3.2 - Las dosis de 3.8 mg de luprostiol administradas por vía intravulvar o ivsm, ipsilateral al cuerpo lúteo, son tan eficaces como la dosis de 15 mg por vía intramuscular

Con ninguno de los dos productos existen diferencias entre la vía ivsm y vulvar para sincronizar estro en ganado bovino.

### 4. JUSTIFICACION

En la actualidad no existe un trabajo que compare el efecto de PGF<sub>2α</sub> y un análogo a dosis similares (completas y reducidas), por diferentes vías de aplicación y complementado con mediciones de progesterona plasmática a intervalos regulares.

## 5. REVISION DE LA LITERATURA.

### 5.1 Reconocimiento de la PGF<sub>2</sub> $\alpha$ como agente luteolítico.

Las propiedades luteolíticas de la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  se han comprobado en diferentes especies domesticas. Babcock (1966) fue el primero que sugirió que una prostaglandina podría ser el agente luteolítico uterino en bovinos. Después, Pharris y Wyndegarden (1969) la administraron a ratas y causaron un acortamiento en la pseudopreñez. McCracken et al (1972) infundieron durante 3-6 horas pequeñas cantidades de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  en la arteria ovárica del ovario que portaba el cuerpo lúteo, con lo que indujeron regresión lútea en ovejas. Ellos también determinaron que la concentración de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  en la vena uterina se incrementa de 10 a 20 veces durante la etapa de regresión del cuerpo lúteo

En el ganado bovino la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  es un agente luteolítico cuando se administra por vía uterina (Louis et al, 1972) (Rowson et al, 1972) o por vía subcutanea o intramuscular (Lauderdale et al, 1972) . Varios reportes más sugieren que la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  es el agente inductor de luteólisis en la oveja y vaca, afectando el cuerpo lúteo y por tanto la producción de progesterona (Mc Cracken,1972; Thorburn y Nicol, 1972; Wilson et al, 1972; Lamond et al, 1974; Ginther,1974; Land,1974; Walpole,1975; Weston y Hixon, 1980; Farclough et al, 1981; Ginther,1981). Además, Kindhal et al, (1976) observaron que la liberación intermitente de grandes

cantidades de  $\text{PGF}_2\alpha$  se acompañaba de un decremento de progesterona previo al estro, que probablemente esta  $\text{PGF}_2\alpha$  es liberada por el útero, y al parecer se necesita de un período prolongado para completar la luteólisis.

## 5.2 Estructura bioquímica de las prostaglandinas.

Desde los años 30s se descubrieron las prostaglandinas en extractos de semen humano y fluido seminal de borrego y se determinaron sus efectos sobre el músculo liso y la presión sanguínea (Kurzrok y Lieb, 1930). Inskeep (1973) y Kindahl et al (1980) citan a Von Euler como el primero que llamó "prostaglandinas" a estos compuestos, por haber sido localizados en la próstata. Sin embargo, estos compuestos se encuentran distribuidas en muchos tejidos, cumpliendo variadas funciones (Strandberg, 1981).

Todas las prostaglandinas están relacionadas estructuralmente y son ácidos monocarboxílicos de 20 átomos de carbón. Contienen un anillo pentano con 2 cadenas adyacentes y pueden ser considerados como derivados del ácido araquidónico (Hansel et al, 1976; Kindahl et al, 1980). Las prostaglandinas se clasifican en varias series, designadas por letras y distinguidas por un patrón de sustitución en el anillo pentano. Los numerales indican el número de dobles ligaduras en las cadenas laterales. La "estereoquímica" se representa con una línea discontinua, indicando que el grupo hidroxilo está abajo (alfa), o una



línea continua cuando está arriba (beta) del plano del anillo. Las prostaglandinas naturales tienen una doble ligadura entre los carbonos 13 y 14 y un grupo hidroxilo en el carbono 15. La  $\text{PGF}_2\alpha$  se caracteriza porque tiene 2 grupos hidroxilos, uno en el carbono 9 y otro en el 11. Esta hormona es soluble en alcohol, sal de trometamina y en agua (Walpole, 1975).

En los organismos animales, las prostaglandinas se sintetizan a partir del ácido linoleico, convirtiéndolo en el ácido araquidónico (un ácido graso no saturado). El ácido araquidónico puede ser almacenado en los tejidos como fosfolípido de la membrana celular. En la transformación del ácido araquidónico a prostaglandinas interviene un sistema enzimático en el que la enzima reguladora es la ciclooxigenasa, o sintetasa de prostaglandinas (Kindahl et al, 1980; Basu y Kindahl, 1987).

Las prostaglandinas no son almacenadas en los tejidos que las producen sino que son liberadas a la circulación conforme son sintetizadas (Stabenfeldt et al, 1980). La degradación abarca la deshidrogenación del carbono 15, la reducción de la doble ligadura entre los carbonos 13 y 14, una doble beta oxidación de la parte superior de la cadena, que así pierde 4 átomos de carbono, y oxidación del grupo terminal metilo del carbono 20 a carboxilo (Walpole, 1975). Los primeros 2 pasos suceden muy rápido y ocurren

principalmente en los pulmones. Los 2 últimos pasos son también rápidos y se llevan a cabo en el hígado, donde se produce el producto final que será eliminado por excreción urinaria (Bourne, 1981; Tomlinson et al, 1985). Así, el 90% de las  $PGF_2\alpha$  son metabolizadas con un paso por el lecho vascular pulmonar (Piper et al, 1970; McCracken, 1972; Kindahl et al, 1981; Strandberger, 1981).

La principal enzima responsable de la degradación pulmonar es la 15-hidroxi prostaglandín-deshidrogenasa. Debido al alto grado de inactivación al pasar por la circulación pulmonar, las  $PGF_2\alpha$  ejercen su función solamente en las proximidades del lugar donde son producidas, por lo que son consideradas hormonas locales (Walpole, 1975; Strandberg, 1981).

Se han desarrollado análogos de  $PGF_2\alpha$  buscando el incremento de su persistencia en el organismo, aumentando así su potencia. Esto se ha logrado bloqueando los dos primeros pasos de la degradación. Otro efecto deseado es la reducción de la actividad estimulante del músculo liso, sin disminuir su potencia.

### 5.3 Mecanismo de luteólisis.

El cuerpo lúteo juega un papel importante en el control de la duración del ciclo estral y de la ovulación en especies domésticas porque su producto principal, la progesterona, inhibe la onda ovulatoria de LH (Inskeep, 1973).

El cuerpo lúteo está compuesto por 2 tipos de células esteroidogénicas distintas que contribuyen a la secreción de progesterona. Las células pequeñas producen progesterona por estímulo de LH y las grandes lo hacen espontáneamente y en grandes cantidades (Silvia et al, 1988).

Las células lúteas grandes descargan progesterona en forma pulsátil a intervalos de 2-6 horas, independientemente de cualquier pico detectado de LH, por lo que se cree que esta hormona no controla directamente a las células lúteas grandes, sugiriendo que el control de esta oscilación en la secreción de progesterona pudiera ser a través de la  $PGF_2\alpha$ , PGFE, prostaciclina, o de la regulación local del flujo en los capilares del cuerpo lúteo (McCracken, 1984). Estos cambios de flujo tendrían la característica de ser de corta duración y muy localizados (Hixon et al, 1983).

En la fase temprana del ciclo (día 4) hay muy pocas células lúteas grandes, y se incrementa marcadamente su número conforme avanza el ciclo. Estas células secretan hasta 20 veces más progesterona que las pequeñas (McCracken, 1984), mientras que las células pequeñas se encuentran en mayor proporción desde el inicio del ciclo y su incremento en número no es tan marcado. Estas pueden ser estimuladas por la LH, haciendo que su tasa de secreción sea 10 veces mayor, y casi no poseen receptores para  $PGF_2\alpha$ . Al contrario las células grandes no poseen receptores para LH, por lo que no pueden ser estimuladas por esta hormona, pero

si tienen gran cantidad de receptores para  $\text{PGF}_2\alpha$  (Fitz et al., 1982). Esto explicaría en parte la refractoriedad del cuerpo lúteo a las  $\text{PGF}_2\alpha$  en la etapa temprana del ciclo (Rao et al., 1979).

Fitz et al., (1982) trabajando con células lúteas "in vitro", observaron que la mayor cantidad de progesterona provenía de las células grandes, pero que en presencia de LH, la población de células pequeñas podía colectivamente producir más progesterona total que la liberada por las células grandes.

Para la síntesis y liberación de  $\text{PGF}_2\alpha$  por el endometrio, es necesario un período de exposición previo a la progesterona y a los estrógenos (Ford et al., 1975; Bartol et al., 1981; Kindahl et al., 1981). Asimismo, Peter et al., (1989) afirman que la luteólisis en la vaca depende de una interacción entre  $\text{PGF}_2\alpha$  y oxitocina, pues observó que la oxitocina sérica se incrementa a valores pico durante los ciclos inducidos o normales y siempre concomitantemente con  $\text{PGFM}$  (metabolito de  $\text{PGF}_2\alpha$ ) y los niveles de ambas decrecen al mismo tiempo.

Durante la fase lútea, la progesterona inhibe la acción de los estrógenos, bloqueando la acumulación nuclear de sus receptores, pero al mismo tiempo mejora la habilidad de los estrógenos para mantener la síntesis de receptores para oxitocina. La producción de  $\text{PGF}_2\alpha$  por el endometrio es

detenida por la progesterona. Sin embargo, en unos 10 días pierde su influencia, debido probablemente a la pérdida de sus propios receptores, y por eso los estrógenos son capaces nuevamente de sintetizar receptores para oxitocina en un lapso de 6 horas. A su vez, la oxitocina al unirse a sus receptores, induce la secreción de  $\text{PGF}_2\alpha$ . Sin embargo, esta vez la respuesta a la oxitocina es 100 veces mayor que antes de la influencia de la progesterona, tal vez debido a que en ese lapso se acumularon ácidos grasos precursores de  $\text{PGF}_2\alpha$  en el endometrio y esto provoca una descarga masiva de  $\text{PGF}_2\alpha$  (Roberts et al, 1976; McCracken, 1984).

Al mismo tiempo que se produce  $\text{PGF}_2\alpha$  en el endometrio, más oxitocina puede ser liberada en forma pulsátil desde el hipotálamo, ya que se han observado picos de neurofisina I y II (proteína transportadora de oxitocina desde el cerebro) al mismo tiempo que los picos de oxitocina (McCracken, 1981). La oxitocina liberada después de la aplicación exógena de  $\text{PGF}_2\alpha$  refuerza la síntesis de  $\text{PGF}_2\alpha$  en el útero. Esta oxitocina es más de origen ovárico que neural (McCracken, 1984). Adicionalmente, como la oxitocina regula sus receptores con el sistema de regulación hacia abajo ("down regulation"), sobrevendrán episodios de liberación de  $\text{PGF}_2\alpha$  de 6 horas de intervalo, tiempo requerido para que la oxitocina recupere sus receptores (McCracken, 1984; Zarco et al, 1988).

La  $PGF_{2\alpha}$  afecta la función de la LH a través de la inhibición de su habilidad para estimular la adenil-ciclase de las células pequeñas. Bajo el influjo de la  $PGF_{2\alpha}$ , las células grandes secretan algún factor citotóxico que bloquea la interacción LH-receptores de LH-adenil-ciclase o inhibe el flujo de iones  $Ca^{++}$  y por tanto, la reducción de la acumulación del AMPc. Este factor citotóxico se acumula hasta un nivel crítico antes de que pueda ejercer su efecto (Silvia et al, 1984). El efecto luteolítico de la  $PGF_{2\alpha}$  resulta entonces de la unión de la  $PGF_{2\alpha}$  con sus receptores, bloqueando la síntesis de AMPc e interrumpiendo la producción de adenil-ciclase por la LH, lo que provoca la caída de progesterona. También se excluye la competencia directa con los receptores para LH (Wakeling et al, 1981). Pang y Behrman, (1981) dicen que como la LH es requerida para producir progesterona, es probable que la  $PGF_{2\alpha}$  bloquee el consumo de LH por las células lúteas pero independientemente del flujo sanguíneo y que éste más bien es consecuencia de la reducida función lútea. También sugieren que este bloqueo es a través de la restricción al acceso de esas células por las gonadotropinas, mediante un decremento de la permeabilidad capilar o el bloqueo de su difusión intersticial.

Un cambio que se asocia con la luteólisis, sea ésta natural o inducida, es la reducción en la fluidez de la membrana plasmática. En ratas, Buhr et al, (1979) observaron

que el mecanismo de regresión lútea puede involucrar la alteración física de los componentes lípidos de uno o más de los sistemas de la membrana celular, que llevan a la pérdida de función del tejido. Señalan que antes de la regresión las membranas microsomales son líquido-cristalinas y durante la luteólisis aparece una fase líquido-gel que se mezcla con la fase líquida. La fase gel está relacionada con el deterioro de la membrana porque estas áreas están exentas de actividad enzimática, ya que la proteína fue desplazada a zonas más fluidas, además de que la fase gel disminuye la capacidad de síntesis del retículo endoplásmico; al mismo tiempo que se incrementa la permeabilidad de los iones  $\text{Ca}^{++}$  esenciales. Todo esto lleva en su conjunto al rompimiento de los compartimientos intracelulares y rápida pérdida de función del tejido.

La  $\text{PGF}_2\alpha$  producida en el endometrio durante la luteólisis espontánea se libera en forma de pulsos. Thorburn y Nicol, (1972) encontraron una serie de picos en la concentración de  $\text{PGF}_2\alpha$  entre los días 13-17 del ciclo estral de ovejas; estos picos eran de poca duración y se incrementaron conforme avanzó el estro. La sucesión de eventos después de iniciada la luteólisis es constante y el tiempo en que ocurra el primer pulso de  $\text{PGF}_2\alpha$  y el intervalo de éste con la regresión es de mucha importancia (Zarco et al, 1988)

#### 5.4 Relación utero-ovárica.

En el bovino, ovino, caprino y porcino se conoce un mecanismo local utero-ovárico para la transferencia de la  $PGF_{2\alpha}$ . Este mecanismo permite que la  $PGF_{2\alpha}$  producida en el útero llegue al cuerpo lúteo sin haber pasado por la circulación general, evitando por lo tanto la degradación pulmonar (Wilson, 1972; Land, 1976).

En los animales que poseen este sistema local de transferencia, la arteria ovárica (AO) está en estrecha aposición a la pared de la vena útero-ovárica (VUO), y el área de contacto se incrementa por la tortuosidad de la AO.

La  $PGF_{2\alpha}$  es una hormona liposoluble que tiene la capacidad de atravesar membranas celulares, incluyendo la pared de los vasos sanguíneos, por lo que se difunde de la VUO a la AO, la cual la transporta al ovario y al cuerpo lúteo. La pared de estos vasos está en estrecha aposición, de tal manera que el tejido conectivo de la adventicia forma un solo estrato, tan fino, que es difícil distinguir la demarcación entre ellos. Esto favorece el paso directo no solo de  $PGF_{2\alpha}$ , sino también de otros productos como progesterona y estrógenos (Ginther y Del campo, 1974; Einer-Jensen et al, 1981; Ginther, 1981).

Durante la regresión del cuerpo lúteo la concentración de  $PGF_{2\alpha}$  en la arteria ovárica es mayor que la concentración en la sangre aórtica (Land et al, 1976).



Se ha calculado que solamente entre el 0.1 y el 2% de la  $\text{PGF}_2\alpha$  presente en la VUO se difunde hasta la AO (Einer-Jensen et al, 1981; McCracken, 1984; Wolfenson et al, 1985). La transferencia de  $\text{PGF}_2\alpha$  no es un proceso lineal, sino logarítmico, es decir, progresivos incrementos en la concentración de  $\text{PGF}_2\alpha$  en la VUO son seguidos por pequeños cambios en la AO, llevando a tasas pequeñas de transferencia (Land et al, 1976).

También es de importancia para la transferencia de  $\text{PGF}_2\alpha$ , además de el sistema local de transferencia de la VUO-AO, el contacto entre las redes de vénulas colaterales que contienen sangre venosa uterina y que a través de una anastomosis drenan hacia la AO (Ginther, 1974; Ginther, 1981). Alwachi et al, (1981) sugieren una ruta adicional para que la  $\text{PGF}_2\alpha$  alcance el ovario, y es a través del pasaje venoso del oviducto, que está involucrado en el plexo vascular del pedículo-ovárico. También Heap et al, (1985) consideran que en el mecanismo de transferencia de  $\text{PGF}_2\alpha$  desde el útero al ovario adyacente toman parte importante los vasos linfáticos uterinos, ya que la  $\text{PGF}_2\alpha$  es un constituyente normal de la linfa. Incluso señalan que la cantidad total de  $\text{PGF}_2\alpha$  transferida por los múltiples vasos linfáticos, podría superar a la transferida mediante el sistema VUO-AO. Esta transferencia se realizaría en 2 etapas, primero llevando  $\text{PGF}_2\alpha$  al lecho venoso utero-ovárico, y segundo directamente de los vasos linfáticos

uterinos al ovario adyacente. A través de ésta variante, al cabo de una hora ya hay PGF<sub>2</sub>α en el cuerpo lúteo.

Aunque los resultados de algunos trabajos con dosis reducida de PGF<sub>2</sub>α por vía intravulvosubmucosa sugieren que la hormona aplicada en éste sitio sigue una vía local para llegar al ovario (Horta et al, 1986; Chauhan et al, 1986), no se ha documentado anatómicamente la existencia de dicha vía.

#### 5.5 EVALUACION DE LA CAPACIDAD LUTEOLITICA DE LA PGF<sub>2</sub>α.

Al evaluar la efectividad luteolítica de una cierta dosis de PGF<sub>2</sub>α, o de una vía de administración, es necesario tomar en cuenta que el efecto directo de esta hormona es inducir la regresión del cuerpo lúteo (Adeyemo, 1980; Bartol, 1981; Behrman et al, 1976; Shultz, 1980)). La presentación de estros es un efecto indirecto que no evalúa directamente la efectividad de las prostaglandinas, ya que existen muchas razones por las que una vaca puede no ser observada en estro a pesar de haber tenido una luteólisis normal. Así, se ha demostrado que un porcentaje relativamente elevado de las vacas que no muestran estro después de la aplicación de PGF<sub>2</sub>α habían sido mal seleccionadas ya que no poseían un cuerpo lúteo funcional al momento de ser inyectadas (Dawson et al, 1975; Plunkett et al, 1984). Además, un porcentaje importante de las vacas que responden con luteólisis al tratamiento con PGF<sub>2</sub>α no son observadas en estro debido a

una ineficiente detección de calores (Martínez et al, 1987). Otros animales no sufren luteólisis por haber sido inyectados en el día 5 ó 6 del ciclo estral, cuando el cuerpo lúteo es refractario a la  $\text{PGF}_2\alpha$  por no tener aún receptores para ésta hormona (Bartol et al, 1981; Rao et al, 1979; Wakeling et al, 1981). De la misma manera, un cierto porcentaje de vacas pueden aparentar estar en estro a pesar de tener aún un cuerpo lúteo funcional, lo que elimina la posibilidad de que realmente estén en estro (Orihuela, 1985).

Esto puede deberse en algunos casos a desconocimiento de los signos de estro, por lo que la detección de estros es imprecisa (Martínez et al, (1987). En otros casos, algunas vacas que no están en estro, pueden presentar un comportamiento de imitación (alelomimético) al estar en presencia de otras vacas que sí están en estro (Orihuela, 1985).

Por éstas razones, la detección de estros no es un método confiable para evaluar la capacidad luteolítica de un cierto régimen de administración de  $\text{PGF}_2\alpha$ , por lo que se debe recurrir a la determinación de progesterona plasmática para evaluar el efecto directo de  $\text{PGF}_2\alpha$ , que consiste en causar la regresión funcional del cuerpo lúteo.

Las concentraciones de progesterona plasmática antes del tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  deben ser superiores a 1 ng/ml en

animales con cuerpo lúteo funcional. Cuando la hormona induce una luteólisis efectiva los niveles de progesterona descienden a menos de un ng/ml durante las 48 horas posteriores al tratamiento (Bond et al, 1980; Peters, 1984; Guay et al, 1988; Rajamahendran et al, 1989; Guzmán, 1989; Plata et al, 1989).

Estas determinaciones de progesterona se deben realizar antes del tratamiento para determinar si los animales efectivamente tienen un cuerpo lúteo funcional, y a intervalos regulares (cada 12 ó 24 horas) durante las 72 horas siguientes a la administración de la hormona (Guzmán, 1989). Con éstos muestreos periódicos es posible detectar alteraciones en el patrón luteolítico normal.

Así, en algunos casos puede ocurrir que al tratar con  $PGF_2\alpha$  a un animal solo se logre una luteólisis parcial, tal vez debido a una una pobre absorción, o a la utilización de una dosis subóptima. Esto se manifiesta como una caída inicial de progesterona plasmática, con posterior recuperación progresiva hasta alcanzar valores similares a los observados antes de la inyección de  $PGF_2\alpha$  (Henricks et al, 1974; Peters, 1984; Gallegos et al, 1988; Guzmán, 1989).

## 5.6 VIAS PARA LA ADMINISTRACION DE $PGF_2\alpha$ .

### 5.6.1 VIA INTRAMUSCULAR

Se han utilizado varias vías para la administración de  $\text{PGF}_2\alpha$  en hembras bovinas. La vía intramuscular es la de uso más frecuente por ser fácil, rápida, y causa pocos trastornos indeseables. Diferentes autores han establecido que la dosis luteolítica efectiva de  $\text{PGF}_2\alpha$  natural, va desde 20 hasta 60 mg (Louis et al, 1974; Hafs et al, 1975; Stellflug, 1975; Berardineli y Adair, 1989). Con ésta dosis se obtiene una respuesta favorable en cualquier etapa de la fase lútea. Otros trabajos han puntualizado que la dosis óptima es de 25 mg (Nkuuhe y Manns, 1985; Etherington et al, 1986; Turner et al, 1987).

Gallegos et al, (1988) redujeron la dosis intramuscular de 25 a 17.5 mg sin que cambiara la respuesta del animal. Al reducir aún más la dosis a 10 mg causó solo luteólisis parcial, o si ésta ocurrió, fue en animales con cuerpo lúteo pequeño.

En el caso del análogo sintético luprostiol, Kiracofe et al, (1984) utilizaron diferentes dosis (0, 3.75, 7.5, 15 y 30 mg) im, encontrando que la mejor respuesta se produjo con 15 y 30 mg, no habiendo diferencia entre éstas dos. Las dosis de 3.75 y 7.5 mg resultaron en menor cantidad de vaquillas en calor, encontrándose a través de la medición de la progesterona sérica que hubo más fallas en producir regresión del cuerpo lúteo, asimismo hubo más animales sin conducta de estro aunque se produjera la regresión.

Plata et al, (1989) compararon esas mismas dosis de luproliol y observaron que la dosis mínima, sin llegar a equipararse en efectividad con la completa (15 mg) fue de 7.5 mg. En cambio, 3.8 mg no fueron suficientemente efectivos para sincronizar estros.

#### 5.6.2 USO DE DOSIS REDUCIDAS POR VIAS ALTERNAS.

Las  $PGF_{2\alpha}$  y sus análogos han sido probados por otras vías además de la im con el fin de disminuir la cantidad de producto a utilizar y abatir así el costo del tratamiento. Tervit et al, (1973) usó un análogo de  $PGF_{2\alpha}$  (ici 79939) comparándolo por vía intrauterina (iu) o im, encontrando que la respuesta de estro fue muy similar para ambos tratamientos. El uso de la vía intrauterina permite disminuir en 5-20 veces la cantidad de producto. Ginther (1981), estimó que la dosis mínima luteolítica de  $PGF_{2\alpha}$  es aproximadamente 20 veces mayor cuando se aplica im que cuando se infunde en el útero, donde 1 mg aplicado en el cuerno uterino ipsilateral al cuerpo lúteo es suficiente para producir luteólisis efectiva. Louis et al, (1974) probaron 5 mg de  $PGF_{2\alpha}$  iu, obteniendo luteólisis. Sin embargo, ellos indican que la aplicación iu no es práctica en condiciones de campo. También Henricks et al, (1974) infundieron 2 mg iu y el estro se presentó en 2-5 días pos-tratamiento, sin embargo obtuvieron una fertilidad baja debido al desarrollo de infecciones uterinas. Debido a la alta incidencia de infecciones uterinas se ha abandonado el

uso intrauterino de  $\text{PGF}_2\alpha$  a pesar de ser efectivo para inducir luteólisis utilizando dosis reducida.

Otra vía que se ha probado es la intravaginal, depositando el producto en el fórnix de la vagina. Los resultados han sido muy variables y tiene la desventaja de requerir la misma dosis que se utiliza intramuscularmente (Louis et al, 1974; Betteridge et al, 1977).

Otras dos vías menos utilizadas son la intravenosa y la subcutanea. Moore (1975) aplicó 4 mg de  $\text{PGF}_2\alpha$  intravenosa y logró sincronizar el 65% de los estros en 6 días, observando que era tan efectiva como la vía intramuscular, requiriendo una dosis 4-5 veces menor. Sin embargo, también resultó en una depresión de la fertilidad. La vía subcutanea se ha utilizado para un análogo de la  $\text{PGF}_2\alpha$ , el tiaprost, cuyo vehículo, el propilenglicol, retarda su absorción y mejora su efecto. La dosis requerida por vía subcutanea es similar a la requerida por vía intramuscular (Herschler et al, 1986; Peters, 1984; Soto y Gortari, 1986).

Recientemente, la vía intravulvosubmucosa (ivsm) ha sido probada por varios autores pensando en el aprovechamiento de el sistema de transferencia local útero-ovárico, aunque en la actualidad no se ha comprobado que exista una relación directa entre el drenaje vascular y linfático del área vulvo-vaginal y el del área útero-ovárica. Horta et al, (1986) mencionan que no se conoce como la prostaglandina

administrada por vía ivsm alcanza el ovario, pero se supone que llega al cuerpo lúteo sin entrar en la circulación sistémica, evitando así el metabolismo asociado. Córdova y Villa (1988) en 2 trabajos seriados, usaron dosis reducidas de luprostiol en vaquillas, aplicados por vía ivsm. En uno de ellos, usaron 1.5 y .75 mg (1/10 y 1/20 de la dosis completa) aplicados ipsilateral o contralateral al cuerpo lúteo, logrando 100% de efectividad para producir calores (observados y a la palpación rectal), indistintamente del sitio de aplicación, ipsi o contralateral al cuerpo lúteo; señalando que cuando el tratamiento se aplica ipsilateral al cuerpo lúteo se logran mayores porcentajes de calores manifiestos que cuando se aplica contralateral al cuerpo lúteo a la misma dosis. En el otro trabajo utilizaron dosis decrecientes desde 7.5 mg hasta 1.5 mg, ipsilateral al cuerpo lúteo, y lograron 100% de efectividad para producir calores (observados y a la palpación rectal) con dosis  $\geq$  3.75 mg y concluyeron además que todas las dosis reducidas usadas en éste trabajo son iguales de efectivas para sincronizar calores por vía ivsm.

También, Córdova y Fraga (1987) señalan que no existe diferencia en la respuesta luteolítica de animales tratados con 25 mg de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  por vía intramuscular, comparada con la de los animales tratados con 8 mg por vía ivsm. Los resultados de estos tres trabajos son poco confiables ya que no se realizaron mediciones de progesterona plasmática para



corroborar la fase del ciclo estral en que se encontraban los animales, ni para determinar si efectivamente se había producido luteólisis.

En contraste, Guzmán (1989), al aplicar la misma dosis que Córdova y Fraga (1987) por vía intravulvar en cuatro sitios diferentes de la vulva en vacas y vaquillas, encontró que el porcentaje de animales con luteólisis efectiva, evaluada mediante mediciones seriadas de progesterona, es significativamente mayor cuando se usa la dosis completa por vía intramuscular comparada con la dosis reducida intravulvar. Los animales tratados por vía intramuscular presentaron un patrón constante en el decremento de progesterona a menos de 1 ng/ml durante las primeras 48 horas pos-tratamiento, mientras que en los animales donde se usó la vía intravulvar, las curvas de progesterona después del tratamiento indican una respuesta muy variable, desde animales en los que la luteólisis fue normal, hasta otros con luteólisis retrasada, luteólisis parcial, o ausencia completa de luteólisis. Guzmán (1989) señala además que la respuesta es tan efectiva cuando la  $PGF_2\alpha$  se aplica en el labio vulvar ipsilateral al cuerpo lúteo como cuando se aplica en el contralateral, y que tal vez esto sea debido a que el producto alcance al ovario y al cuerpo lúteo por vía sistémica y no a través de una vía local de transferencia utero-ovárica.

Gallegos et al, (1988) encontraron que cuando la dosis intramuscular de  $PGF_2\alpha$  se reduce de 25 a 17 mg. no cambia la respuesta luteolítica del animal, mientras que 10 mg solo causan luteólisis parcial, o el proceso de luteólisis ocurre después de 48 horas.

Alberio et al, (1985) y Buttler et al, (1985) evaluando con mediciones periódicas de progesterona la respuesta luteolítica en vacas y vaquillas encontraron que la dosis mínima efectiva de cloprostenol administrada por vía intravulvosubmucosa, es la mitad de la dosis completa, sea aplicada por vía intramuscular o ivsm. Además afirman que no tiene importancia si la aplicación del tratamiento se hizo ipsilateral o contralateral al cuerpo lúteo y que las vaquillas responden mejor al tratamiento que las vacas.

También, Kiracofe et al, (1988) aplicaron dosis reducidas de luprostiol de 3.75, 7.5, 15 y 30 mg por vía intramuscular para inducir luteólisis en vaquillas, acompañándolas con un monitoreo de la caída de progesterona plasmática a niveles menores de 1 ng/ml, logrando 80, 90, 100 y 100% de efectividad en el tratamiento.

Después, Plata et al, (1989) usaron las mismas dosis de luprostiol y la misma vía de aplicación en vacas y reportaron que las dosis  $\geq 7.5$  mg son efectivos para producir regresión lútea, y que la dosis de 3.8 mg solo logró 45% de efectividad para inducir estro, comparados con

mediciones plasmáticas de progesterona. Asimismo, mencionan que con la dosis más alta, obtuvieron el 95% de luteólisis efectiva.

## 6 MATERIAL Y METODOS

### 6.1 Animales y localización

El presente trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Recría, fase de desarrollo II, del "Complejo Agroindustrial de Tizayuca", Edo. de Hgo.

Se seleccionaron 120 vaquillas de la raza Holstein, con una edad mínima de 14 meses y un peso mínimo de 330 kgs. y que presentaron un cuerpo lúteo a la palpación rectal. Estas vaquillas se dividieron para ser utilizadas en dos experimentos.

### 6.2 Diseño experimental.

Experimento I. Se utilizaron 60 vaquillas que fueron divididas al azar en 3 grupos:

Grupo I (DP IM) fue tratado con 25 mg de dinoprost por vía intramuscular, sirviendo éste grupo de testigo para los grupos con dosis reducida de dinoprost (n=20).

Grupo II (DP IVSM) fue tratado con 12.5 mg de dinoprost por vía intravulvosubmucosa, aplicada en el lado ipsilateral al cuerpo lúteo (n=20).

Grupo III (DP IV) fue tratado con 12.5 mg de dinoprost aplicado por vía intravulvar. La aplicación se realizó en el lado ipsilateral al cuerpo lúteo (n=20).

Experimento II. Se utilizaron 60 vaquillas distribuidas al azar en 3 grupos:

Grupo I (LP IM) fue tratado con 15 mg de luprostiol por vía intramuscular, sirviendo éste grupo de testigo para los grupos con dosis reducida de luprostiol (n=20).

Grupo II (LP IVSM) fue tratado con 3.8 mg de luprostiol por vía intravulvosubmucosa, aplicada en el lado ipsilateral al cuerpo lúteo (n=20).

Grupo III (LP IV) fue tratado con 3.8 mg de luprostiol aplicados por vía intravulvar, de acuerdo con lo descrito por Guzmán (1989). La aplicación se realizó en el lado ipsilateral al cuerpo lúteo (n=20).

### 6.3 Métodos y Técnicas.

En ambos experimentos la aplicación intravulvosubmucosa y vulvar se hicieron previa limpieza del área con una toalla desechable. Para la aplicación del dinoprost se usó una aguja calibre 22x32 y para el luprostiol una de 27x13 mm.

Se tomaron muestras de sangre de todos los animales inmediatamente antes del tratamiento y a las 12, 24, 48 y 72 horas posteriores, para determinar las concentraciones de progesterona plasmática. Las muestras se obtuvieron de la vena yugular en tubos de 10 ml de capacidad, adicionados con

0.1 g de fluoruro de sodio como anticoagulante (Pulido, 1989). El muestreo se suspendió cuando el animal fue detectado en calor.

La observación de calores se llevó a cabo en forma continua durante las 24 horas del día por personal especializado (Martínez et al, 1987). Los animales que a las 72 horas pos-tratamiento no fueron detectados en calor se palparon nuevamente y se determinó su estado reproductivo continuando bajo observación hasta cumplir 120 horas.

Se inseminaron solo los animales que fueron observados en calor y/o que a la palpación realizada a las 72 horas pos-tratamiento presentaron turgencia uterina, moco cervical y desarrollo folicular (Roche, 1976; Ortiz et al, 1986; Córdova et al, 1987). La inseminación se realizó dentro de las 12 horas posteriores a la detección del estro.

La determinación de progesterona se hizo mediante reactivos RIA de progesterona en fase sólida (Srikandakumer, 1986) aportados por la FAO y la Agencia Internacional de la Energía Atómica.

6.4 Parámetros que se evaluaron en cada grupo experimental.

1. Porcentaje de animales con niveles de progesterona mayores de 1 ng/ml antes del tratamiento.

2. Animales con luteólisis efectiva, manifestada por la reducción en los niveles de progesterona a menos de 1 ng/ml dentro de las 48 horas posteriores al tratamiento y que permanecieron así hasta hasta terminar los muestreos.

3. Porcentaje de presentación de estros manifiestos en relación al total de animales tratados.

4. Porcentaje de presentación de estros manifiestos en animales que tuvieron luteólisis

5. Niveles promedio de progesterona plasmática a las 0, 12, 24, 48 y 72 horas en animales con luteólisis.

6. Intervalo entre el tratamiento y la regresión del cuerpo lúteo.

7. Concentración promedio de progesterona plasmática al inicio del tratamiento en animales con respuesta luteolítica y sin ella.

8. Intervalo entre el tratamiento y el inicio del estro.

#### 6.5 Análisis estadístico.

Para los parámetros de los incisos 1, 2, 3, 4 y 8 se realizó la prueba de chi-cuadrada. Los parámetros de los incisos 5, 6 y 7 se evaluaron mediante análisis de varianza de dos factores, los cuales fueron la hormona utilizada (dinoprost o luprostiol) y la vía de administración (IM, IV

o IVSM). Se realizó la prueba de Duncan para comparaciones múltiples de medias.



## 7.RESULTADOS

### EXPERIMENTO 1

Un animal que fue tratado con dinoprost por via intravulvosubmucosa se excluyó del experimento porque fue retirado del corral de los animales en experimentación, pensando erroneamente que estaba en calor, después fue regresado pero ya se había perdido la oportunidad de tomar las muestras correspondientes a las 12 y 24 horas post-tratamiento, por lo que no se siguió muestreando.

El cuadro 1 muestra el número y porcentaje de animales que presentaron cuerpo lúteo funcional ( $P4 > 1$  ng/ml) al momento del tratamiento con  $PGF_{2\alpha}$  natural. Como la selección de los animales para el tratamiento fue en base a la palpación rectal, se observa que ésta técnica fue eficaz en un 90% para determinar si existe un cuerpo lúteo funcional. Como resultado, el número de animales que por tener un cuerpo lúteo funcional al momento de la inyección pudieron utilizarse para evaluar el efecto luteolítico de esta hormona por las diferentes vias de aplicación varió entre 17 y 18 animales por grupo.

Como era de esperarse, la precisión en la palpación rectal fue similar para todos los grupos ( $p > 0.05$ ).

Se consideró que el tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  natural o su análogo causó luteólisis efectiva cuando el animal tenía niveles de progesterona superiores a 1 ng/ml (cuerpo lúteo funcional) antes de ser inyectado y dichos valores bajaron a menos de 1 ng/ml dentro de las primeras 48 horas post-inyección, manteniéndose en ese nivel hasta finalizar el período de muestreo.

Todos los animales que estaban en diestro al ser tratados con  $\text{PGF}_2\alpha$  natural (dinoprost) por vía intramuscular presentaron una caída brusca en las concentraciones de progesterona plasmática en las primeras 12 horas post-tratamiento, descendiendo a  $< 1$  ng/ml dentro de las primeras 48 horas y permaneciendo en ese nivel durante el resto del muestreo (ver figuras 1, 2, 3A y 3B). En los 2 animales tratados por vía intramuscular que no estaban en diestro, se distinguen 2 comportamientos diferentes. En uno de ellos, el nivel plasmático de progesterona se mantuvo constante a  $< 1$  ng/ml durante toda la etapa de muestreo (ver figura 3C). En el otro animal, primero se observó una caída ligera y posteriormente un incremento sostenido, rebasando el nivel de  $> 1$  ng/ml en las primeras 48 horas (ver figura 3D).

En contraste, en los animales que recibieron 12.5 mg de  $\text{PGF}_2\alpha$  natural (dinoprost) por vía intravulvosubmucosa y vulvar, la respuesta fue más variada. En ambos tratamientos se observaron perfiles individuales de progesterona plasmática similares a los de animales tratados con la dosis

completa por vía intramuscular (ver figuras 4, 5, 7, 8A y 8B), pero también se observan perfiles de progesterona plasmática de animales que aún estando en diestro, no tuvieron una respuesta de luteólisis efectiva. La mayoría de los perfiles de progesterona plasmática en estos animales presenta una reducción inicial que puede llegar hasta 1 ng/ml o menos, pero después se recupera y vuelve a elevarse (ver figuras 6C al 6G, 9A al 9D, 9F al 9H). En un animal el nivel plasmático de progesterona parece incrementarse después del tratamiento (ver figura 9E).

En los animales que al momento del tratamiento no estaban en diestro, la tendencia en sus perfiles plasmáticos de progesterona es similar al de un animal tratado con la dosis completa por vía intramuscular que no estaba en diestro (ver figuras 6A, 6B, 8C, 8D).

En el cuadro 2 se observa que cuando se usó  $\text{PGF}_2\alpha$  natural (dinoprost), el porcentaje de luteólisis efectiva en el tratamiento intramuscular con dosis completa es superior al obtenido cuando se usó la vía intravulvosubmucosa o la vía vulvar ( $p < 0.05$ ).

El cuadro 3 muestra que el porcentaje total de estros manifiestos en las primeras 120 horas post-inyección de  $\text{PGF}_2\alpha$  natural fue de 75.6% respecto al número total de animales del experimento. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, aunque los mayores

porcentajes se encontraron cuando se utilizó la dosis completa por vía intramuscular.

En el cuadro 4 se observa que el porcentaje total de estros en los animales que respondieron al tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  natural (dinoprost) fue de 90%. Cuando se usó la vía intramuscular, el porcentaje fue diferente ( $p < 0.05$ ) a los otros grupos, debido a que en ese grupo dejaron de observarse en estro 4 animales que realmente respondieron con luteólisis.

El cuadro 5 muestra el efecto del tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  natural (dinoprost) sobre la concentración promedio de progesterona (ng/ml) en todos los animales tratados. Al inicio del tratamiento no existe diferencia ( $p > 0.05$ ) entre los grupos ni a las 12 horas post-tratamiento. A las 24 horas post-tratamiento el promedio en las concentraciones plasmáticas de progesterona es significativamente más bajo ( $p < 0.05$ ) en el tratamiento intramuscular que en los tratamientos intravulvosubmucoso y vulvar. A las 48 y 72 horas post-tratamiento persiste esta diferencia ( $p < 0.05$ ). En ningún momento hubo diferencia entre las concentraciones promedio del grupo tratado en forma intravulvar y las del grupo tratado por vía intravulvosubmucosa.

El cuadro 6 muestra el intervalo en horas desde el momento del tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  natural (dinoprost) hasta la regresión del cuerpo lúteo. Tomando en cuenta solamente

los animales en que hubo luteólisis efectiva, el promedio general en horas para todos los animales que presentaron regresión lútea fue de  $31.2 \pm 13.8$  horas. La luteólisis se produjo significativamente más rápido ( $p < 0.05$ ) cuando el dinoprost se aplicó en dosis completa por vía intramuscular que cuando se aplicó por vía intravulvosubmucosa.

#### EXPERIMENTO 2.

El cuadro 7 muestra el número y porcentaje de animales que presentaron un cuerpo lúteo funcional ( $P_4 > 1$  ng/ml) al momento del tratamiento con  $PGF_{2\alpha}$  sintética (luprostiol). La precisión de la palpación rectal para detectar un cuerpo lúteo funcional en todos los animales fue de 87% y no existió diferencia entre grupos ( $p > 0.05$ ). Como resultado, cuando se evaluó la actividad luteolítica de la hormona, el número de animales varió entre 16 y 18 por grupo.

Los animales que estaban en diestro y que fueron tratados con la dosis completa de  $PGF_{2\alpha}$  sintética (luprostiol) por vía intramuscular respondieron consistentemente con luteólisis efectiva (ver figuras 10, 11, 12B), excepto un animal en el que se observó una caída abrupta y en 24 horas llegó a  $< 1$  ng/ml de progesterona plasmática, pero a las 48 y 72 horas volvió a incrementarse

por arriba de 1 ng/ml de progesterona plasmática (ver figura 12A).

En contraste, los animales que fueron tratados con 3.8 mg de  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética por vía intravulvosubmucosa o vulvar, presentaron al igual que con los tratamientos homólogos con dinoprost una respuesta variada.

En algunos de estos animales se encontraron perfiles plasmáticos de progesterona similares a los de los animales tratados por vía intramuscular (ver figuras 13, 14, 16 y 17), pero también hubo animales que tuvieron caída brusca en los niveles de progesterona durante las primeras 12 a 24 horas, los cuales sin embargo no llegaron a menos de 1 ng/ml y fueron posteriormente seguidos por elevación en los niveles de la hormona (ver figuras 15F, 15G, 18A, 18C al 18E). En otros animales los niveles llegaron a descender a valores menores de 1 ng/ml de progesterona plasmática, pero no se mantuvieron en ese nivel y volvieron a elevarse (ver figuras 18B y 18F). Un animal presentó un descenso inicial en los valores de progesterona plasmática, seguido de recuperación y posterior caída, sin haber alcanzado nunca valores menores de 1 ng/ml (ver figura 15E).

Cuando los animales no estaban en diestro, la respuesta al tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética fue similar a lo descrito para los animales que no estaban en diestro y se les

administró  $\text{PGF}_2\alpha$  natural a cualquier dosis y vía (ver figuras 12B y 12G).

En el cuadro 8 se observa que el tratamiento completo de  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprostiol) aplicado por vía intramuscular indujo luteólisis efectiva en más animales ( $p < 0.05$ ) que cuando se aplicó en dosis reducida por vía vulvar. El porcentaje de inducción de luteólisis con la vía intravulvosubmucosa fue intermedia.

El cuadro 9 muestra que el porcentaje total de estros manifiestos en las primeras 120 horas post-tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética fue de 85% con respecto al número total de animales en el experimento. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, aunque los mayores porcentajes se encontraron cuando se utilizó la dosis completa por vía intramuscular.

En el cuadro 10 se observa que en todos los grupos hubo una alta eficiencia de observación de estros, ya que el 97.6% de los animales que tuvieron luteólisis efectiva fueron observados en estro. El grupo donde se administró luprostiol por vía intravulvosubmucosa fue el único donde un animal no fue detectado en calor.

El cuadro 11 muestra el efecto del tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprosotiol) sobre la concentración promedio de progesterona (ng/ml) en todos los animales

tratados. A las 0 y 12 horas post-tratamiento no se observan diferencias ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos. A las 24 horas post-tratamiento se observó que el promedio de progesterona plasmática fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ) cuando el tratamiento se aplicó en dosis completa por vía intramuscular que cuando se aplicó en dosis reducida por vía vulvar. A las 48 y 72 horas no se encontraron diferencias significativas entre grupos ( $p > 0.05$ ). Sin embargo, solo en el grupo intramuscular se encontraron niveles promedio de progesterona menores de 0.05 ng/ml.

Aunque entre los tratamientos con luprostiol sólo existen diferencias estadísticas en los promedios de progesterona plasmática a las 24 horas post-tratamiento, la tendencia es similar a los resultados obtenidos con dinoprost, en los que las concentraciones de progesterona fueron menores en los animales tratados con la dosis completa. Es posible que en el experimento 2 el método estadístico empleado no detectara diferencias debido a que la desviación estándar es muy amplia, como resultado de la gran variabilidad individual en la respuesta a las dosis reducidas de luprostiol.

El cuadro 12 muestra el intervalo en horas desde el momento del tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética hasta la luteólisis. El promedio general en horas para todos los animales en este experimento que sufrieron regresión lútea



fue de  $27.4 \pm 13.3$  horas. No existe diferencia ( $p > 0.05$ ) en el intervalo en horas desde el tratamiento hasta la regresión entre los grupos, aunque la tendencia es similar a la obtenida con  $\text{PGF}_2\alpha$  natural, observándose un menor intervalo en los animales tratados con dosis completa que en aquellos tratados con dosis reducidas.

El cuadro 13 compara en forma global el nivel de progesterona existente antes de aplicar los tratamientos en los animales que presentaron una respuesta positiva al tratamiento con el de los animales que no tuvieron respuesta. En los animales que sí respondieron al tratamiento el nivel inicial promedio de progesterona plasmática fue de  $7.5 \pm 3.3$  ng/ml, mientras que en los animales que no respondieron fue de  $6.8 \pm 3.3$  ng/ml. No existió diferencia ( $p > 0.05$ ) en la concentración inicial de progesterona plasmática entre los animales que respondieron al tratamiento comparado con los que no respondieron.

El intervalo tratamiento-inicio del estro fue de 60 horas en promedio para todos los animales con luteólisis, sin diferencia ( $p > 0.05$ ) entre grupos.

Cuadro 1. Número y porcentaje de los animales de cada grupo que realmente tenían un cuerpo lúteo funcional ( $P_4 > 1$  ng/ml) al momento de ser tratados con  $PGF_{2\alpha}$  natural (dinoprost).

Tratamiento	n	Animales con Cl funcional	
		número	porcentaje
DPIM (25.0 mg)	20	18	90.0 %
DPIVSM (12.5 mg)	19	17	89.5 %
DPIV (12.5 mg)	20	18	90.0 %
TOTAL	59	53	90.0 %

Las diferencias entre grupos no son significativas.  
n= número de animales tratados.

Cuadro 2. Efecto del tratamiento con  $PGF_{2\alpha}$  natural (dinoprost) sobre la inducción de luteólisis.

Tratamiento	n	Luteólisis efectiva	
		número	porcentaje
DPIM (25.0 mg)	18	18	100.0 % a
DPIVSM (12.5 mg)	17	12	70.6 % b
DPIV (12.5 mg)	18	10	55.6 % b
TOTAL	53	40	75.5 %

los porcentajes que no comparten literal son diferentes ( $p < 0.05$ ).

n= número de animales con cuerpo lúteo funcional.

**Cuadro 3. Porcentaje de presentación de estros en relación al total de animales tratados con  $\text{PGF}_2\alpha$  natural (dinoprost) por diferentes vías.**

Tratamiento	n	Estros manifiestos	
		número	porcentaje
DPIIM (25.0 mg)	20	15	75.0 %
DPIVSM (12.5 mg)	19	13	68.4 %
DPIV (12.5 mg)	20	11	55.0 %
<b>TOTAL</b>	<b>119</b>	<b>90</b>	<b>75.6 %</b>

Las diferencias entre los grupos no son significativas ( $p > 0.05$ ).

n= número de animales tratados.

**Cuadro 4. Efecto del tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  natural (dinoprost) sobre la presentación de estros manifiestos en relación a los animales con luteólisis efectiva.**

Tratamiento	n	Estros manifiestos	
		número	porcentaje
DPIIM (25.0 mg)	18	14	77.8 % a
DPIVSM (12.5 mg)	12	12	100.0 % b
DPIV (12.5 mg)	10	10	100.0 % b
<b>TOTAL</b>	<b>40</b>	<b>36</b>	<b>90.0 %</b>

Los porcentajes que no comparten literal son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

n= número de animales con luteólisis.

Cuadro 5. Concentraciones promedio de progesterona a diferentes intervalos posteriores al tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  natural (dinoprost) por diferentes vías.

Horas post-tratamiento	Tratamientos		
	DPIM (25 mg)	DPIVSM (12.5 mg)	DPIV (12.5 mg)
00 horas	8.3±3.3 a	7.7±3.9 a	7.3±2.8 a
12 horas	1.9±1.2 a	2.5±1.2 a	2.7±1.0 a
24 horas	0.8±0.4 a	1.5±1.0 b	1.6±1.3 b
48 horas	0.3±0.2 a	1.1±1.2 b	1.7±2.0 b
72 horas	0.1±0.1 a	1.0±1.6 b	2.0±2.4 b

las cifras que en una misma hora post-tratamiento no comparten literal son diferentes ( $p < 0.05$ ).

Cuadro 6. Intervalo entre el tratamiento y la regresión del cuerpo lúteo en animales tratados con  $\text{PGF}_2\alpha$  natural por diferentes vías.

Tratamiento	n	Regresión (horas)
		( $\bar{X} \pm \text{D.E.}$ )
DPIM (25.0 mg)	18	26 ± 13 a
DPIVSM (12.5 mg)	12	39 ± 13 b
DPIV (12.5 mg)	10	31 ± 11 a
TOTAL	40	31.2 ± 13.8

las cifras que no comparten literales son diferentes ( $p < 0.05$ ).

n= número de animales con luteólisis.

Cuadro 7. Número y porcentaje de animales de cada grupo que realmente tenían un cuerpo lúteo funcional ( $P_4 < 1$  ng/ml) al momento de ser tratados con  $PGF_{2\alpha}$  sintética (luprostiol).

Tratamiento	n	animales con Cl funcional	
		número	porcentaje
LPIM (15.0 mg)	20	18	90.0 %
LPIVSM ( 3.8 mg)	20	16	80.0 %
LPIV ( 3.8 mg)	20	18	90.0 %
TOTAL	60	52	87.0 %

Las diferencias entre grupos no son significativas ( $p > 0.05$ )  
 n= número de animales tratados.

Cuadro 8. Efecto del tratamiento con  $PGF_{2\alpha}$  sintética (luprostiol) sobre la inducción de luteólisis.

Tratamiento	n	Luteólisis efectiva	
		número	porcentaje
LPIM (15.0 mg)	18	17	94.4 % a
LPIVSM ( 3.8 mg)	16	13	81.3 % ab
LPIV ( 3.8 mg)	18	12	66.7 % b
TOTAL	52	42	80.7 %

los porcentajes que no comparten literal son diferentes ( $p < 0.05$ ).

n= número de animales con cuerpo lúteo funcional.

Cuadro 9. Porcentaje de presentación de estros en relación al total de animales tratados con  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprostiol) por diferentes vías.

Tratamiento	n	Estros manifiestos	
		número	porcentaje
LPIM (15.0 mg)	20	19	95.0 %
LPIVSM ( 3.8 mg)	20	15	75.0 %
LPIV ( 3.8 mg)	20	17	85.0 %
TOTAL	60	51	85.0 %

Las diferencias entre los grupos no son significativas ( $p > 0.05$ )  
 n= número de animales tratados.

Cuadro 10. Efecto del tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprostiol) sobre la presentación de estros manifiestos en relación a los animales con luteólisis efectiva.

Tratamiento	n	Estros manifiestos	
		número	porcentaje
LPIM (15.0 mg)	17	17	100.0 %
LPIVSM ( 3.8 mg)	13	12	92.3 %
LPIV ( 3.8 mg)	12	12	100.0 %
TOTAL	42	41	97.6 %

Las diferencias entre los grupos no son significativas ( $p > 0.05$ )  
 n= número de animales con luteólisis.

Cuadro 11. Concentraciones promedio de progesterona a diferentes intervalos posteriores al tratamiento con  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprostiol) por diferentes vías.

Horas post-tratamiento	Tratamientos		
	LPIM (15 mg)	LPIVSM (3.8 mg)	LPIV (3.8 mg)
00 horas	6.7±3.8 a	6.9±2.6 a	7.4±3.3 a
12 horas	1.4±0.8 a	2.1±1.2 a	1.9±1.3 a
24 horas	0.5±0.3 a	1.3±1.1 b	0.9±0.8 ab
48 horas	0.2±0.3 a	1.0±2.7 a	1.0±1.3 a
72 horas	0.2±0.3 a	0.6±1.2 a	1.0±1.5 a

las cifras que en una misma hora post-tratamiento no comparten literal son diferentes ( $p < 0.05$ ).

Cuadro 12. Intervalo entre el tratamiento y la regresión del cuerpo lúteo en animales tratados con  $\text{PGF}_2\alpha$  sintética (luprostiol), por diferentes vías.

Tratamiento	n	Regresión (horas)
LPIM	17	23 ± 10
LPIVSM	13	31 ± 14
LPIV	12	29 ± 14
TOTAL	42	27.4 ± 13.3

Las diferencias entre los grupos no son significativas ( $p > 0.05$ ).

n= número de animales con luteólisis.

Cuadro 13. Concentración de P4 plasmática en todos los animales al momento del tratamiento en relación a la respuesta al tratamiento.

Respuesta	n	P4 (ng/ml) ( promedio±D.E.)
Con luteólisis	82	7.5 ± 3.3
Sin luteólisis	23	6.8 ± 3.3

Las diferencias entre los cuadros no son significativas (p>0.05).

n= número de animales en diestro.



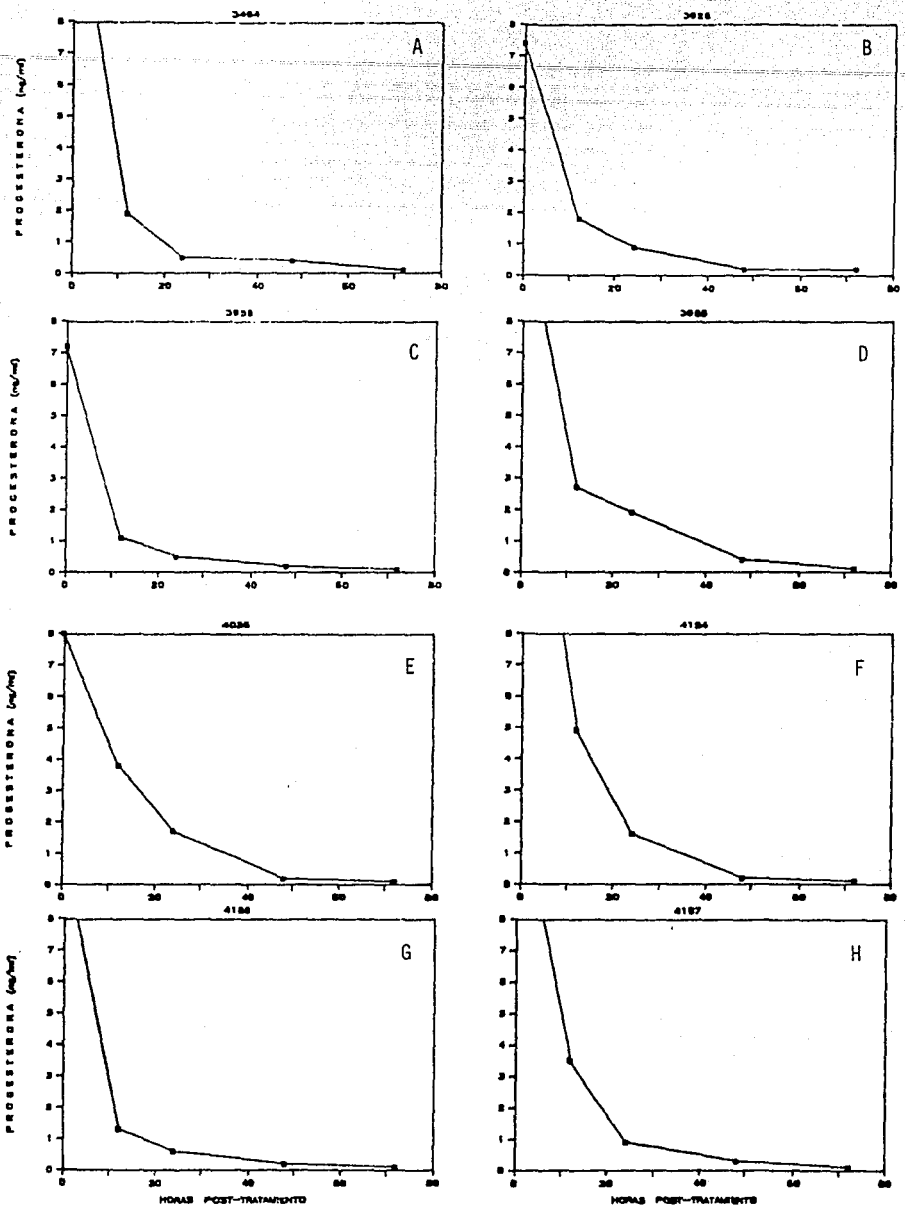


FIGURA 1. Niveles de progesterona después del tratamiento con 25 mg. de PGF2 alfa natural (dinoprost) pr vía intramuscular en animales con luteólisis efectiva.

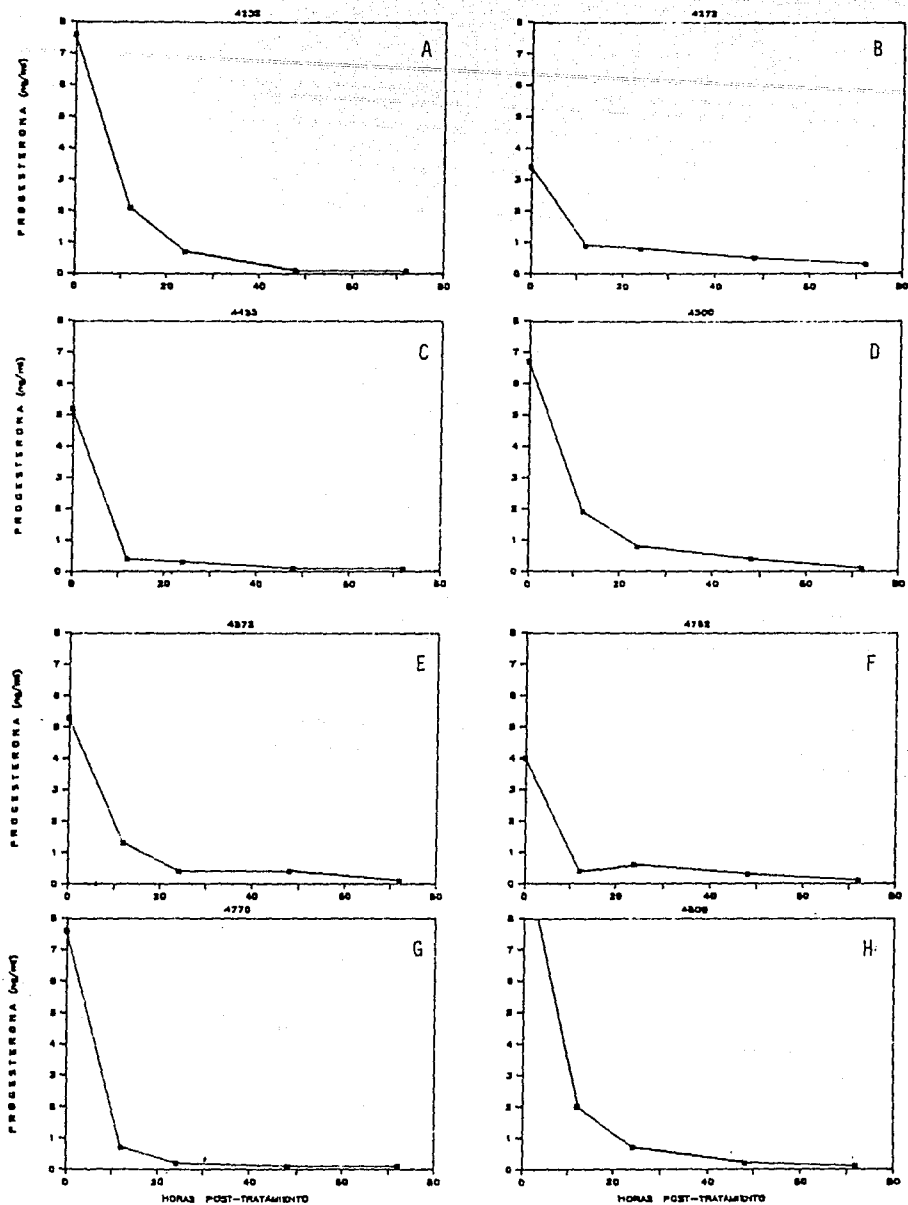


FIGURA 2. Niveles de progesterona después del tratamiento con 25 mg. de PGF2 alfa natural (dinoprost) aplicada por vía intramuscular en animales con luteólisis efectiva.

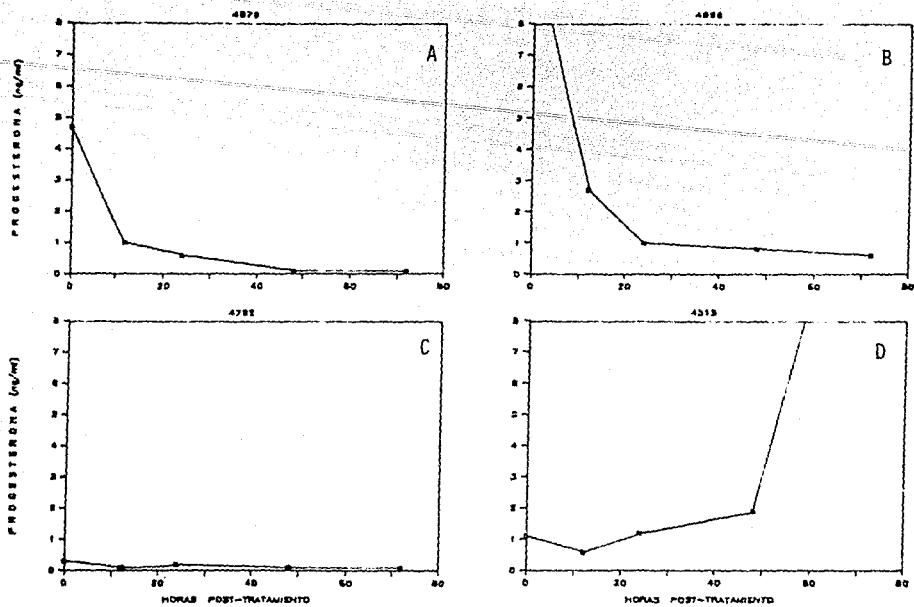


FIGURA 3. Niveles de progesterona después del tratamiento con 25 mg. de PGF2 alfa natural (dinoprost) aplicada por vía intramuscular en animales con luteólisis efectiva (A,B) y en 2 animales que no se encontraban en diestro al ser inyectados (C,D).

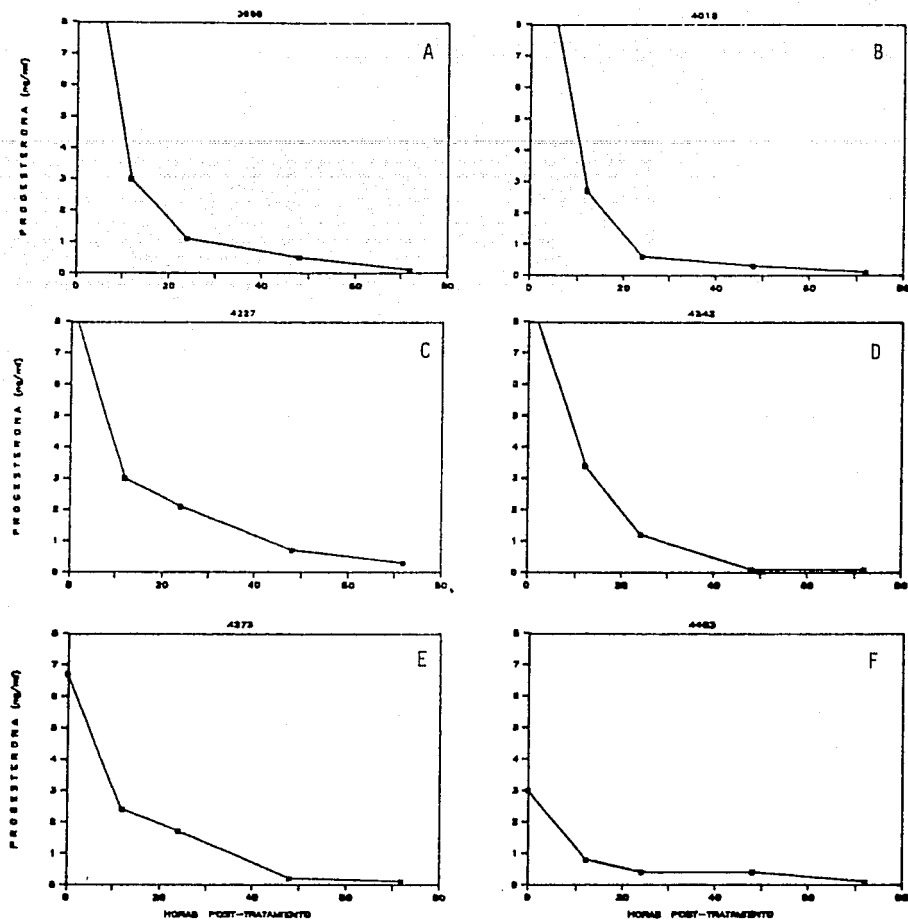


FIGURA 4. Niveles de progesterona después del tratamiento con 12.5 mg. de PGF2 alfa natural (dinoprost) aplicada por vía intravulvosubmucosa en animales con luteólisis efectiva.

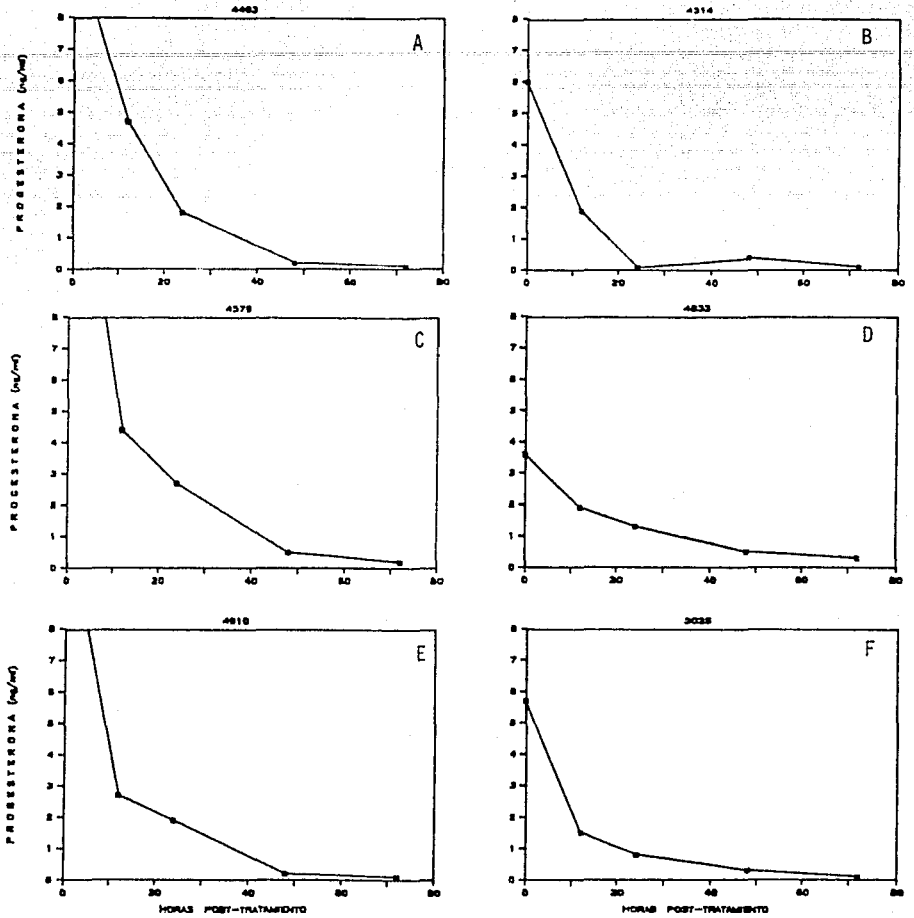


FIGURA 5. Niveles de progesterona después del tratamiento con 12.5 mg. de PGF2 alfa natural (dinoprost) aplicada por vía intravulvosubmucosa en animales con luteólisis efectiva.

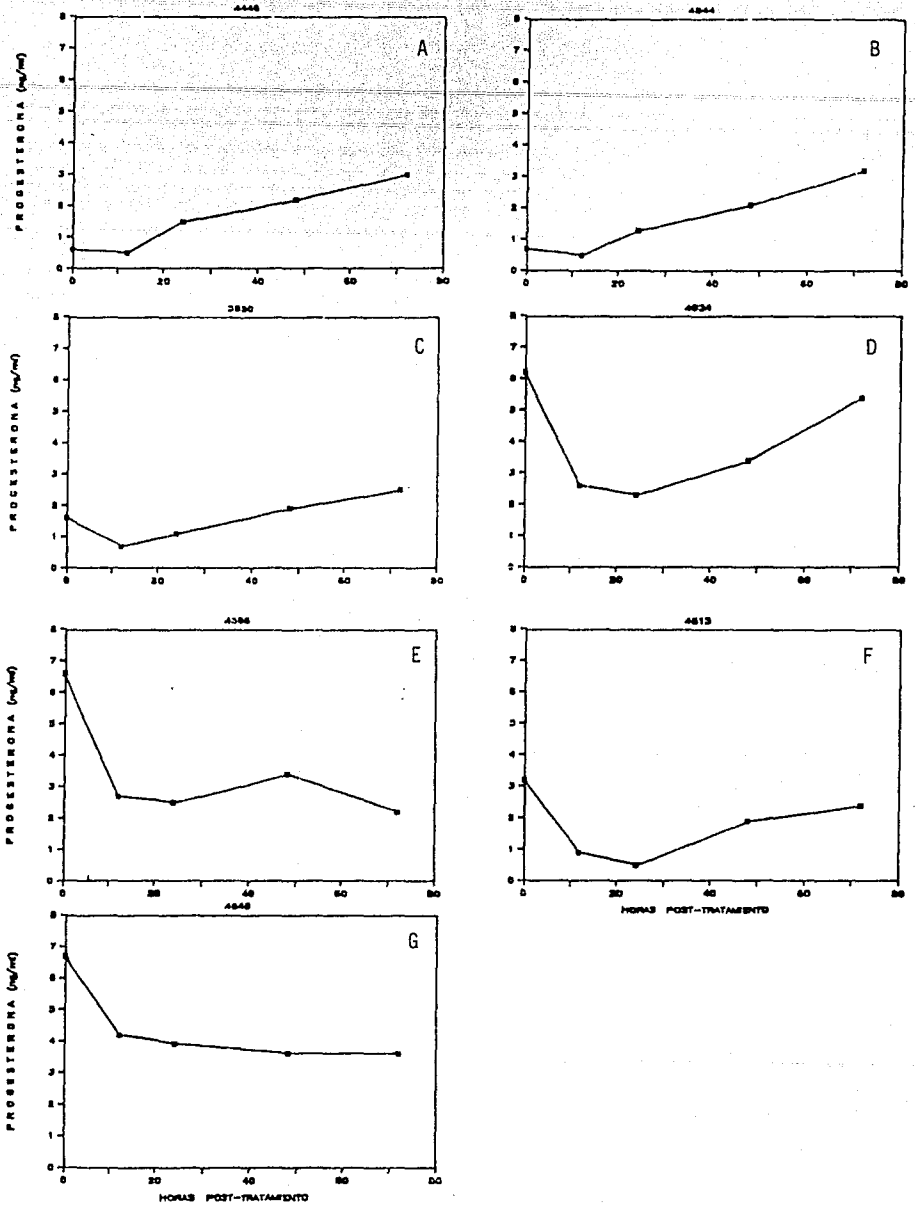


FIGURA 6. Niveles de progesterona después del tratamiento con 12.5 mg. de PGF2 alfa natural (dinoprost) aplicada por vía intravulvosubmucosa en 2 animales que no estaban en diestro al ser tratados (A,B), y en 5 animales en los que no se produjo luteólisis efectiva (C,D,E,F y G).

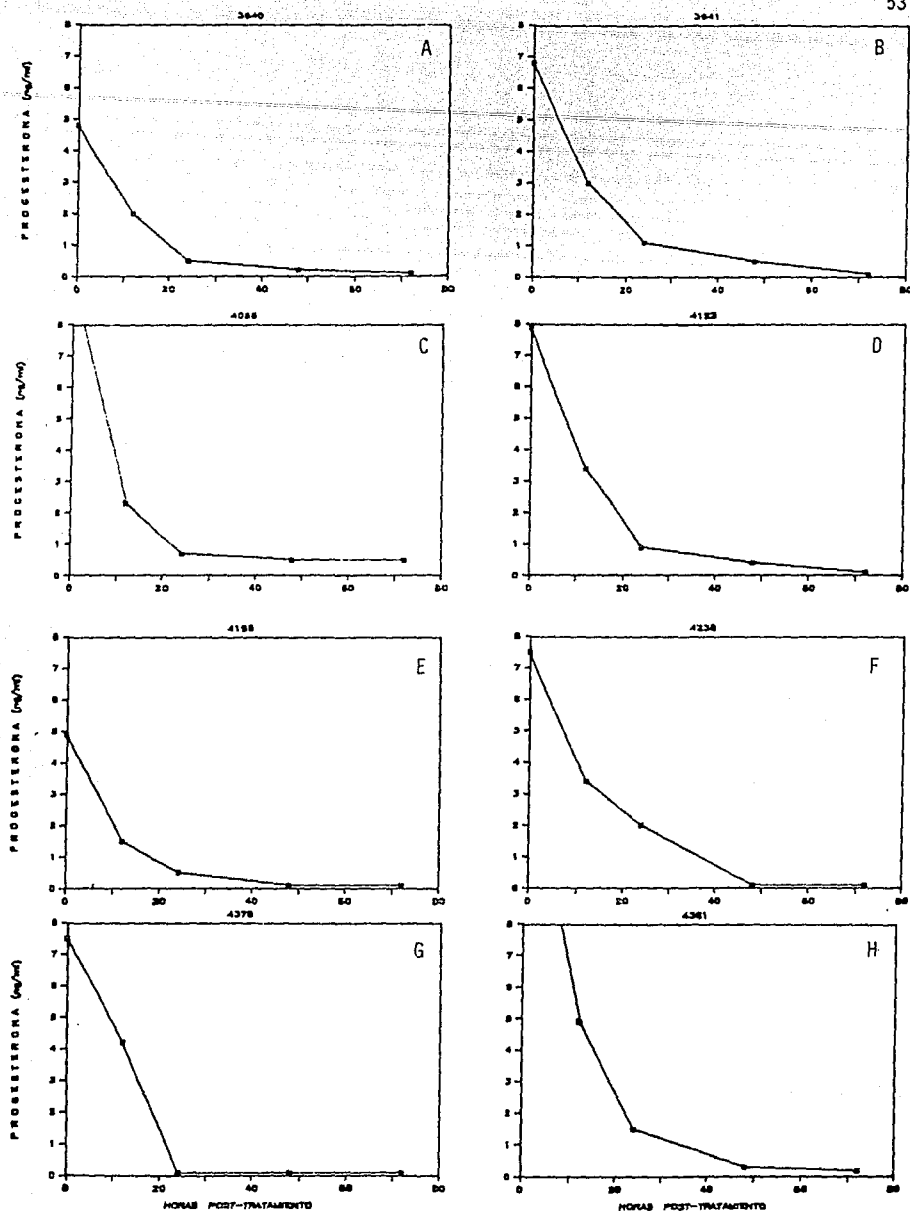


FIGURA 7. Niveles de progesterona después del tratamiento con 12.5 mg. de PGF2 alfa natural (dinoprost) aplicada por vía vulvar en animales con luteólisis efectiva.

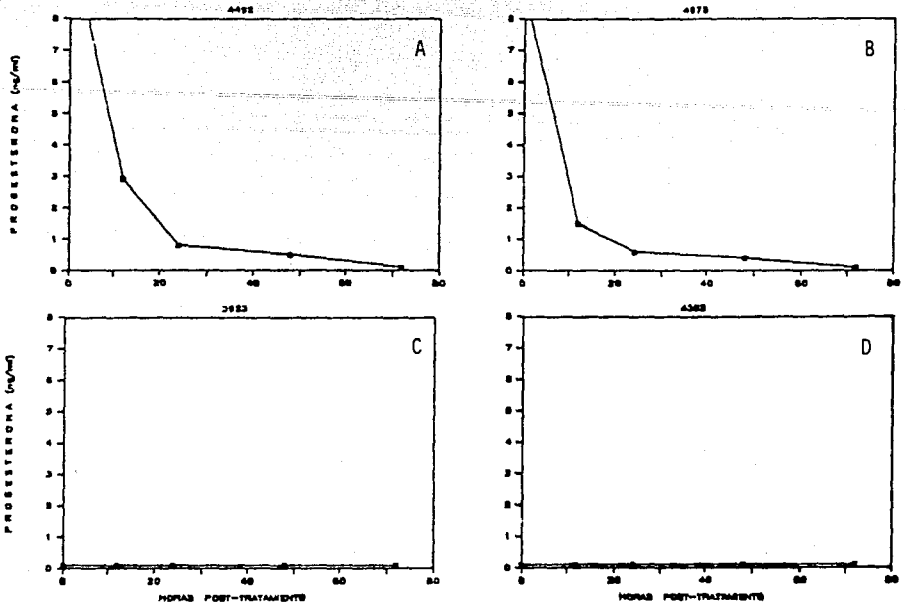


FIGURA 8. Niveles de progesterona después del tratamiento con 12.5 mg. de PGF2 alfa natural (dinoprost) aplicada por vía vulvar en animales con luteólisis efectiva (A,B), y en 2 animales que no estaban en diestro al ser inyectados (C,D).



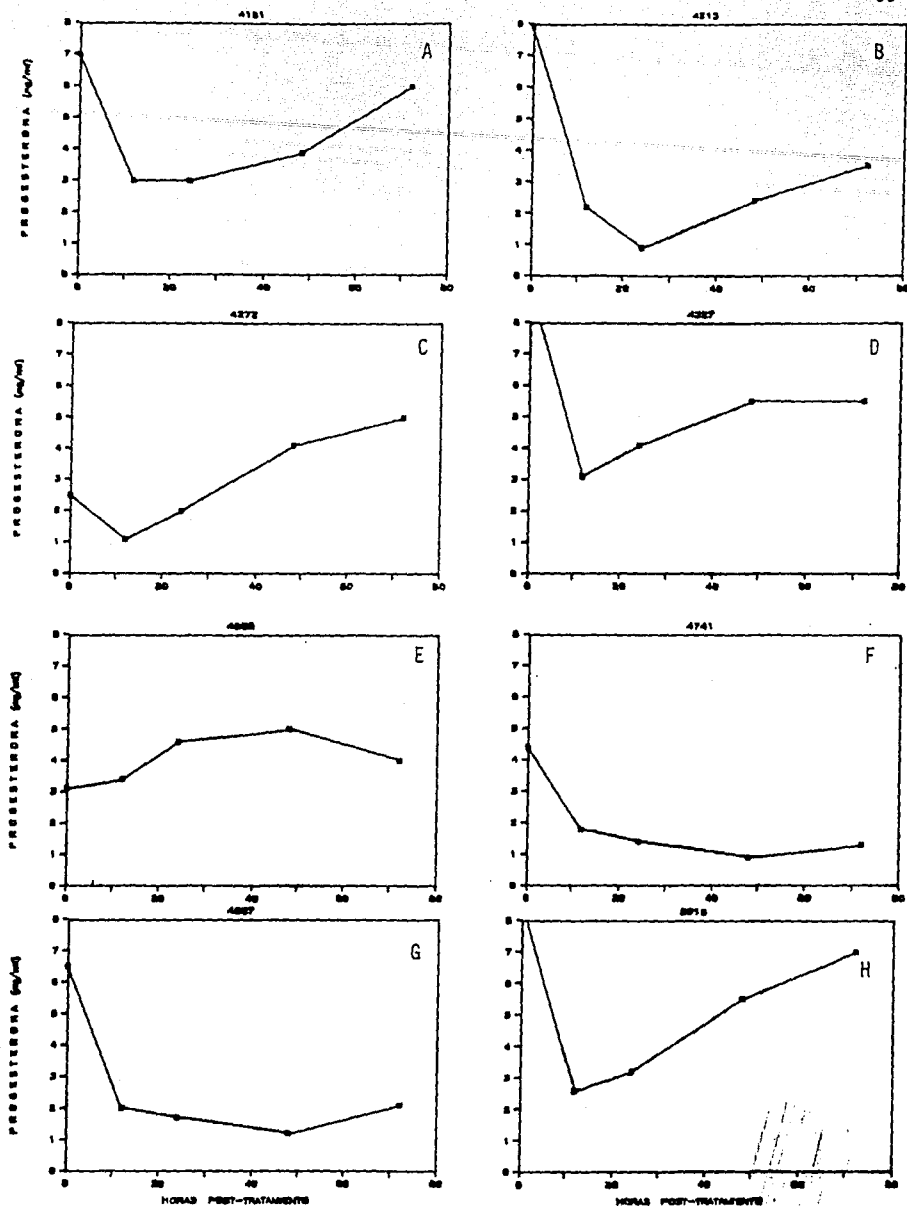


FIGURA 9. Niveles de progesterona después del tratamiento con 12.5 mg. de PGF2 alfa natural (dinoprost) aplicada por vía vulvar en 8 animales en los que no se produjo luteólisis efectiva.

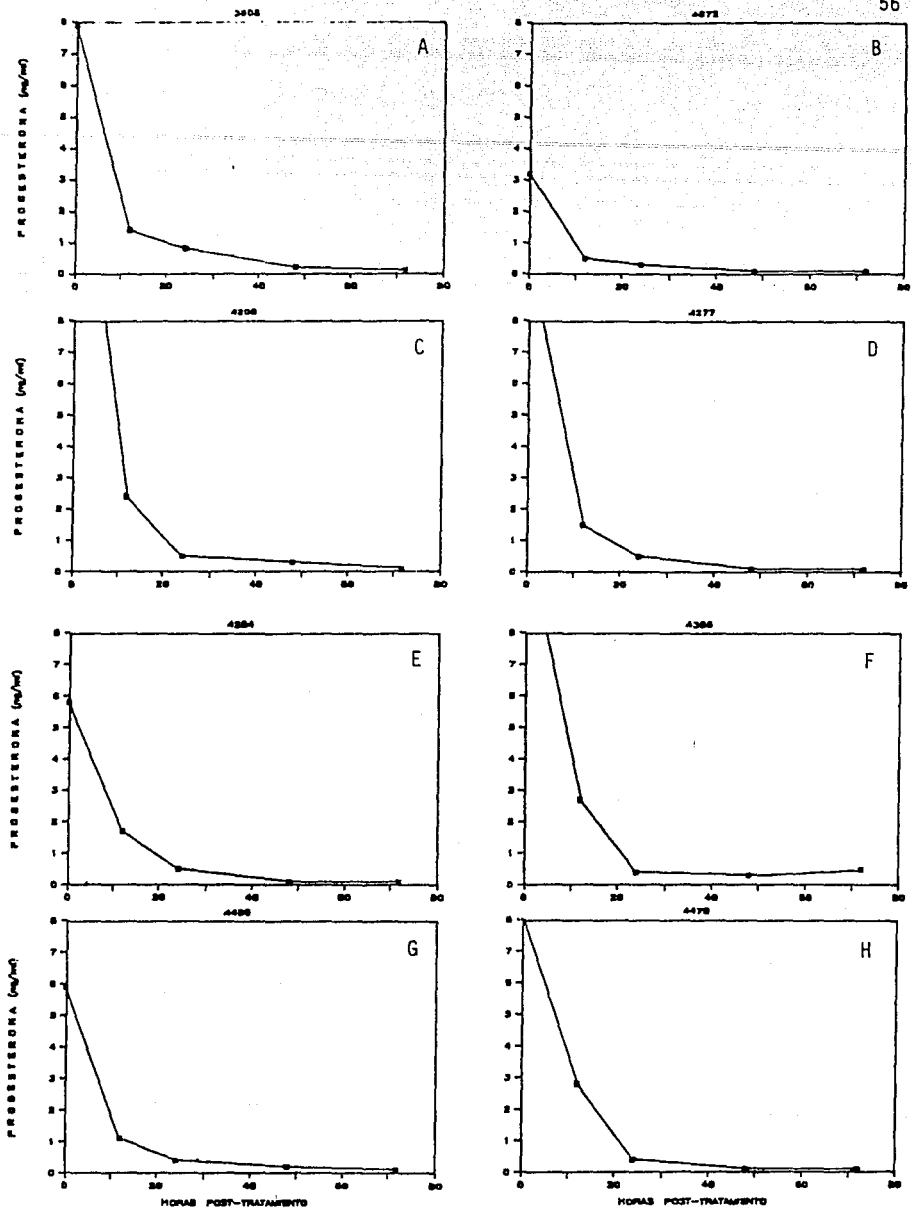


FIGURA 10. Niveles de progesterona después del tratamiento con 15 mg. de PGF2 alfa sintética (luprostiol) aplicado por vía intramuscular en animales con luteólisis efectiva.

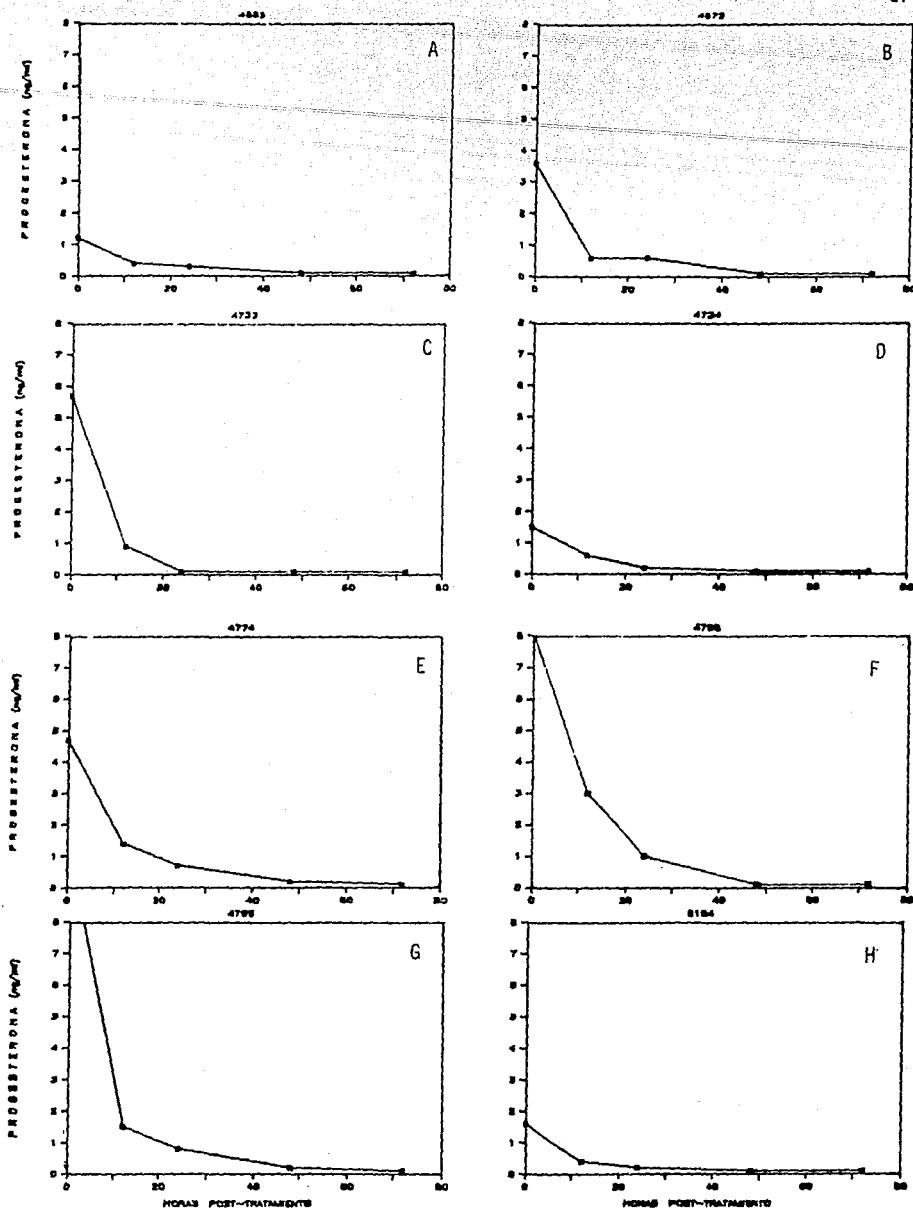


FIGURA 11. Niveles de progesterona después del tratamiento con 15 mg. de PGF2 alfa sintética (luprostiol) aplicado por vía intramuscular en animales con luteólisis efectiva.

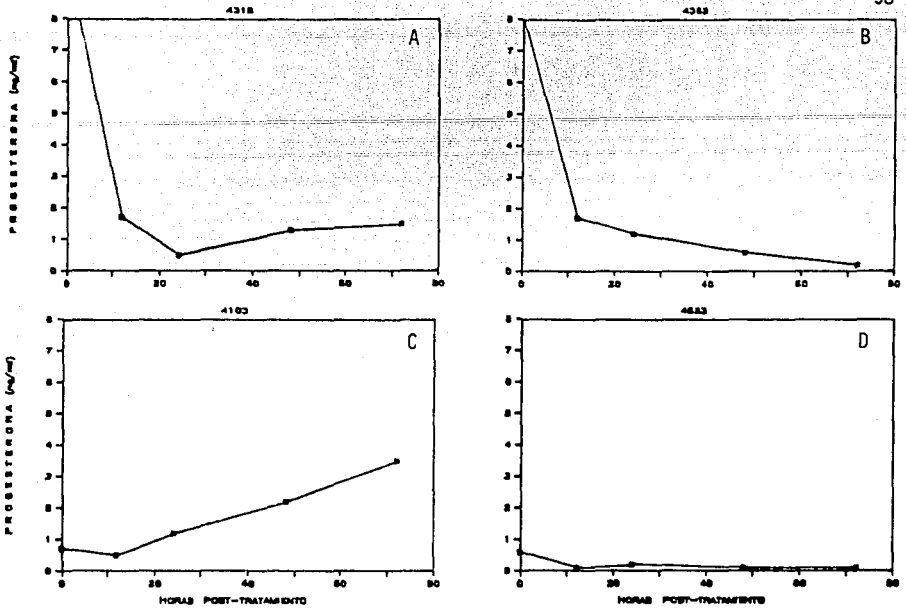


FIGURA 12. Niveles de progesterona después del tratamiento con 15 mg. de PGF° alfa sintética (luprostiol) aplicado por vía intramuscular en un animal que no presentó luteólisis efectiva (A), un animal con luteólisis efectiva (B), y 2 animales que no estaban en diestro (C,D).

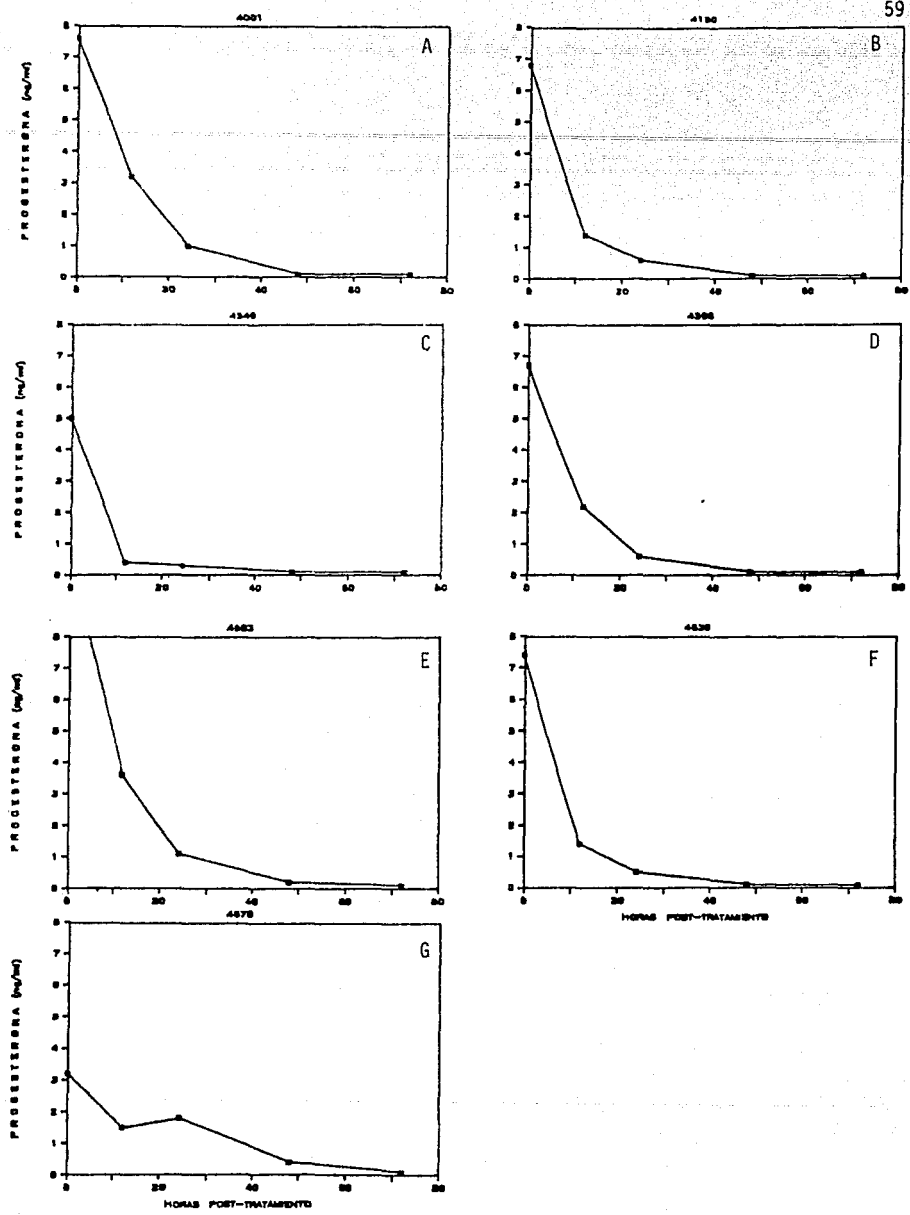


FIGURA 13. Niveles de progesterona después del tratamiento 3.8 mg. de PGF2 alfa sintética (luprostiol) aplicado por vía intravulvosubmucosa en animales con luteólisis efectiva.

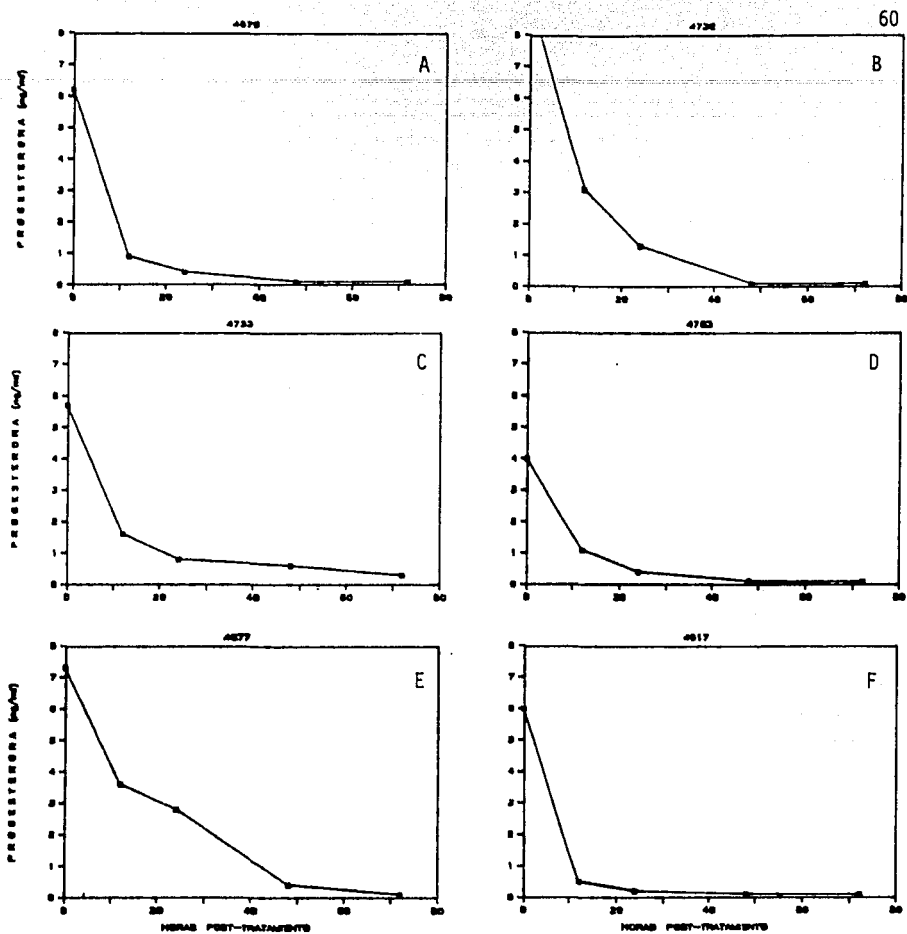


FIGURA 14. Niveles de progesterona después del tratamiento con 3.8 mg. de PGF2 alfa sintética (luprostiol) aplicado por vía intravulvosubmucosa en animales con luteólisis efectiva.

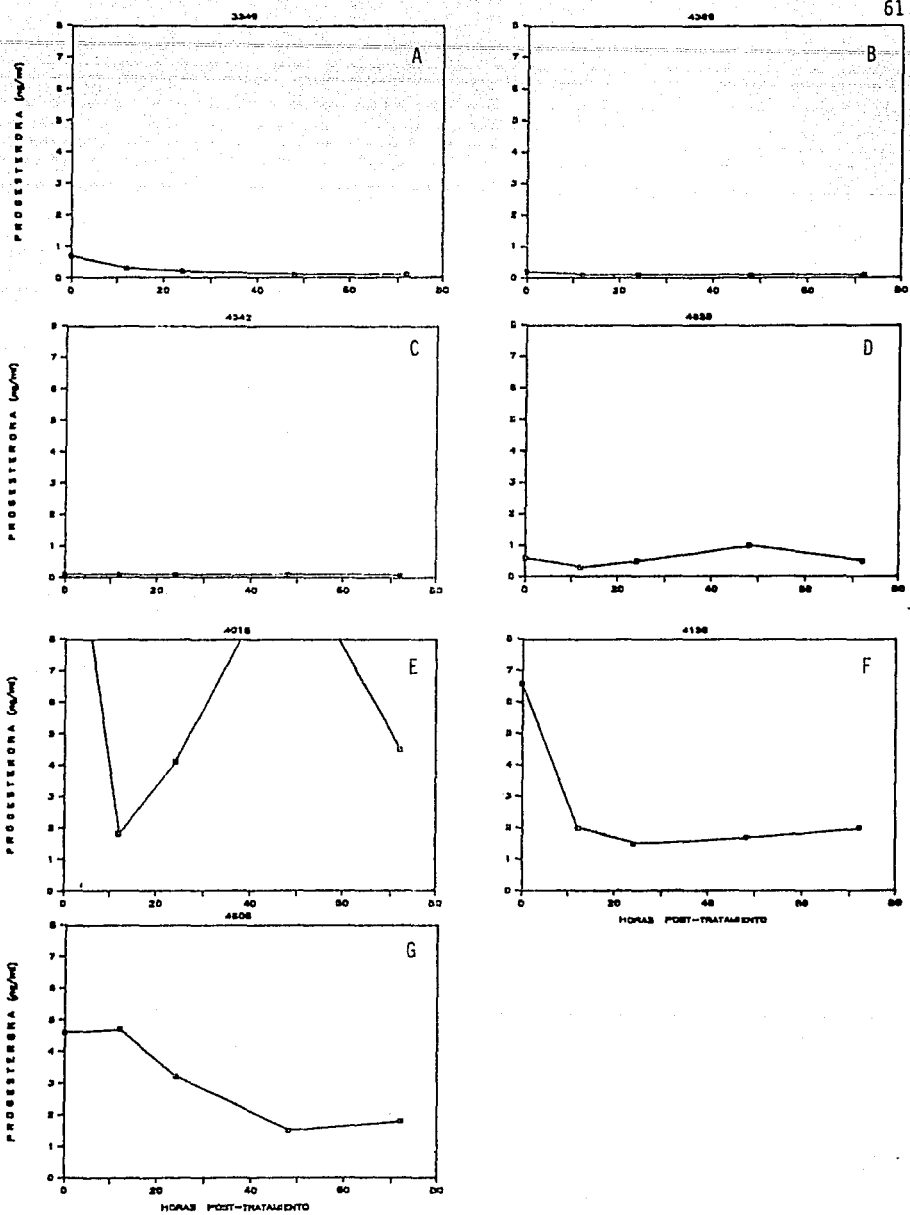


FIGURA 15. Niveles de progesterona después del tratamiento con 3.8 mg. de PGF2 alfa sintética (luprostiol) aplicada por vía intravulvosubmucosa en animales que no estaban en diestro (A,B,C,D) y en 3 animales que estaban en diestro pero no presentaron luteólisis efectiva (E,F,G).

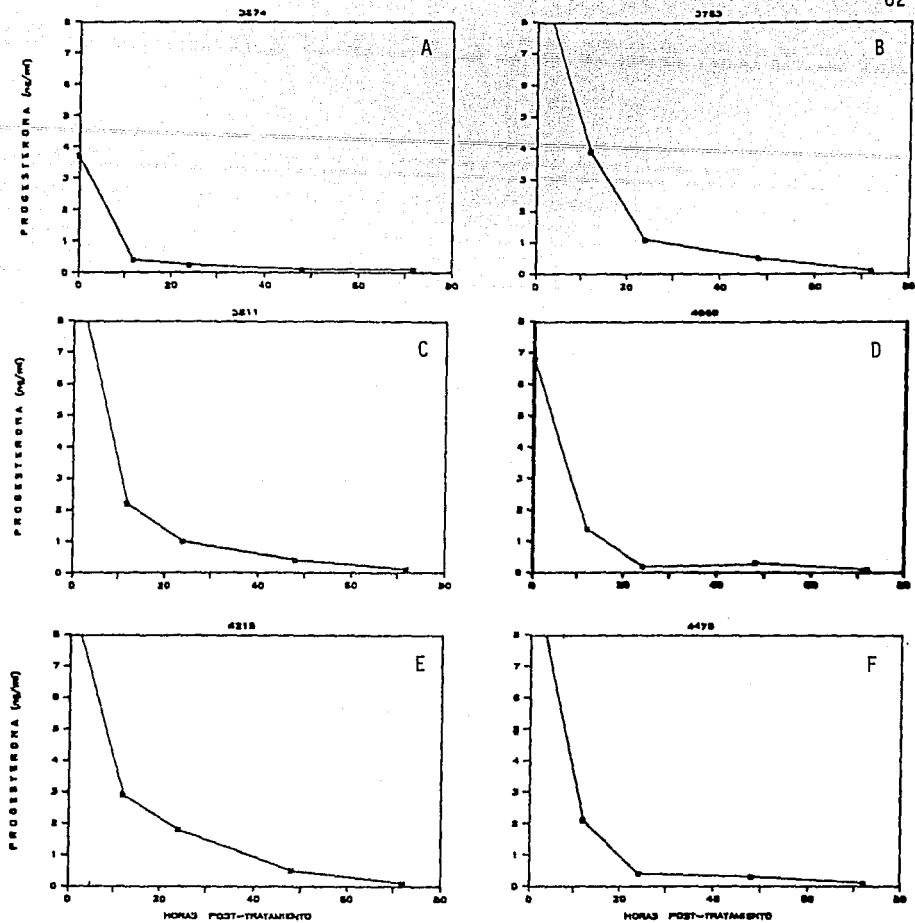


FIGURA 16. Niveles de progesterona después del tratamiento con 3.8 mg. de PGF2 alfa sintética (luprostiol) aplicada por vía vulvar en animales con luteólisis efectiva.



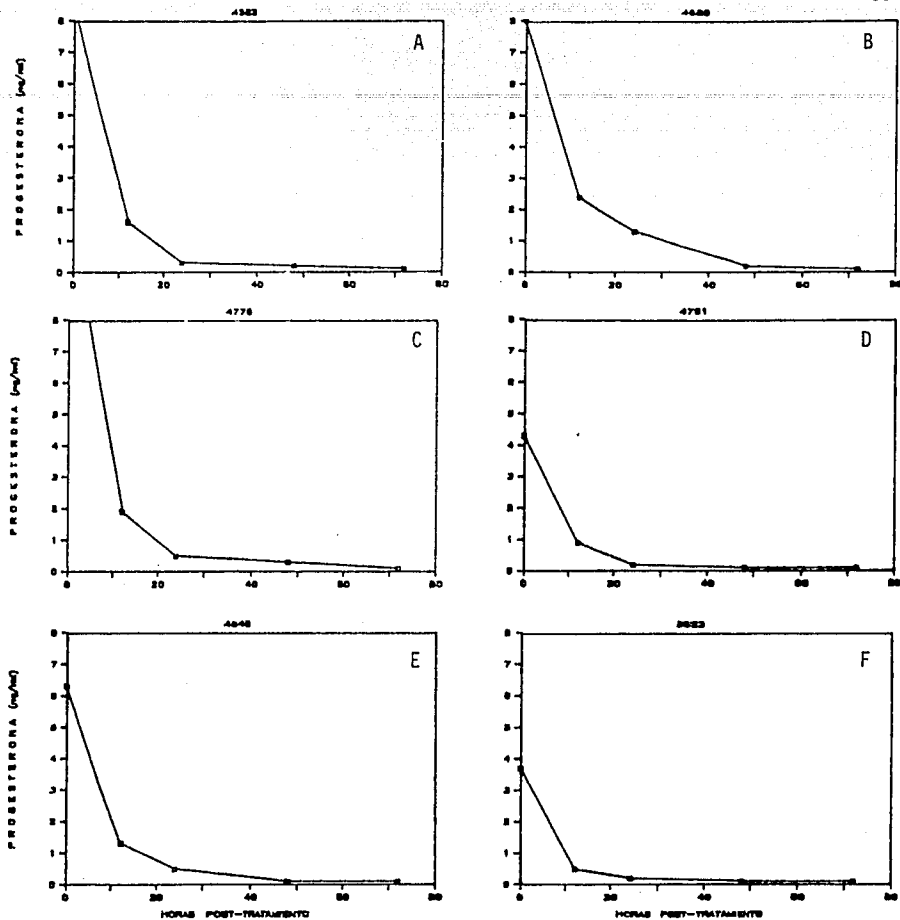


FIGURA 17. Niveles de progesterona después del tratamiento con 3.8 mg. de PGF2 alfa sintética (luprostiol) aplicado por vía vulvar en animales con luteólisis efectiva.

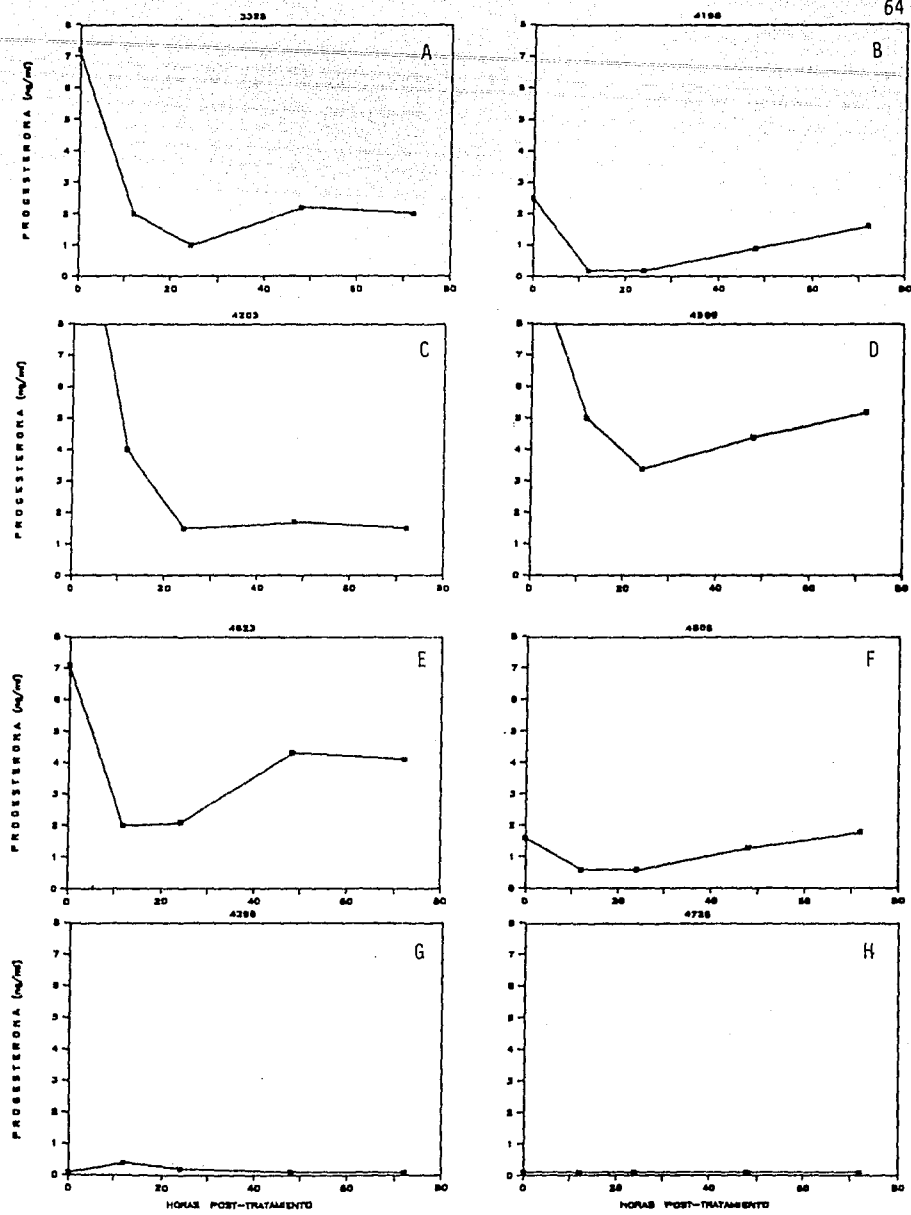


FIGURA 18. Niveles de progesterona después del tratamiento con 3.8 mg. de PGF2 alfa sintética (luprostiol) aplicado por vía vulvar en 6 sin luteólisis efectiva (A,B,C,D,E y F) y en 2 animales que no estaban en diestro al ser inyectados (G,H).

## 8. DISCUSION Y CONCLUSIONES

En este trabajo la precisión de la palpación rectal para detectar un cuerpo lúteo funcional fué de 90% y 87% respectivamente para los experimentos 1 y 2, comparándolos con niveles de progesterona plasmática mayores de 1 ng/ml al momento del tratamiento. Este resultado es muy similar al informado por Dawson (1975), quien obtuvo 89% de diagnósticos correctos de cuerpos lúteos en los ovarios de vacas, comparando 48 horas después al sacrificio. Guzmán (1989) encontró que entre un 4 y 9% de las vaquillas Holstein seleccionadas mediante palpación rectal por tener un cuerpo lúteo no tenían concentraciones de progesterona que confirmaron la presencia de un cuerpo lúteo funcional. Usando vacas Holstein adultas, Ortiz et al, (1986) encontraron que un 20% de los animales con un cuerpo lúteo palpable no tenían concentraciones de progesterona indicativos de tejido lúteo funcional, y señalan que los errores en la selección de las vacas son una causa importante de fallas en los programas de sincronización de estros con  $PGF_2\alpha$ . También Watson y Munro (1980) encontraron que solo un 85% de las vacas a las que se les encontró un cuerpo lúteo palpable tenían niveles de progesterona

plasmática en leche, indicativos de la presencia de tejido lúteo funcional. Ellos añadieron que aunque la técnica de palpación rectal es razonablemente precisa para detectar la presencia de tejido lúteo en los ovarios, sufre de limitaciones en la valoración del estado funcional de esas estructuras. Por su parte, Pathiraja et al. (1986) encontraron que solo el 77% de los cuerpos lúteos palpables fueron funcionales ( $P_4$  plasmática  $> 1$  ng/ml) y señalan además que el tamaño del cuerpo lúteo no puede servir como criterio para determinar su estado de desarrollo y capacidad funcional. En forma similar, Heinonen (1988) obtuvo solo 71% de precisión en el diagnóstico de cuerpo lúteo cuando la comparó con medición de progesterona en leche, y discute la confiabilidad del examen rectal como método para diagnosticar la ciclicidad y para evaluar la respuesta de la vaca al tratamiento con  $PGF_{2\alpha}$ . También, Plunkett (1984) dice que para una evaluación precisa de un cuerpo lúteo deben llevarse a cabo mediciones de progesterona sanguínea.

De todos estos resultados se deduce que cuando se seleccionan animales para ser sincronizados unicamente a través de la palpación rectal, entre un 10% y un 20% de ellos no responderán al tratamiento debido a que no tendrán un cuerpo lúteo funcional. Esto limita mucho el valor de las investigaciones que se han realizado sobre la vía intravulvosubmucosa de  $PGF_{2\alpha}$ , en las cuales no se ha confirmado mediante determinaciones de progesterona que las

vacas realmente tenían un cuerpo lúteo funcional al ser inyectadas (Córdova y Fraga, 1987; Córdova y Villa, 1988; Córdova et al., 1988).

Como era de esperarse, en el presente trabajo se encontró que cuando se administra  $\text{PGF}_2\alpha$  natural o sintética (luprostiol) en dosis completa por vía intramuscular en animales que están en diestro ( $\text{P}_4 > 1 \text{ ng/ml}$ ), las concentraciones de progesterona caen en forma brusca en las primeras 12 horas post-tratamiento y llegan a menos de 1 ng/ml dentro de las primeras 48 horas, manteniéndose en ese nivel después de las 72 horas post-tratamiento. Estos resultados son similares a los obtenidos por Seguin (1980), quien encontró que después de la aplicación de  $\text{PGF}_2\alpha$  natural o sintética (cloprostenol), los valores de progesterona plasmática decrecieron marcadamente dentro de las 12 horas post-tratamiento, y a las 24 se encontraban en el nivel basal. De la misma manera, Berardinelli y Adair (1989) observaron que en 24-32 horas después del tratamiento con una dosis luteolítica de  $\text{PGF}_2\alpha$  en vaquillas los niveles de progesterona plasmática caen a menos de 1 ng/ml. Otros autores han encontrado resultados similares (Renegar et al., 1978; Berhman, 1976; Hixon y Weston, 1980; Plata et al., 1989; kiracofe et al., 1988). Se considera entonces que la luteólisis inducida con una dosis completa de  $\text{PGF}_2\alpha$  es normal ya que Adeyemo (1987) encontró que los niveles de progesterona plasmática en vaquillas tratadas con la dosis

completa de  $PGF_2\alpha$  natural no difieren con los de los animales en donde la regresión ocurre en forma natural.

En este trabajo, todos los animales a los que se les aplicó la dosis completa por vía intramuscular respondieron con luteólisis efectiva, excepto en un animal tratado con luprostiol. Este animal tenía al momento del tratamiento más de 10 ng/ml de progesterona plasmática y por tanto un cuerpo lúteo completamente maduro, por lo que no se explica su falta de respuesta.

De los animales que recibieron tratamiento de  $PGF_2\alpha$  natural o sintética en dosis reducida por vía intravulvosubmucosa o vulvar, en algunos de ellos la dosis fué suficiente para producir una respuesta luteolítica similar a la de los animales tratados con la dosis completa aplicada por vía intramuscular, tal vez debido a que en ese momento su cuerpo lúteo era suficientemente maduro y con una captitud de receptores adecuado para responder al tratamiento con una dosis subóptima (Rao et al. ,1979). En cambio en otros animales tratados con dosis reducida solamente se produjo una luteólisis parcial, seguida en muchos casos por recuperación en las concentraciones de progesterona a los niveles previos al tratamiento.

En estos animales, que estaban en diestro al momento del tratamiento con dosis reducida de  $PGF_2\alpha$  natural o sintética, pero que no tuvieron luteólisis completa, se

observó que el tratamiento provocó una caída inicial en los valores de progesterona plasmática, sin llegar a producir luteólisis completa, elevándose posteriormente los valores de progesterona. Renegar et al. (1978) mencionan que en animales en los que se les administró una dosis no luteolítica, la progesterona sérica decreció de 5.5 a 3.3 ng/ml en forma transitoria, pero luego se incrementó en 24 horas a valores semejantes a los del inicio del tratamiento.

Las concentraciones de progesterona plasmática en animales que estaban en diestro pero que solo tuvieron una regresión parcial, manifestada como una caída inicial y posterior recuperación, son características de animales que reciben una dosis insuficiente de prostaglandina (Adeyemo, 1980), que produce una inhibición inicial del cuerpo lúteo, pero como es insuficiente la dosis, esta lisis no se completa y el cuerpo lúteo se recupera. Berardinelli y Adair, (1989) señalan que la administración de dosis menores a las recomendadas resultan en respuesta no deseada y más variable. Guzmán (1989) al aplicar  $PGF_2\alpha$  natural en varios puntos alrededor de los labios vulvares en dosis de 8 mg, obtuvo el 57% de luteólisis efectiva, encontrando además que no había diferencia en la respuesta luteolítica obtenida al aplicar la  $PGF_2\alpha$  en el labio vulvar ipsilateral o contralateral al cuerpo lúteo, por lo que podría ser que el medicamento llegara al ovario por vía sistémica sin utilizar la vía utero-ovarica para llegar al cuerpo lúteo como

algunos autores piensan (Chauhan et al. 1986; horta et al. 1986). En apoyo a lo anterior, Renegar et al.(1978) al aplicar 5 mg de  $PGF_{2\alpha}$  natural por vía intramuscular obtuvieron el 40% de respuesta luteolítica, que es similar a lo obtenido por Guzmán (1989) usando la vía vulvar. También Berardinelli y Adair(1989) en vaquillas tratadas con 5 mg de  $PGF_{2\alpha}$  natural obtuvieron el 29% de estros manifiestos, pero con 10 mg lograron el 70% de estros manifiestos en los animales tratados. Alberio et al. (1985) al aplicar  $PGF_{2\alpha}$  sintética (cloprostamol) en vaquillas obtuvieron la misma respuesta (100% de estros) en animales tratados con la mitad de la dosis (0.25 g) por vía intravulvosubmucosa que cuando se aplicó esta misma dosis por vía intramuscular.

En algunos animales tratados con dosis reducida por vía vulvar o intravulvosubmucosa, la prostaglandina no produjo ningún efecto sobre sus perfiles de progesterona plasmática post-tratamiento a pesar de que eran animales con niveles altos de progesterona plasmática, indicativos de que el cuerpo lúteo estaba perfectamente maduro.

En los animales que fueron tratados con cualquiera de los tratamientos del experimento 1 y 2, y que no estaban en diestro al ser tratadas, las dos tendencias observadas son explicables. Cuando en estos animales se observa la tendencia a la elevación en las concentraciones de progesterona plasmática post-tratamiento, tal vez sea debido



a que en el momento en que fueron palpados y tratados, el animal estaba en metaestro y con un cuerpo lúteo aún joven (4-5 días del ciclo) (Bartol, et al. 1981, Rao et al. 1981, Beal et al. 1980), momento en que aún es refractario al efecto de las prostaglandinas, por lo que después del tratamiento continúa incrementando en forma sostenida su producción de progesterona. En los animales que al ser tratados no tenían progesterona, y en los que las concentraciones de progesterona continuaron bajas durante las 72 horas post-tratamiento posiblemente se encontraban al final del proestro o inicio del metaestro.

En forma global en los dos experimentos, al comparar el número total de animales observados en estro (90) con el número total de animales que respondieron a los tratamientos (82), se observa que el 7.7% de los animales que presentaron estro no estaban en diestro al momento de inyectarse. Estos animales seguramente se encontraban en la etapa final del proestro al momento de ser tratados, por lo que iban a presentar estro de cualquier manera. Incluso, 2 de esos animales se inseminaron y resultaron gestantes. Esta es una de las razones por las que la efectividad de una determinada prostaglandina no debe basarse simplemente en la observación de calores, o en la fertilidad, ya que que animales que en realidad no tuvieron luteólisis se puede presentar estro.

Además, si ésta determinación se basa solo en la observación de calores (manifiestos y a la palpación rectal), como se muestra en el cuadro 3, no se observa diferencia entre los diferentes tratamientos, mientras que cuando se determina a través de las concentraciones de progesterona plasmática (cuadro 2) esta diferencia se hace aparente.

El resultado obtenido en la detección de calores manifiestos indica en buena medida la efectividad en la detección de estros bajo el régimen de observación continua durante 24 horas descrito por Martínez (1987). También es importante señalar que aún con la efectividad de este sistema de detección de calores, en un solo grupo se dejaron de observar la mayoría de los animales que sí respondieron al tratamiento y estaban en estro. Al evaluar la eficiencia de una prostaglandina basados solo en la detección de calores, con este tipo de errores podríamos sesgar los resultados.

Como era de esperarse, al inicio del tratamiento las concentraciones de progesterona plasmática no fueron diferentes entre los grupos, y es muy similar a lo reportado por otros autores (Adeyemo, 1987; Alberio et al., 1985; Bond et al., 1980; Peters, 1984). Sin embargo, conforme transcurrió el tiempo después de los tratamientos se observó que las concentraciones de progesterona eran menores en los animales tratados con la dosis completa de  $PGF_2\alpha$  comparados

con aquellos tratados con dosis reducidas. Esto es el resultado de la mayor efectividad luteolítica de las dosis completas.

En este trabajo se omitió el resultado de la fertilidad de los animales después de los diferentes tratamientos debido a los errores acumulados en la apreciación de los aspectos de precisión de la palpación rectal para determinar un cuerpo lúteo funcional, la respuesta del animal al tratamiento y la precisión en la detección de calores. Además el objetivo de este trabajo no fué medir la fertilidad derivada de estos tratamientos, sino la respuesta luteolítica de ellos.

Algunos autores han especulado (Gallegos et al. 1988) que en vacas tratadas con 10 mg de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  natural, la luteólisis solo se produce en animales que poseen un cuerpo lúteo pequeño, pero en el presente trabajo se encontró que, al menos desde el punto de vista funcional, los animales que responden al tratamiento con dosis reducida tenían en promedio niveles de progesterona plasmática iguales o mayores que los que no respondieron.

Esto indica que desde el punto de vista funcional los cuerpos lúteos de los animales que respondieron a los tratamientos con dosis reducida de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  son muy similares a los de los animales que no respondieron, por lo que la causa de la falla en la luteólisis de algunos animales no obedecen a diferencias en la funcionalidad del cuerpo lúteo, sino

posiblemente a otros factores, como sensibilidad intrínseca del animal a la droga, o eficiencia en el transporte de  $\text{PGF}_2\alpha$  desde la región vulvar hacia el ovario.

Los resultados del presente trabajo demuestran que la administración de dosis reducida de  $\text{PGF}_2\alpha$  natural o sintética por la vía vulvar o intravulvosubmucosa no es una opción práctica para el manejo reproductivo del bovino lechero ya que el grado de eficiencia luteolítica alcanzado es considerablemente menor al que se obtiene cuando se utiliza la dosis completa por vía intramuscular.

La mayoría de los trabajos que concluyen lo contrario (Ono et al., 1982; Chauhan et al., 1986; Horta, et al., 1986; Córdoba y Fraga 1987; Córdoba y Villa, 1988; Córdoba et al., 1988) no han realizado una adecuada evaluación de la luteólisis, sino que han utilizado criterios que no miden directamente el efecto de la  $\text{PGF}_2\alpha$  y si están en cambio sujetos a numerosas fuentes de variación ajenas a la eficiencia de la prostaglandina.

## LITERATURA CITADA

- 1.-Adeyemo, O. and Heath, E.: Plasma progesterone concentration in Bos taurus and Bos indicus heifers. Theriogenology, **14**: 411-420 (1980).
- 2.-Adeyemo, O.: Plasma concentration of progesterone during normal estrous cycles and following prostaglandin F<sub>2α</sub> treatment of Bos indicus and tropic-adapted Bos taurus heifers. Theriogenology, **27**: 759-768 (1987).
- 3.-Alberio, R.H., Buttler, H.M., Schiersmann, G.C.S., Tortonese, D. y Torquati, O.: Luteólisis inducida por un agente luteolítico en dosis reducida. Revista Argentina de Producción Animal, **5**: 467-472 (1985).
- 4.-Alwachi, S.N., Bland, K.P. and Poyser, N.L.: Additional pathway of transfer uterine prostaglandin F<sub>2α</sub> to the ovary in sheep. J. Reprod. Fert., **61**: 197-200 (1981).
- 5.-Babcock, J.C. and Hansel, W.: Luteotrophic and luteolytic mechanisms in bovine corpora lutea. J. Reprod. Fert. Suppl., **1**: 47 (1966).
- 6.-Bartol, F. F., Thatcher, W. W., Bazer, F. W., Kimball, F. A., Chenault J.R., Wilcox, C.J. and Roberts, R.M.: Effects of the estrous cycle and early pregnancy on bovine uterine, luteal and follicular responses. Biol. Reprod., **25**: 759-776 (1981).
- 7.-Basu, S. and Kindahl, H.: Prostaglandin biosynthesis and its regulation in the bovine endometrium: A comparison between nonpregnant and pregnant status. Theriogenology, **28**: 175-193 (1987).
- 8.-Beal, W.E., Milvae, R.A. and Hansel, W.: Oestrous cycle length and plasma progesterone concentrations following administration of prostaglandin F<sub>2α</sub> early in the bovine oestrous cycle. J. Reprod. Fert., **59**: 393-396 (1980).
- 9.-Behrman, H.R., Grinwich, D.L. and Hichens, M.: Studies on the mechanism of PGF<sub>2α</sub> and gonadotropin interactions on LH receptor function in corpora lutea during luteolysis. Advances in Prostaglandins and Thromboxane Research, **2**: 655-665 (1976).
- 10.-Berardinelli, J. G. and Adair, R.: Effect of prostaglandin F<sub>2α</sub> dosage and stage of estrous cycle on the estrous response and corpus luteum function in beef heifers. Theriogenology, **32**: 301-314 (1989).

11.-Betteridge, K.J., Sudgen, E.A. and Eaglesome, M.E.: Synchronization of estrus and ovulation in cattle with the prostaglandin analogue AY 24655. Can. J. Anim.Sci., 57: 23-32 (1977).

12.-Bond, G.C., Archbald, L.F. and Godke, R.A.: The effect of minimal dose levels of  $PGF_2\alpha$  (tham) and cloprostenol (ici-80,996) given intravenously to cycling heifers. Theriogenology, 13: 88 (1980).

13.-Bourne, G.R.: A review of metabolism and clearance studies with 14-C-cloprostenol in the cow. Acta Vet. Escand. Suppl., 77: 5-9 (1981).

14.-Buhr, M.M., Carlson, J.C. and Thompson, J.E.: A new perspective on the mechanism of corpus luteum regression. Endocrinology, 105: 1330-1335 (1979).

15.-Butler, H.M., Alberio, R.H., Schiersmann, G.C.S., Torquati, O. y Barragán, M.: Sincronización de celos con dos agentes luteolíticos en dosis reducidas en vacas secas y vaquillonas en rodeos comerciales. Revista Argentina de Producción Animal, 5: 473-477 (1985).

16.-Chauhan, F.S., Mgongo, F.O.K., Kessy, B.M. and Gombe, S.: Effects of intravulvo-submucosal cloprostenol injections on hormonal profiles and fertility in subestrous cattle. Theriogenology, 26: 69-75 (1986).

17.-Córdova, S.A. y Fraga, E.E.: Sincronización del estro con dosis reducidas de  $PGF_2\alpha$  aplicadas por vía submucosa intravulvar. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-INIFAP. México, D.F., 365-366 (1987).

18.-Córdova, S. L. A. y Castro, G. E.: Utilización de cloprostenol, dinoprost y luprostiol por vía submucosa intravulvar para sincronizar el estro en vaquillas holstein. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-INIFAP. México, D.F., 119 (1988).

19.-Córdova, S.L.A. y Villa, G.A.: Administración de dosis reducidas de luprostiol por vía submucosa intravulvar para sincronizar el estro en vaquillas Holstein. Memorias de Investigación Pecuaria en México. UNAM-INIFAP. México, D.F., 120 (1988).

20.-Córdova, S.L.A., Villa, G.A., Jiménez, K.F. y Flores, L.R.: Aplicación de dosis mínimas de luprostiol por vía submucosa intravulvar ipsilateral o contralateral al cuerpo lúteo. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-INIFAP. México, D.F., 120 (1988).

- 21.-Dawson, F.L.M.: Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of ovarian function in the cow. Vet. Rec., **96**: 218-220 (1975).
- 22.-Einer-Jensen, N. and McCracken, J.M.: The transfer of progesterone in the ovarian vascular pedicle of the sheep. Endocrinology, **109**: 685-690 (1981).
- 23.-Etherington, W.E., Kilmer, B.A., Burke, J.E., Montgomery, M.E. and Wilson, D.C.: Pregnancy rates related to stage of estrous cycle at prostaglandin treatment in a embryo transfer recipient herd. Theriogenology, **25**: 845-854 (1986).
- 24.-Fairclough, R.J., Smith, J.F. and McGowan, L.T.: Prolongation of the oestrous cycle in cows and ewes after passive immunization with PGF antibodies. J. Reprod. Fert., **62**: 213-219 (1981).
- 25.-Fitz, T.A., Mayan, M.H., Sawyer, H.R. and Niswender, G.D.: Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum. Biol. Reprod., **27**: 703-711 (1982).
- 26.-Ford, S.P., Weems, C.W., Pitts, R.E., Pexton, J.E., Butcher, R.L. and Inskeep, E.K.: Effects of estradiol 17 $\beta$  and progesterone on prostaglandins F in sheep uteri and uterine venous plasma. J. Anim. Sci., **41**: 1407-1413 (1975).
- 27.-Gallegos, J., Guajardo, I., Molina, V., Gómez, G, Sánchez, T. y García-Winder, M.: Cambios en las concentraciones de progesterona (P4) después de la administración de diferentes dosis de PGF $_2\alpha$  en vacas Holstein. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-INIFAP. México, D.F., 116 (1988).
- 28.-Ginther, O.J.: Internal regulation of physiological processes through local venoarterial pathways: A review. J. Anim. Sci., **39**: 550-564 (1974).
- 29.-Ginther, O.J.: Local versus systemic utero-ovarian relationship in farm animals. Acta Vet. Scand. Suppl., **77**: 103-115 (1981).
- 30.-Ginther, O.J. and Del Campo, H.C.: Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus : Cattle. Am. J. Vet. Res., **35**: 193 (1974).
- 31.-Graves, R.L., Lutz, R.G., Riesen, J.W., Hoagland, T.A. and Woody, C.O.: Factors influencing estrus and conception in dairy heifers after prostaglandin F $_2\alpha$ . Theriogenology, **23**: 733-742 (1985).

- 32.-Guay, P., Rieger, D. and Roberge, S.: Superovulatory and endocrine responses in Holstein heifers treated with either prostaglandin  $F_{2\alpha}$ , cloprostenol or fenprostalene. Theriogenology, 29: 1193-1199 (1988).
- 33.-Guzmán, G. R.: Efecto luteolítico de una dosis reducida de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  aplicada por vía vulvar en ganado Holstein. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zootec. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1989.
- 34.-Hafs, H.D. and Manns, J.G.: Onset of oestrus and fertility of dairy heifers and suckled beef cows treated with prostaglandin  $F_{2\alpha}$ . Anim. Prod., 21: 13-20 (1975).
- 35.-Heap, R.B., Fleet, I.R. and Hamon, M.: Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  is transferred from the uterus to the ovary in the sheep by lymphatic and blood vascular pathways. J. Reprod. Fert., 74: 645-656 (1985).
- 36.-Henricks, D.M., Long, J.T., Hill, J.R. and Dickey, J.F.: The effect of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  during various stages of the oestrous cycle of beef heifers. J. Reprod. Fert., 41: 113-120 (1974).
- 37.-Herschler, R.C., Peltier, L.S., Duffy, J. and Kushinsky, S.: Effect of fenprostalene, a  $PGF_{2\alpha}$  analogue, on plasma levels of estradiol- $17\beta$  and progesterone in cyclic heifers. Theriogenology, 25: 463-472 (1986).
- 38.-Hixon, J.E., Pijanowski, G.J., Weston, P.G., Shanks, R.D. and Wagner, W.C.: Evidence for an oscillator other than luteinizing hormone controlling the secretion of progesterone in cattle. Biol. Reprod., 29: 1155-1162 (1983).
- 39.-Horta, A.E.M., Costa, C.M.S.G., Robalo Silva, J. and Rios Vasques, M.I.: Possibility of reducing the luteolytic dose of cloprostenol in cyclic dairy cows. Theriogenology, 25: 291-301 (1986).
- 40.-Inskeep, E.K.: Potential uses of prostaglandins in control of reproductive cycles of domestic animals. J. Anim. Sci., 36: 1149-1157 (1973).
- 41.-Kindahl, H.: Prostaglandin biosynthesis and metabolism. J. A. V. M. A., 176: 1173-1177 (1980).
- 42.-Kindahl, H., Granström, E., Edqvist, L.E. and Eneroth, P.: Prostaglandin levels in peripheral plasma during reproductive cycle. Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research., 2: 665-671 (1976).
- 43.-Kindahl, H., Lindell, J.O. and Edqvist, L.E.: Release of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  during the oestrous cycle. Acta Vet. Scand. Suppl., 77: 143-158 (1981).



- 44.-Kiracofe, G.H., Wright, J.M. and Newby, T.J.: Reproductive characteristics of cyclic beef heifers treated with the prostaglandin analog luprostirol. Theriogenology, 30: 931-936 (1988).
- 45.-Kurzrok, R. and Lieb, C.C.: Biochemical studies of human semen. II. The action of semen in human uterus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 28: 268-293 (1930).
- 46.-Lamond, D.R. and Drost, M.: Blood supply to the bovine ovary. J. Anim. Sci., 38: 106-112 (1974).
- 47.-Land, R.B., Baird, D.T. and Scaramuzzi, R.J.: Dynamic studies of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  in the utero-ovarian circulation of the sheep. J. Reprod. Fert., 47: 209-214 (1976).
- 48.-Lauderdale, J.W.: The use of prostaglandins in cattle. Ann. Biol. Bioch. Biophys., 15: 419-425 (1975).
- 49.-Louis, T.M., Hafs, H.D. and Morrow, D.A.: Intrauterine administration of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  in cows, progesterone, estrogen, LH, estrus and ovulation. J. Anim. Sci., 38: 347-353 (1974).
- 50.-Louis, T.M., Hafs, H.D. and Stellflug, J.N.: Control of ovulation, fertility and endocrine response after prostaglandin  $F_{2\alpha}$  in cattle. Ann. Biol. Bioch. Biophys., 15: 407-417 (1975).
- 51.-Martínez, A.J.L., Porras, A.A., Zarco, Q.L. y Sagardía, R.J.: Evaluación de la eficiencia y la precisión en la detección de estro en vaquillas Holstein. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-INIFAP. México, D.F., 125 (1987).
- 52.-McCracken, J.A.: The identification of  $PGF_{2\alpha}$  as a uterine luteolytic hormone and the hormonal control of its synthesis. Acta Vet. Scand. Suppl., 77: 71-88 (1981).
- 53.-McCracken, J. A.: Update on luteolysis - receptor regulation of pulsatile secretion of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  from the uterus. Research in Reproduction, 16: 1-2 (1984).
- 54.-McCracken, J.A., Carlson, J.C., Glew, M.E., Goding, J.R., Baird, D.T., Green, K. and Samuelsson, B.: Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  identified as a luteolytic hormone in sheep. Nature New Biology, 238: 129-134 (1972).
- 55.-Moore, N.W.: The use of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  given by either intrauterine infusion or by intramuscular injection for the control of oestrus and ovulation in cattle. Ann. Biol. Bioch. Biophys., 15: 451-460 (1975).

- 56.-Nkuuhe, J.R. and Manns, J.G.: Relationship between time of prostaglandin injection and ovulation in beef cattle. Can. J. Anim. Sci., **65**: 405-409 (1985).
- 57.-Ono, H., Fukui, Y., Terawaki, Y., Ohboshi, K. and Yamazaki, D.: An intravulvosubmucous injection of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  in anoestrus cows. Anim. Reprod. Sci., **5**: 1-5 (1982).
- 58.-Orihuela, T.J.A.: La conducta estral en la vaca Indobrasil. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zootec. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1985.
- 59.-Ortiz, G.O., Zarco, Q.L. y Suárez, L.: Estudio sobre los factores que afectan los resultados de la inducción de estros con  $PGF_{2\alpha}$ . Memorias de la Reunión de investigación Pecuaria en México. UNAM.-INIFAP. México, D.F., 117 (1986).
- 60.-Pang, C. Y. and Behrman, R.: Acute effects of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  on ovarian and luteal blood flow, luteal gonadotropin uptake in vivo, and gonadotropin binding in vitro. Endocrinology, **108**: 2239-2244 (1981).
- 61.-Pathiraja, N., Oyedipe, E.O., Vohjr, A.A. and Dawuda, P.M.: Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of corpora lutea in zebu cows. Br. Vet. J., **142**: 467-471 (1986).
- 62.-Peter, A.T., Bosu, W.T.K., Liptrap, R.M. and Cummings, E.: Temporal changes in serum prostaglandin  $F_{2\alpha}$  and oxytocin in dairy cows with short luteal phases after the first postpartum ovulation. Theriogenology, **32**: 227-284 (1989).
- 63.-Peters, A. R.: Luteolysis in cows using the prostaglandin  $F_{2\alpha}$  analogue, tiaprost, and the effect of the mode of administration. Vet. Rec., **114**: 418-421 (1984).
- 64.-Pharris, B.B. and Wyngarden, L.J.: The effect of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  on the progesterone content of ovaries of pseudopregnant rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **103**: 92-94 (1969).
- 65.-Piper, P.J., Vane, J.R. and Wyllie, J.H.: Inactivation of prostaglandins by the lungs. Nature, **225**: 600-604 (1970).
- 66.-Plata, N.I., Spitzer, J.C., Henricks, D.M., Thompson, C.E., Pyle, B.B. and Newby, T.J.: Endocrine, estrous and pregnancy response to varying dosages of luprostiol in beef cows. Theriogenology, **31**: 801-812 (1989).
- 67.-Plunkett, S.S., Stevenson, J.S. and Call, E.P.: Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  for lactating dairy cows with palpable corpus luteum but unobserved estrus. J. Dairy Sci., **67**: 380-387 (1984).

- 68.-Pulido, A.A.R.: Establecimiento de la metodología para el manejo óptimo de muestras de sangre y leche de ganado cebú (Bos indicus) destinadas a la determinación de progesterona por medio de Radioinmunoanálisis. Tesis de maestría. Fac. de Med. Vet. y Zootec. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1989.
- 69.-Rajamahendran, R., Robinson, J., Desbottes, J. and Walton, J.S.: Temporal relationships among estrus, body temperature, milk yield, progesterone and luteinizing hormone levels and ovulation in dairy cows. Theriogenology, 31: 1173-1182 (1989).
- 70.-Rao, Ch.V., Estergreen, V.L., Carman, F.R. and Moss, G.E.: Receptors for gonadotrophin and prostaglandin F<sub>2α</sub> in bovine corpora lutea of early, mid and late luteal phase. Acta Endocrinologica, 91: 529-537 (1979).
- 71.-Refsal, K.R. and Seguin, B.E.: Effect of stage of diestrus and number of cloprostenol (ici 80,996) injections on interval to estrus, LH peak and ovulation in heifers. Theriogenology, 14: 37-48 (1980).
- 72.-Renegar, R.H., Hafs, H.D., Britt, J.H. and Carruthers, T.D.: Luteolysis, growth hormone, glucocorticoids, prolactin and milk production in lactating dairy cows given prostaglandin F<sub>2α</sub>. J. Anim. Sci., 47: 532-537 (1978).
- 73.-Roberts, J.S., McCracken, J.A., Gavagan, J.E and Soloff, M.S.: Oxytocin-stimulated release of prostaglandin F<sub>2α</sub> from ovine endometrium in vitro: Correlation with estrous cycle and oxytocin-receptor binding. Endocrinology, 99: 1107-1114 (1976).
- 74.-Roche, J. F.: Fertility in cows after treatment with a prostaglandin analogue with or without progesterone. J. Reprod. Fert., 46: 342-345 (1976).
- 75.-Rowson, L.E.A., Tervit, R. and Brand, A.: The use of prostaglandins for synchronization of oestrus in cattle. J. Reprod. Fert., 29: 145-156 (1972).
- 76.-Seguin, B.E.: Role of prostaglandins in bovine reproduction. J. A. V. M. A., 176: 1178-1181 (1980).
- 77.-Shultz, R.H.: Experiences and problems associated with usage of prostaglandins in countries other than the United States. J. A. V. M. A., 176: 1182-1186 (1980).
- 78.-Silvia, W.J., Fitz, T.A., Mayan, M.H. and Niswender, G.D.: Cellular and molecular mechanisms involved in luteolysis and maternal recognition of pregnancy in the ewe. Anim. Reprod. Sci., 7: 57-74 (1984).

- 79.-Soto, C.E. y Gortari, M.: Acción de tiaprost (Iliren) sobre cuerpos luteos en bovinos de carne en diferentes dosis y vías de aplicación. Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay, 28-30 (1986).
- 80.-Srikandakumar, A., Ingraham, R.H., Ellsworth, M., Archald, L.F., Liao, A. and Godke, R.A.: Comparison of solid-phase, no-extraction radio immunoassay for progesterone with an extraction assay for monitoring luteal function in the mare, bitch, and cow. Theriogenology, 26: 779-793 (1986).
- 81.-Stabenfeldt, G.H., Huges, J.P., Neely, D. P., Kindahl, H., Edqvist, L. E. and Gustafsson, B.: Physiologic and pathophysilogic aspects of prostaglandin  $F_2\alpha$  during the reproductive cycle. J.A.V.M.A., 176: 1187-1194 (1980).
- 82.-Stellflug, J.N., Louis, T.M., Hafs, H.D. and Seguin, B.E.: Luteolysis, estrus and ovulation and blood prostaglandin  $F_2\alpha$  after intramuscular administration of 15, 30 o 60 mg prostaglandin  $F_2\alpha$ . Prostaglandins, 9: 609-615 (1975).
- 83.-Strandberg, K.: Some aspects on the pharmacology of prostaglandins. Acta Vet. Scand. Suppl., 77: 39-45 (1981).
- 84.-Tervit, H.R., Rowson, L.E. and Brand, A.: Synchronization of estrus in cattle using a prostaglandin  $F_2\alpha$  analogue (ici 79939). J. Reprod. Fert., 34: 179-181 (1973).
- 85.-Thorburn, G.D., Cox, R.I., Currie, W.B., Restall, B.J. and Schneider, W.: Prostaglandin F concentration in the utero-ovarian venous plasma of the ewe during the oestrous cycle. Endocrinology, 53: 325-326 (1972).
- 86.-Thorburn, G.D. and Nicol, D.H.: Regression of the ovine corpus luteum after infusion of prostaglandin  $F_2\alpha$  into the ovarian artery and uterine vein. J. Endocrinology, 51: 785-786 (1971).
- 87.-Tomlimson, R.V., Spires, H.R. and Bowen, J.L.: Absorption and elimination of a prostaglandin F analog, fenprostalene, in lactating dairy cows. J. Dairy Sci., 68: 2072-2077 (1985).
- 88.-Turner, T.B., Peterson, G.A., Davis, M.E., Wilson, G.R., Irvin, K.M. and Forry, J.T.T.: Synchronization of estrus in beef cows and heifers with fenprostalene, cloprostenol sodium and prostaglandin  $F_2\alpha$ . Theriogenology, 28: 15-24 (1987).
- 89.-Wakeling, A. E. and Green, L. J.: Corpus luteum prostaglandin receptors and luteolysis. Acta Vet. Scand. Suppl., 77: 131-142 (1981).

90.-Walpole,A.L.: Characteristics of prostaglandins. Ann. Biol. Bioch. Biophys., 15: 389-406 (1975).

91.-Wexton, P.G. and Hixon, J.E.: Effects of in vivo prostaglandin  $F_2\alpha$  administration on in vitro progesterone synthesis by bovine corpora lutea. Biol. Reprod., 22: 259-268 (1980).

92.-Wilson, L., Cenedella, R. J., Butcher, R.L. and Inskeep, E.K.: Levels of prostaglandins in the uterine endometrium during the ovine estrous cycle. J. Anim. Sci., 34: 93-99 (1972).

93.-Wolfenson,D., Thatcher,W.W., Drost,M., Caton,D., Foster, D.B. and LeBlanc,M.M.: Characteristics of prostaglandin F measurements in the ovarian circulation during the oestrous cycle and early pregnancy in the cow. J. Reprod. Fert., 75: 491-499 (1985).

94.-Zarco, Q. L., Stabenfeldt, G. H., Quirke, J. F., Kindahl, H. and Bradford,G.E.: Release of prostaglandin  $F_2\alpha$  and the timing of events associated with luteolysis in ewes with oestrous cycles of different lengths. J. Reprod. Fert., 83: 517-526 (1988).