

01669
2e,
1-A



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
División de Estudios de Posgrado



**EFFECTO LUTEOLITICO DE UNA DOSIS REDUCIDA
DE PROSTAGLANDINA F2 ALFA APLICADA
POR VIA VULVAR EN GANADO HOLSTEIN.**

T E S I S

Que para obtener el grado de:
MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL

P r e s e n t a :

ROBERTO GUZMAN GARCIA

México, D. F.

1989





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.

DATOS BIOGRAFICOS

El autor nació en la Ciudad de Bogotá, Colombia, el 20 de agosto de 1961. Cursó estudios de primaria, secundaria y bachillerato en el Colegio San Carlos de Bogotá. Ingresó a la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de La Salle en Bogotá, en donde cursó hasta el sexto semestre de la carrera. Estos estudios fueron revalidados por la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana en Veracruz, México, en donde obtuvo el título de Médico Veterinario Zootecnista en 1987.

El mismo año ingresó al programa de Maestría en Producción Animal (Reproducción) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. La presente investigación fue realizada para obtener el título de Maestro en esta área de especialidad.

LISTA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION DE LA LITERATURA.....	4
2.1 La relación uteroovárica.....	4
2.2 Identificación de la prostaglandina F _{2α} como el agente luteolítico.....	8
2.3 Características de las prostaglandinas.....	10
2.4 Control de la secreción de prostaglandinas.....	12
2.5 Las prostaglandinas para la sincronización del estro en bovinos.....	15
2.6 El uso de dosis reducidas de prostaglandinas aplicadas por vía alterna.....	19
III. MATERIAL Y METODOS.....	25
3.1 Animales y localización.....	25
3.2 Diseño experimental.....	25
3.3 Métodos y técnicas.....	26
3.4 Parámetros evaluados.....	28
3.5 Análisis estadístico.....	28
IV. RESULTADOS.....	29
4.1 Cuadros.....	33
4.2 Figuras.....	37
V. DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	52
VI. LITERATURA CITADA.....	60

LISTA DE CUADROS

<u>Cuadro</u>	<u>Página</u>
1. Efecto del tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$ sobre la inducción de la luteólisis.....	33
2. Efecto del tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$ sobre la concentración promedio de P_4 (ng/ml) en todos los animales tratados.....	33
3. Efecto del tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$ sobre la presentación de estros manifiestos y silenciosos en relación al total de animales tratados.....	34
4. Efecto del tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$ sobre el intervalo a la luteólisis.....	34
5. Efecto del tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$ sobre la inducción de estros en animales con luteólisis.....	35
6. Efecto del tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$ sobre el intervalo al estro manifiesto.....	35
7. Efecto del tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$ sobre la concentración promedio de P_4 (ng/ml) en animales con luteólisis.....	36

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>	<u>Página</u>
1-3. Niveles de progesterona después del tratamiento con 25 mg de PGF ₂ α aplicada por vía intramuscular.....	37-39
4-6. Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF ₂ α aplicada por vía vulvar, ipsilateral al cuerpo lúteo.....	40-42
7-9. Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF ₂ α aplicada por vía vulvar, contralateral al cuerpo lúteo.....	43-45
10-12. Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF ₂ α aplicada sobre la comisura dorsal de los labios vulvares.....	46-48
13-15. Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF ₂ α aplicada inferior a la comisura ventral de los labios vulvares.....	49-51

RESUMEN

GUZMAN GARCIA ROBERTO. Efecto luteolítico de una dosis reducida de prostaglandina $F_2\alpha$ aplicada por vía vulvar en ganado Holstein. (Bajo la dirección de Luis Zarco Q., Oscar Ortiz G. y Victor Lima T.).

Se seleccionaron 47 vaquillas y 60 vacas Holstein clínicamente sanas y que tuvieran un cuerpo lúteo (CL) funcional a la palpación rectal. Los animales se asignaron aleatoriamente a cinco grupos conformados equitativamente por animales jóvenes y adultos: Grupo 1 (n=18): aplicación de 25 mg de $PGF_2\alpha$ por vía intramuscular (i.m.). Grupo 2 (n=25): aplicación de 8 mg de $PGF_2\alpha$ a un costado del labio vulvar ipsilateral al CL. Grupo 3 (n=21): aplicación de 8 mg de $PGF_2\alpha$ a un costado del labio vulvar contralateral al CL. Grupo 4 (n=23): aplicación de 8 mg de $PGF_2\alpha$ sobre la comisura dorsal de los labios vulvares. Grupo 5 (n=20): aplicación de 8 mg de $PGF_2\alpha$ bajo la comisura ventral de los labios vulvares. Se colectaron muestras de sangre antes de aplicar la $PGF_2\alpha$ (0 hrs), y a las 12, 24, 48, y 72 hrs después del tratamiento, suspendiéndose antes el muestreo si el animal presentaba estro. Se determinaron niveles de progesterona (P4) en estas muestras mediante radioinmunoanálisis en fase sólida. Los animales que a las 72 hrs post-tratamiento no habían manifestado estro, se sometieron a examen rectal para detectar tono uterino, moco uterino, y desarrollo folicular.

Los animales que no presentaron ningún signo de estro a la palpación rectal continuaron en observación hasta las 120 hrs post-tratamiento.

De los animales del grupo 1 el 94% sufrieron una luteólisis efectiva (niveles de P4 menores a 1 ng/ml a las 48 hrs post-tratamiento), respuesta mayor ($p < 0.05$) a la alcanzada con los tratamientos vulvares, en los que la respuesta varió entre 42 y 56%. El tratamiento intramuscular con la dosis completa fue más eficiente ($p < 0.05$) en la inducción de estros (88.2%) comparado con los tratamientos vulvares, en los que sólo presentaron estros entre el 36 y 52% de los animales. El intervalo a la luteólisis fue en promedio de 35.6 hrs, y el intervalo al estro manifiesto fue de 64.6 ± 16.3 hrs en promedio para todos los animales de los 5 grupos. Es posible que la dosis reducida haya resultado insuficiente, sin embargo, el hecho de que algunos animales hayan respondido parece indicar que existe un umbral de sensibilidad a la $PGF_{2\alpha}$, el cual de ser alcanzado resulta en una luteólisis completa. Por el contrario, si no se alcanza el umbral resulta en una luteólisis parcial, o en una falta total de respuesta. La aplicación vulvar resultó muy práctica y no hubo ningún tipo de respuesta inflamatoria en el punto de la inyección, sin embargo, su baja efectividad en la inducción de la luteólisis y el estro no permiten recomendarla como un método de manejo reproductivo.

I. INTRODUCCION

La prostaglandina F2 alfa ($PGF_2\alpha$) y sus análogos se han utilizado en los bovinos para el control del ciclo reproductivo, dado su efecto de sincronización del estro (King y Robertson, 1974; Macmillan y Day, 1982; Rowson et al., 1972). Las prostaglandinas ocasionan una regresión morfológica y funcional del cuerpo lúteo (CL) cuando se administran entre los días 5 y 15 del ciclo estral (Inskeep, 1973; Louis et al., 1975). La regresión del CL se traduce en la presentación del estro entre las 48 y 96 horas después del tratamiento, dependiendo del tipo de prostaglandina (natural o sintética), de la dosis, y de la vía de administración (Inskeep, 1973; Moore, 1975; Rowson et al., 1972).

La aplicación intramuscular de la $PGF_2\alpha$ natural en dosis de 25 mg se ha establecido como un tratamiento usual para la sincronización del estro (Louis et al., 1975; Macmillan y Day, 1982; Plunkett et al., 1984; Stellflug et al., 1975). Sin embargo, el costo del tratamiento ha motivado la investigación sobre vías alternas de aplicación utilizando dosis reducidas. Desde hace varios años se probó la aplicación intrauterina de dosis entre 1 y 5 mg de $PGF_2\alpha$, ya sea inyectada en el cuerno uterino a través de la pared, o bien, depositándola en el cuerno uterino con una pipeta de inseminación artificial (Inskeep, 1973; Louis et al., 1972; Moore, 1975). Con esta forma de aplicación se obtiene un buen porcentaje de estros, sin embargo resulta poco práctica para ser utilizada rutinariamente en programas de sincronización, además de causar una incidencia elevada de

infecciones uterinas (Inskeep, 1973). También se ha probado la aplicación de la $\text{PGF}_2\alpha$ en el fornix de la vagina, encontrándose que a pesar de ser una vía local, para obtener un buen resultado se requieren dosis similares a las usadas por vía intramuscular. (Louis et al. 1975).

Recientemente se han realizado una serie de trabajos utilizando la $\text{PGF}_2\alpha$ y sus análogos en dosis reducidas aplicadas por la vía intravulvosubmucosa (Alberio et al., 1987; Chauhan et al., 1987; Córdova y Fraga, 1987; Córdova y Castro 1988; Córdova et al., 1988; Córdova y Villa, 1988; Horta et al., 1986; Ono et al., 1982), encontrándose generalmente resultados positivos. Sin embargo, la mayoría de estos trabajos se han limitado a la observación de signos de estro y palpación rectal, y no se han realizado mediciones seriadas de progesterona (P4) para comprobar la presencia de un CL funcional antes del tratamiento, así como la luteólisis efectiva como resultado de la inyección. Como lo indican Watson y Munro (1981), es muy difícil evaluar el estado fisiológico del CL al determinar por palpación rectal su tamaño y consistencia, a no ser que se trate de un CL de consistencia dura, que en promedio ya no será funcional. También es importante medir la concentración P4 a intervalos frecuentes después del tratamiento, ya que se debe conocer su curva de caída. Cualquier recuperación momentánea en la curva indicaría que la subsiguiente disminución es por efecto de la prostaglandina endógena y no de la exógena (McCracken, 1984).

La P4 debe disminuir en un 50% en las primeras 12 hrs después de aplicar una dosis efectiva de $\text{PGF}_2\alpha$, y debe llegar a niveles menores de 1 ng/ml a las 48 hrs post-tratamiento (King et al., 1982; Lauderdale, 1975; MacMillan y Henderson, 1983). Por esta razón es conveniente tomar muestras de sangre antes del tratamiento (0 hrs), así como a las 12, 24, 48, y 72 hrs para monitorear la caída de P4. Este régimen de muestreo será igualmente efectivo para verificar si aquellos animales que no muestran estro conductual, pero que a la palpación rectal muestran indicios de estar en estro (moco uterino, tono uterino, y desarrollo folicular) realmente han llegado a lisar el CL (Ortiz et al., 1986)

Adicionalmente, la falta de conocimientos precisos sobre las características del drenaje vascular del área vulvar, hacen preciso evaluar el efecto de la inyección aplicada en el labio vulvar ipsilateral o contralateral al CL, o en un punto medio dorsal a la comisura superior, o ventral a la comisura inferior de los labios vulvares respectivamente. Además, los inconvenientes de la inyección intravulvo submucosa (Córdova y Fraga, 1987) nos llevan a probar la aplicación de la $\text{PGF}_2\alpha$ desde el exterior de los labios vulvares.

El objetivo de este trabajo es evaluar, mediante mediciones seriadas de progesterona, palpación rectal y detección de signos de estro, el efecto luteolítico de una dosis de 8 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ aplicada por vía vulvar, comparando cuatro puntos de inyección alrededor de los labios vulvares en vaquillas y vacas de la raza Holstein.

II. REVISION DE LA LITERATURA

2.1 La relación uteroovárica

La importancia del útero en el control de la regresión del cuerpo lúteo (CL) fue demostrada por primera vez por Loeb (1923), quien observó que la histerectomía provocaba la persistencia anormal del CL en cobayos.

Se han utilizado diferentes técnicas para evidenciar la acción local del útero sobre el ovario. Realizando la histerectomía unilateral se ha comprobado que la regresión del CL ocurre más rápidamente en animales en los que el cuerno uterino que se deja está del mismo lado que el CL, en comparación con animales en los que sólo se deja el cuerno contralateral al ovario con el CL (Ginther et al., 1967). De la misma manera, la luteólisis ocurre prematuramente cuando se coloca un dispositivo intrauterino (DIU) u otro material extraño en el cuerno uterino ipsilateral al CL de vacas u ovejas. (Ginther et al., 1966).

En ovejas, el confinamiento de la preñez a un sólo cuerno uterino mediante aislamiento quirúrgico ocasiona la permanencia del CL del lado grávido con mayor facilidad que la del CL del lado no grávido (Mapletoft et al., 1975). El mismo fenómeno ocurre en la vaca (Del Campo et al., 1977). Las evidencias anteriores sugirieron la existencia de la que Ginther (1968) describe como: "la vía local utero-ovárica", a través de la cual la luteolisina uterina viaja unilateralmente de un cuerno uterino al ovario del mismo lado.

En contraste en varios experimentos realizados en la yegua no se pudo demostrar la existencia de la relación local utero-ovárica, (Ginther y First, 1971; Ginther, 1979), por lo que se pensó que en esta especie el control uterino sobre el ovario se realiza por una vía sistémica y no local (Ginther 1981).

En la vaca, oveja, cerda y yegua, el útero y los ovarios drenan a través de una vena común, la vena uteroovárica. Sin embargo, existen diferencias entre las especies con respecto a la relación entre la arteria ovárica y la vena uteroovárica (DelCampo y Ginther, 1973; Ginther y DelCampo, 1974). En las especies con la vía local (vaca y oveja), la arteria ovárica es tortuosa y se encuentra íntimamente ligada a la pared de la vena uteroovárica; mientras que en las especies en las que no se ha comprobado la vía local (equino), la arteria ovárica no tiene contacto con la vena uteroovárica, sino con la rama uterina de la vena, y sólo en una pequeña área donde la arteria pasa oblicuamente sobre la vena uteroovárica (Ginther, 1981).

En la vaca y oveja es también muy importante la relación histológica entre la arteria ovárica y la vena uterovárica. En el área en la que estos dos vasos están en contacto el tejido conectivo que rodea su capa adventicia forma un sólo estrato, lo que no permite establecer una división clara entre la arteria y la vena. Además, la pared de los dos vasos es significativamente más delgada en esta área de contacto (Ginther, 1974).

Para comprobar que el paso del agente luteolítico uterino se efectúa de la vena uterina a la arteria ovárica, se iniciaron una serie de experimentos en donde se realizaron anastomosis de venas o arterias (Ginther, 1974). En ovejas con histerectomía unilateral se hizo anastomosis entre las venas uterinas de los dos lados para que la sangre de la vena uterina del cuerno intacto pasara a la vena del lado con histerectomía, demostrándose que CL del lado histerectomizado sufre regresión. Como complemento, en otro trabajo (Ginther et al., 1973) en ovejas con histerectomía unilateral, la sangre de la arteria ovárica del lado uterino intacto se hizo pasar por anastomosis a la arteria ovárica del lado histerectomizado. El CL del lado histerectomizado sufrió una disminución considerable de peso, aunque en algunos animales la luteólisis solamente fue parcial. Esto se atribuyó a que el ovario estaba recibiendo a través de la anastomosis sangre proveniente del cuerno intacto, pero continuaba además recibiendo sangre de arterias colaterales que se originaron de la arteria ovárica del lado histerectomizado, lo que causaba una dilución del agente luteolítico presente en la sangre proveniente del cuerno intacto. Cuando las arterias colaterales de la arteria ovárica del lado histerectomizado fueron ligadas, la regresión del CL fue completa (DelCampó y Ginther, 1973).

Con los resultados de estos experimentos se logró comprobar que la acción luteolítica del útero sobre el ovario ipsilateral se realiza por una vía venoarterial local. Las venas que drenan el útero (vena uteroovárica y su rama

uterina) constituyen el elemento proximal, mientras que la arteria ovárica y su rama ovárica constituyen el elemento distal de la vía venoarterial (DelCampeo y Ginther, 1973).

En la oveja, el desarrollo de técnicas para realizar autotransplantes de ovario y útero como un sólo bloque de tejido al cuello, cerca de la vena yugular y arteria carótida, permitieron reconfirmar hallazgos anteriores sobre la relación utero-ovárica. Además, se pudo establecer por completo que en la oveja el útero y el ovario deben estar juntos para que se de la regresión normal del CL (McCracken *et al.*, 1969; 1970a; 1971).

Cuando se transplantó solamente el ovario al cuello, dejando al útero en su lugar, el CL presente en el ovario transplantado permaneció por 100 días o más. En contraste, cuando un cuerno uterino y su ovario adjunto fueron transplantados como un bloque de tejido, la regresión del CL ocurrió a su debido tiempo y los ciclos fueron de duración normal (Baird *et al.*, 1976; Harrison *et al.*, 1968; McCracken *et al.*, 1969; McCracken *et al.*, 1970a). McCracken *et al.*, (1972) realizaron también experimentos de circulación cruzada entre animales con autotransplantes de ovario, o de útero y ovario. En estos trabajos se comprobó que la sangre proveniente de la vena uterina de una oveja donadora que se encontraba en el día 15 de su ciclo, ocasionó una disminución del 50% en los niveles de progesterona (P4) al circular por la arteria ovárica de ovejas receptoras con autotransplante de ovario. Las mismas receptoras al recibir sangre periférica del día 15 del ciclo, o sangre uterina de los días 2, 6, 10, ó 13,

tuvieron una muy ligera disminución en los niveles de P4 y no se produjo luteólisis ni estro. Estos resultados aportaron evidencias sobre la presencia de un factor luteolítico en la sangre uterina que solamente estaba presente en el momento en que ocurría la regresión del CL, pero no en otros días del ciclo estral.

2.2 Identificación de la prostaglandina $F_2\alpha$ como el agente luteolítico

Desde 1969, Pharris y Wyngarden propusieron que la prostaglandina $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$) podría ser el agente luteolítico uterino, ya que es un potente vasoconstrictor en perros y ratas, en las que además ocasiona interrupción de la pseudogestación al suministrarse en dosis elevadas (1mg/kg/día). McCracken et al. (1970b) aplicaron durante tres horas infusiones de 25 μ g de $PGF_2\alpha$ por hora en la vena uterina de ovejas en diferentes días del ciclo estral. Con esto se produjo una disminución en la P4 a niveles inferiores a 1 ng/ml, resultando posteriormente en inducción de estro. Sin embargo, al aplicar estas infusiones por vía sistémica el resultado fue negativo, comprobando así que la sustancia luteolítica cuya acción se replicaba con la $PGF_2\alpha$ pasaba en forma local del útero al ovario.

Para verificar el paso local del posible agente luteolítico, se utilizó $PGF_2\alpha$ marcada con tritio, inyectándola en la vena uterina (McCracken et al., 1972). La prostaglandina marcada apareció en la arteria ovárica después de 20 ó 30 minutos. En las muestras tomadas paralelamente de

la arteria iliaca, se encontraron niveles muy bajos de hormona marcada, lo que se atribuyó a su metabolización en la circulación sistémica. Se determinó también que de la cantidad total de infusión aplicada en la vena uterina, menos del 2% pasó directamente a la arteria ovárica.

A pesar de las evidencias, persistía la duda de si realmente era la $PGF_2\alpha$ la sustancia que era secretada a la vena uterina de la oveja durante la luteólisis. Es así como McCracken *et al.*, (1972) tomaron muestras de sangre venosa uterina para identificar y medir la $PGF_2\alpha$ por cromatografía. Los datos obtenidos indican que la concentración de prostaglandina en la vena uterina aumenta de un nivel promedio de 2 ng/ml a 20 ng/ml en el momento en que la P4 empieza a descender, indicando el momento de la luteólisis. También Thorburn *et al.*, (1971) midieron la concentración de prostaglandina F en plasma uteroovárico de ovejas a partir del día 10 del ciclo estral, tomando muestras cada 2 a 3 horas. Los resultados revelaron una serie de picos de prostaglandina F entre los días 13 y 17 del ciclo. Estos fueron de corta duración y aumentaron en frecuencia al acercarse el estro.

La acción luteolítica de las infusiones exógenas de $PGF_2\alpha$, y la demostración de que las concentraciones de $PGF_2\alpha$ endógena en la sangre de la vena uterina aumentan al final del ciclo estral, confirmaron la hipótesis de que es éste el compuesto que ocasiona la regresión del CL.

Para verificar la presencia de prostaglandinas en el útero de ovejas, Wilson *et al.*, (1972) determinaron la

concentración de prostaglandina $F_2\alpha$ en el endometrio de los cuernos uterinos de animales sacrificados en diferentes días del ciclo. La concentración de $PGF_2\alpha$ fue siete veces mayor en el día 14 del ciclo que en los días 3, 5 y 11 del ciclo estral. La concentración de $PGF_2\alpha$ fue cinco veces mayor en ovejas con DIU sacrificadas en el día 5 del ciclo.

En los bovinos, debido al alto costo de los animales no se han realizado tantos trabajos como en la oveja, especie que se ha tomado como base para explicar los fenómenos endócrinos en los ruminantes. Shemesh y Hansel (1975) comprobaron que la $PGF_2\alpha$ se encuentra elevada cuando ocurre la luteólisis en la vaca. Además se sabe que en esta especie también se da el paso de la $PGF_2\alpha$ por la vía local de la vena uterina a la arteria ovárica (Hixon y Hansel, 1974).

2.3 Características de las prostaglandinas

Existen aproximadamente 15 prostaglandinas naturales relacionadas estructuralmente. Son ácidos grasos no saturados de 20 carbonos que contienen un anillo ciclopentano con dos cadenas laterales y que se consideran derivados del ácido araquidónico. Existen varias series denominadas con un número subíndice que indica el número de dobles enlaces en las cadenas laterales, y la letra α o β indicando la posición de un grupo hidroxilo. Las prostaglandinas naturales tienen dos dobles enlaces entre los carbonos 13 y 14 y un grupo α -hidroxilo en el carbono número 15. La $PGF_2\alpha$ tiene además grupos α -hidroxilo en los carbonos 9 y 11. Es una solución

estable soluble en alcohol; como sal sódica o sal de trometamina es soluble en agua (Granstrom, 1981).

Las prostaglandinas se encuentran en diferentes cantidades y proporciones en casi todos los tejidos de los mamíferos. Sin embargo, el plasma seminal humano es la fuente más rica en la que se han encontrado 13 prostaglandinas diferentes. La distribución en los tejidos varía mucho según la especie, y generalmente fuera del aparato reproductivo las cantidades encontradas son muy bajas para ser medidas en ng/ml (Walpole, 1975).

La biosíntesis de las prostaglandinas se inicia con el consumo en la dieta del ácido linoléico, que en el organismo es transformado en ácidos grasos insaturados como el ácido araquidónico. Este ácido se almacena en los tejidos como un fosfolípido, y es el precursor a partir del cual se forman las prostaglandinas a través de procesos enzimáticos. La síntesis de prostaglandinas se da en muchos tejidos como vesículas seminales, pulmones, cerebro, mucosa intestinal y médula renal (Walpole, 1975).

Las prostaglandinas no se almacenan en los tejidos, y las de la serie E y F son rápidamente removidas de la circulación por una degradación metabólica. Esta degradación se da por una deshidrogenación en el carbono 15, una reducción en el 13 y en el doble enlace del 14, una β -oxidación de la cadena superior, y oxidación del grupo metilo terminal a carboxilo en el carbono 20. La 15-deshidrogenación y la reducción en el carbono 13 y 14 son muy rápidas y ocurren básicamente en los pulmones (Strandberg,

1981). Los dos últimos pasos del catabolismo también son rápidos y ocurren en el hígado, dando como resultado final metabolitos sin actividad biológica que en el hombre son eliminados por la orina (Walpole, 1975). Las acciones endógenas de la $\text{PGF}_2\alpha$ están por lo tanto limitadas a tejidos a los que llegue directamente desde el sitio de producción sin haber pasado antes por la circulación general, por lo que se puede clasificar como una hormona de tipo local (Walpole, 1975)

2.4 Control de la secreción de prostaglandinas

Una vez identificada la $\text{PGF}_2\alpha$ como el agente luteolítico en la oveja, se iniciaron estudios para establecer el papel del 17β -estradiol (E_2 - 17β) y la progesterona (P4) en el control de la secreción de la $\text{PGF}_2\alpha$ por el endometrio (Barcikowski, *et al.*, 1974). Con estos estudios se determinó que en el momento de la regresión del CL coincidían los picos de E_2 - 17β y los picos de $\text{PGF}_2\alpha$ secretada por el útero. También Barcikowski *et al.*, (1974) determinaron que una infusión de E_2 - 17β en la arteria que alimentaba un útero autotransplantado estimulaba la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$ a partir del día 14 del ciclo estral en la oveja, estableciendo así la necesidad de los estrógenos para estimular la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$. Sin embargo, se demostró también que se necesita que el útero haya estado expuesto a niveles elevados de P4 antes de que pueda responder a los estrógenos con la síntesis y liberación de la $\text{PGF}_2\alpha$ (Kindhal, 1981).

McCracken y Schramm (1983) demostraron que la oxitocina actúa sobre el útero provocando la secreción de

prostaglandinas, demostrando además que este efecto de la oxitocina depende de la etapa del ciclo estral en que se encuentre el animal. Por esto plantean que la acción de la oxitocina sobre el útero estará mediada por la cantidad de receptores de oxitocina presentes a lo largo del ciclo estral, lo que determinará el nivel de secreción de $\text{PGF}_2\alpha$. Previamente, Roberts et al. (1976) comprobaron que el número de receptores de oxitocina en el útero varía ciclicamente, alcanzando su máxima concentración al final del ciclo.

Basándose en estos hallazgos y en trabajos posteriores en los que se mide la concentración de receptores de oxitocina y la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$ después de administrar infusiones de estrógenos y/o progesterona, McCracken (1984) llega a la teoría que resume el mecanismo de control de la secreción uterina de $\text{PGF}_2\alpha$: en la oveja el estradiol y la P4 controlan indirectamente la síntesis de $\text{PGF}_2\alpha$ en el endometrio al regular la formación de receptores para la oxitocina (McCracken, 1980). El estradiol induce la formación de receptores de oxitocina en 6 horas, lo que ocasiona que la oxitocina pueda actuar en el útero y se inicie la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$. Sin embargo, durante la fase lútea la P4 inhibe la acción del estradiol al bloquear la acumulación de receptores para estrógenos y por lo tanto la capacidad del estradiol para estimular la síntesis de receptores para oxitocina (Okulicz et al., 1981). Después de 10 días de acción de la P4 su actividad decae posiblemente debido a la destrucción que induce de sus propios receptores. Esto permite que los estrógenos vuelvan a estimular la síntesis de receptores para

oxitocina y por lo tanto esta hormona puede estimular la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$. La P4 durante su fase inhibidora ocasiona la acumulación en el endometrio de precursores de ácidos grasos, por lo que al desaparecer su inhibición la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$ en respuesta a la oxitocina es 100 veces más fuerte, y es ésta descarga la que inicia la luteólisis. Para explicar el porqué de la secreción pulsátil de $\text{PGF}_2\alpha$, McCracken (1984) formula la siguiente hipótesis:

1. Debido a la acción decreciente de la P4 al final de la fase lútea, el estradiol puede estimular la síntesis de receptores para oxitocina.
2. La oxitocina originada en el sistema nervioso y parte en el CL interactúa con sus receptores uterinos.
3. Al unirse la oxitocina a su receptor se estimula la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$.
4. Debido al rápido metabolismo de la $\text{PGF}_2\alpha$ en los pulmones, aumentan los niveles en sangre periférica del metabolito 15-keto-13,14-dihidro- $\text{PGF}_2\alpha$ (PGFM).
5. La secreción de P4 por el CL empieza a disminuir por la acción local de la $\text{PGF}_2\alpha$.
6. Cada vez que la oxitocina se une a su receptor se induce la síntesis de prostaglandina, pero se destruyen los receptores para oxitocina. Por lo tanto los picos de prostaglandina se darán a intervalos de 6 horas, que es el tiempo de recuperación de los receptores de oxitocina, para lo cual se requiere la presencia de estradiol.

2.5 Las prostaglandinas para la sincronización del estro en bovinos

Rowson et al., (1972) fueron los primeros en comprobar el efecto de la $PGF_2\alpha$ para sincronizar el estro en bovinos. Ellos aplicaron 0.5 mg en forma no quirúrgica en el cuerno uterino ipsilateral al CL por dos días seguidos entre los días 5 y 16 del ciclo estral. Además determinaron que el tratamiento entre los días 1 y 4 del ciclo no era efectivo. Posteriormente se realizaron varios experimentos en donde se utilizaron dosis entre 1 y 5 mg de $PGF_2\alpha$, ya sea inyectados en la pared del cuerno uterino o depositados en el lumen del cuerno con un cateter de inseminación artificial (Inskeep, 1973; Louis et al., 1974; 1975; Moore, 1975). Se evaluó además el efecto de la aplicación en el cuerno uterino ipsilateral o contralateral al CL y el efecto del día del ciclo en que se aplicó el tratamiento. Los tratamientos aplicados a partir del día 5 del ciclo estral tuvieron un buen efecto para inducir el estro, que se presentó entre los 2 y 4 días post-tratamiento. Según Louis et al. (1975) no se presentó un efecto del lado de aplicación de la $PGF_2\alpha$ en relación a la posición del CL. Sin embargo, Liehr (1972), citado por Inskeep (1973), informa que la aplicación de 3 mg de $PGF_2\alpha$ en el cuerno contralateral al CL, o en la vagina anterior no tuvo efecto luteolítico.

A pesar de que se demostró que la administración intrauterina de $PGF_2\alpha$ es efectiva para causar luteólisis (Louis et al., 1974), en los trabajos iniciales se encontró que este tipo de tratamientos resultaban en una elevada

incidencia de infecciones uterinas (Inskeep, 1973). Por esta razón, y por la dificultad práctica de la aplicación intrauterina, esta vía de administración no se utiliza en la actualidad.

También se ha utilizado la vía subcutánea para administrar $\text{PGF}_2\alpha$ (Inskeep, 1973). El estro se presentó en todos los animales que fueron tratados con 30 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ natural por vía subcutánea entre los días 6 a 16 del ciclo. De igual forma el tiaprost, un análogo sintético de la $\text{PGF}_2\alpha$, en dosis de 0.75 mg por vía subcutánea logra la inducción del estro en 90% de los animales tratados (Peters, 1984). También se ha probado la aplicación intravenosa de 15 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ en el día 12 del ciclo estral, con lo que se obtuvo un 58.3% de estros antes de las 120 horas post-tratamiento (Bond et al. 1980).

La aplicación intramuscular (i.m.) de la $\text{PGF}_2\alpha$ ha sido la más utilizada debido a la facilidad práctica de la inyección y a los resultados obtenidos. Se han utilizado dosis de 15, 20, 21, 25, 27, 30, 40, y 60 mg (Hafst y Manns, 1975; Lauderdale, 1975; Louis et al., 1975; Moore, 1975; Stellflug et al., 1975). Los resultados para inducir el estro han sido positivos al aplicar mas de 20 mg después del día 5 del ciclo estral, por lo que la dosis utilizada normalmente es de 25 mg. Normalmente se recomienda realizar palpación rectal para cerciorarse de que los animales que se van a tratar realmente tienen un CL (Plunkett et al., 1984). Cuando no es posible establecer si existe un CL, se aplica la $\text{PGF}_2\alpha$ en dosis de 25 mg a todos los animales que se quiere

sincronizar y se repite la dosis a los 10 ó 12 días a aquellos animales que no han presentado estro (Adeyemo et al., 1979).

También se ha evaluado el uso de análogos sintéticos de la $PGF_2\alpha$, como el ICI 79939 administrado por vía intrauterina en dosis de 350 μ g, o por vía i.m. aplicando 800 μ g, ó 200 μ g en dos días consecutivos (Tervit et al., 1973). Se ha utilizado también el ICI 80996 (Cloprostenol) aplicado por vía i.m., en dos dosis de 500 μ g (Cooper y Rowson, 1975; Refsal y Seguin, 1980; Roche 1979). Otro análogo de la $PGF_2\alpha$ es el AY 24655, cuyo uso ha sido menos difundido, pero que ha demostrado ser efectivo para sincronizar el estro utilizando una dosis de 100 mg por vía i.m. (Betteridge et al., 1977).

Independientemente del tipo de prostaglandina utilizada (natural o sintética) y de su vía de administración, existe una relación entre el intervalo tratamiento-estro y el día del ciclo en el que se aplique la inyección. Watts y Fuquay (1985) encontraron que el intervalo promedio entre la inyección de 25 mg de $PGF_2\alpha$ y el estro en vaquillas Holstein fue más corto (50 hrs) en animales tratados entre los días 5 a 7 del ciclo que en los tratados entre los días 8 a 11 (70 hrs) o 12 a 15 (72 hrs). Tanabe y Hann (1984), también en vaquillas Holstein, encontraron que el intervalo promedio tratamiento-estro fue más corto en los animales tratados en los días 7 y 15 en comparación al día 11 del ciclo estral. También Macmillan y Henderson (1983), utilizando cloprostenol en vacas lecheras encontraron que el intervalo tratamiento-estro es menor en animales inyectados en el día 7 ó 16 (48 a

72 hrs) comparado con los tratados en el día 11 ó 12 (73 a 120 hrs). Además el porcentaje de respuesta a la inyección es del 70% para los inyectados en el día 7 ó 16 y de sólo 30% para los inyectados en el día 11 ó 12.

King et al. (1982), en vacas y vaquillas productoras de carne informan que el intervalo entre la segunda inyección y el estro fue más corto para los animales tratados entre los días 5 a 9 del ciclo que en los tratados entre los días 10 a 15.

Se ha propuesto que el intervalo entre el tratamiento con $\text{PGF}_2\alpha$ y el estro al usar prostaglandinas tiene que ver con el grado de desarrollo folicular presente en el momento de la inyección. Etherington et al. (1986) encontraron que en animales tratados en los días 6 a 8 y 13 a 17, que coinciden con los días en que hay folículos mayores de 8 mm de diámetro (Shams et al. 1972), el intervalo tratamiento-estro fue menor comparado con los animales tratados entre los días 9 y 12. Zarco et al. (1985), aplicando 25 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ natural a animales con folículos de 5 mm o menos, 10 mm, y 15 mm o más, encuentran que el intervalo al estro es significativamente menor cuando hay mayor desarrollo folicular.

Independientemente de el tipo de prostaglandina utilizada, de la dosis y de la vía de administración, la efectividad del tratamiento se manifiesta en el descenso de los niveles de P4 secretada por el CL. En diferentes trabajos queda claro que cuando la luteólisis es efectiva, los niveles de P4 disminuyen en un 50% en las primeras 12 horas post-tratamiento, y a las 48 hrs ya han alcanzado niveles menores

a ng/ml (Bond et al., 1980; Cooper y Rowson, 1975; Hafst y Manns, 1975; Henricks et al., 1974; King et al., 1982; Lauderdale, 1975; MacMillan y Henderson, 1983).

2.6 El uso de dosis reducidas de prostaglandinas aplicadas por vía alterna

Como se indicó en la sección anterior el uso de dosis reducidas de $\text{PGF}_2\alpha$ aplicadas por vía local, inyectadas en la pared del cuerno uterino o depositadas en el lumen uterino, son métodos que se probaron desde que se empezaron a utilizar las prostaglandinas para la sincronización del estro (Inskeep, 1973). También se ha evaluado la aplicación en el fornix de la vagina, sistema con el que se necesitan dosis similares a las usadas por vía i.m. para obtener un buen resultado (Louis et al., 1975).

La poca utilidad práctica de la aplicación intrauterina, ha motivado la investigación sobre la aplicación de las $\text{PGF}_2\alpha$ por vías alternas utilizando dosis reducidas.

El primer trabajo en que se probó el uso de dosis reducida de $\text{PGF}_2\alpha$ aplicada por vía intravulvosubmucosa (i.v.s.m.) fue el de Ono et al., (1982). Ellos utilizaron 79 vacas Holstein que no habían presentado estros en los dos ciclos previos y que presentaban un CL persistente detectado por palpación rectal. Se aplicó $\text{PGF}_2\alpha$ en dosis de 2, 4, ó 6 mg por vía i.v.s.m.. Únicamente en 10 de las vacas tratadas con 2 mg se midieron los niveles de P4 antes de la inyección y a los 4 días después. Se evaluó la respuesta al tratamiento mediante la detección de estros manifiestos y examen vaginal

para ver si había descarga de moco y congestión vaginal. En los resultados se indica que el 37.9, 58.3, y 78.6% de las vacas tratadas con 2, 4, ó 6 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ presentaron estro durante los primeros 7 días post-tratamiento. Los porcentajes de presentación de estros durante los primeros 3 días postratamiento fueron de 17.2, 38.9, y 35.7% , para los tres días respectivamente. Aunque los porcentajes de presentación de estros a las 72 hrs son bajos, los autores señalan que en todos los animales en que se midió la P4 ocurrió la luteólisis. Ono et al. concluyen que una dosis de $\text{PGF}_2\alpha$ menor de 6 mg es efectiva para inducir la regresión de un CL persistente en vacas en anestro. Sin embargo al no medirse la concentración inicial de P4 en muchas de las vacas se pueden haber incluido varios animales con niveles inferiores a 1 ng/ml (como ocurrió en 3 de las vacas muestreadas). Además para evaluar el efecto luteolítico de la $\text{PGF}_2\alpha$ hubiera sido necesario tomar muestras de sangre por lo menos cada 24 hrs a partir del tratamiento. El hecho de que las vacas muestreadas tuvieran niveles bajos de P4 a los 4 días no indica que la luteólisis se haya dado necesariamente por efecto de la $\text{PGF}_2\alpha$ exógena, ya que puede haber una luteólisis parcial que estimule la secreción de $\text{PGF}_2\alpha$ endógena, que será la que realmente ocasione la luteólisis final (McCracken, 1984). Esto explicaría el retraso en la presentación de estros en un número relativamente elevado de animales.

En otro trabajo Alberio et al. (1987) utilizaron dosis de cloprostenol reducidas a 1/2 (250 μg) y a 1/4 (125 μg) de lo

normal, aplicadas por vía i.v.s.m. en forma ipsilateral al CL en vaquillas Aberdeen-Angus. Los resultados sólo se evaluaron por el porcentaje de estros manifiestos hasta los 5 días post-tratamiento, que fueron de 80% y 20% para los tratamientos de 250 y 125 µg respectivamente. En este trabajo también la falta de medición de concentraciones de P4 hace muy difícil la evaluación real del efecto luteolítico de la prostaglandina.

Horta et al. (1986) utilizaron también 250 y 125 µg de cloprostenol por vía i.v.s.m. en dos grupos de vacas lecheras (11 vacas por grupo) que se encontraban ciclando normalmente (con CL) y entre los días 5 a 16 del diestro. Repitieron el tratamiento a los 11 días en los animales que no respondieron a la primera inyección. Midieron los niveles de P4 en el momento de la inyección y en las vacas que tuvieron estros manifiestos en el momento de la inseminación artificial. Ellos informan que después de la primera o segunda inyección todas las vacas presentaron estro manifiesto en un intervalo entre las 67.9 y 97.7 hrs post-tratamiento, sin que hubiera diferencias significativas entre grupos. El alto porcentaje de respuesta se debe seguramente al régimen de dos inyecciones, sin que especifiquen que porcentaje de vacas respondieron solamente a la primera inyección. El alto nivel de respuesta se puede atribuir en parte también a que sólo se trataron animales con CL de más de 5 días. Esto evitaría posibles fallas debidas al estado inmaduro o refractario del CL (Saumande y Chupin, 1981). Horta et al. (1986) concluyen que estas dosis de cloprostenol son efectivas para inducir el

estro. Sin embargo la falta de determinaciones seriadas de P4 impide otra vez evaluar si la regresión del CL fue completa. Concluyen también que a pesar de no saber con exactitud como llega el fármaco al ovario, suponen que lo hace sin entrar a la circualción sistémica, pasando por la vía local uteroovárica, y evitando así la metabolización.

En otro trabajo Chauhan et al. (1986) aplicaron cloprostenol por vía i.v.s.m. en vacas lecheras que se encontraban ciclando normalmente (con CL palpable), pero que no habían sido detectadas en estro. En un primer experimento con un total de 13 vacas aplicaron 125 ó 62.5 μg i.v.s.m. contra 500 μg i.m. Para medir la concentración de P4 tomaron muestras de sangre a las 0, 24, 48, 72, y 96 hrs post-tratamiento. Mencionan que en el grupo inyectado con 62.5 μg la P4 disminuyó temporalmente y se recuperó a las 72 hrs en 3 de las 5 vacas tratadas. En los grupos tratados con 500 y 125 μg la P4 disminuyó rápidamente de niveles iniciales entre 8.8 y 2.4 ng/ml a niveles de 1.5 ng/ml a las 24 hrs post-tratamiento

En un segundo experimento Chauhan y sus colaboradores (1986) utilizan 69 vacas con las mismas características del primer experimento. Los resultados se evaluaron por la detección de estros manifiestos y por palpación rectal cada 24 hrs hasta las 96 hrs para detectar tono uterino, moco uterino, y desarrollo folicular. Los porcentajes de estros manifiestos para los grupos tratados con 500 μg i.m., 250, 125, y 62.5 μg i.v.s.m. son de 46.6, 73.3, 46.4, y 9.0% respectivamente. El porcentaje total de estros manifiestos y

silenciosos es de 60, 80, 68, y 18% respectivamente para los tratamientos anteriores. Los autores concluyen que el resultado superior de la dosis de 250 μg i.v.s.m. se atribuye al paso directo de la prostaglandina de la vena uterina a la arteria ovárica. La baja respuesta a la dosis de 62.5 μg la atribuyen a una mala dosificación, o mala deposición de la dosis por su reducido volumen.

Córdova y sus colaboradores han realizado una serie de trabajos utilizando dosis reducidas de prostaglandinas naturales o sintéticas aplicadas por vía i.v.s.m. (Córdova y Fraga, 1987; Córdova y Castro 1988; Córdova et al., 1988; Córdova y Villa, 1988). La metodología en estos trabajos fue similar; se utilizaron vacas de razas Brahman e Indobrasil, y vacas y vaquillas Holstein con un CL detectado por palpación rectal. Los productos utilizados fueron $\text{PGF}_2\alpha$ natural, cloprostenol, y luprostirol. Los resultados de todos los trabajos se evaluaron por presentación de estros manifiestos, estros silenciosos detectados por palpación rectal a las 72 hrs, fertilidad con inseminación artificial, e intervalo tratamiento-estro. En ninguno de estos experimentos se midió la concentración de P4 antes o después del tratamiento.

Así Córdova y Fraga (1987) en 41 vacas cebuinas tratadas con $\text{PGF}_2\alpha$ natural obtuvieron 29, 60, y 33% de estros manifiestos en los grupos tratados intramuscularmente con 25 mg, o por vía intravulvosubmucosa con 12.5 y 8 mg respectivamente. El porcentaje total de estros (manifiestos y silenciosos) fue de 64, 86, y 99% respectivamente para los tratamientos anteriores. La mayor incidencia de calores

ocurrió a las 72 hrs. Indican que en el 11% de los animales tratados por la vía i.v.s.m. hubo una respuesta inflamatoria en el sitio de la inyección.

Córdova y Castro (1988) en otro trabajo con 60 vaquillas Holstein utilizando PGF₂ α natural (12.5 mg i.v.s.m.) y cloprostenol (250 ug i.v.s.m.) obtuvieron 90 % y 80% de estros manifiestos para el primero y segundo tratamientos respectivamente. Córdova et al., (1988) en un experimento con 90 vaquillas Holstein aplicaron 7.5 mg (1/2 dosis i.m.) de luprostiol vía i.v.s.m., ipsilateral y contralateral al CL y obtuvieron 33.3% de estros manifiestos para los dos tratamientos, y 88.8% y 83.3% de estros totales (manifiestos y silenciosos) respectivamente. Con la dosis total de 15 mg aplicada por vía i.m., o i.v.s.m. ipsilateral al CL obtuvieron 100% de estros manifiestos.

En un último experimento, Córdova y Villa (1988) con 1.5 mg de luprostiol i.v.s.m. (1/10 de la dosis i.m.) aplicado ipsilateral al CL obtuvieron 93.2% de estros manifiestos y silenciosos, con una fertilidad del 60%.

Como se mencionó inicialmente, en ninguno de los trabajos de Córdova y sus colaboradores se midieron los niveles de P4 antes o después de los tratamientos. La variabilidad en la respuesta a los mismos tratamientos entre experimentos hace confusos los resultados.

III. MATERIAL Y METODOS

3.1 Animales y localización

Para este trabajo se utilizaron en total 107 hembras de la raza Holstein-Friesian. Se emplearon 47 vaquillas en edad (más de 14 meses) y en peso (más de 330 kg.) para recibir su primer servicio. Se seleccionaron animales que a la palpación rectal presentaban un CL. También se utilizaron 60 vacas de diferentes edades y número de partos. Estos animales se seleccionaron del grupo de vacas con más de 45 días de paridas en condiciones reproductivas normales, con un CL, pero que no habían sido detectadas en estro.

Las vaquillas pertenecen al Centro de Recría del Complejo Agroindustrial de Tizayuca (PRODEL), ubicado en el municipio de Tizayuca, estado de Hidalgo.

Las vacas pertenecen al "Rancho la Palma" situado en el municipio de Coacalco, estado de México. Los dos tipos de animales se encontraban en estabulación, bajo el régimen de manejo y alimentación establecido como rutina en cada explotación.

3.2 Diseño Experimental

Se utilizó para este trabajo un modelo experimental totalmente al azar, (Gill, 1978). Las vacas y vaquillas seleccionadas se asignaron en forma totalmente aleatoria a cinco grupos (tratamientos) diferentes que estuvieron conformados equitativamente por animales jóvenes y adultos. Los grupos se distribuyeron así: Grupo 1 (IM) (n=18) aplicación de 25 mg de PGF₂α natural (Lutalyse, Upjohn, México) por vía intramuscular (i.m.). Grupo 2 (IPS) (n=25)

inyección vulvar de 8 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ a un costado del labio vulvar ipsilateral al CL. Grupo 3 (CON) (n=21) aplicación de 8 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ en igual forma que en el grupo 2, pero en el labio vulvar contralateral al CL. Grupo 4 (SUP) (n=23) aplicación de 8 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ sobre la comisura dorsal de los labios vulvares, por debajo del esfínter anal externo. Grupo 5 (INF) (n=20) aplicación de 8 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ ventral a la comisura inferior de los labios vulvares.

3.3 Métodos y Técnicas

El examen reproductivo para seleccionar a los animales con CL lo realizaron siempre dos médicos veterinarios con amplia experiencia en el área. A todos los animales con CL palpable se les tomó una muestra de sangre por punción de la vena yugular (vaquillas) o mamaria (vacas) antes de aplicar la $\text{PGF}_2\alpha$ (tiempo 0). Todas las inyecciones vulvares de prostaglandina se aplicaron previa limpieza de la zona con una toalla de papel, y se realizaron haciendo penetrar desde el exterior del labio vulvar una aguja calibre 20 hasta una profundidad de 2 cm . Se tomaron muestras de sangre a las 12, 24, 48, y 72 hrs. después de la inyección, suspendiéndose antes si el animal presentaba estro. La detección de calores en las vacas adultas se realizó por observación de la conducta homosexual tres veces al día (6,12, y 17 hrs) en periodos de 60 minutos. En el grupo de vaquillas la detección de calores se realizó por observación de la conducta homosexual durante las 24 hrs del día conforme a lo descrito por Martinez et al. (1988). Tanto en vacas como en vaquillas, la inseminación artificial se realizó 12 hrs después de

detectado el estro. A los animales que a las 72 hrs post-tratamiento no habían manifestado estro se les tomó la última muestra de sangre y se les sometió a examen rectal para determinar si había tono uterino, moco uterino, y desarrollo folicular (Ortiz et al., 1986). Los animales con estos signos fueron inseminados 12 hrs después, y los animales que no presentaron ningún signo de estro a la palpación rectal continuaron bajo observación hasta las 120 hrs.

Las muestras de sangre se recolectaron en tubos al vacío de 10 ml a los que se les había añadido fluoruro de sodio como anticoagulante (Pulido et al., 1988) y se conservaron en refrigeración a 4°C hasta llegar al laboratorio donde se centrifugaron a 3500 r.p.m. durante 10 minutos. El plasma se separó y se congeló para su conservación hasta ser procesado por radioinmunoensayo (RIA).

Se utilizó el juego de reactivos para RIA de progesterona proporcionado por la FAO y la Agencia Internacional de Energía Atómica. Este sistema de RIA en fase sólida utiliza P4 marcada con I125. El coeficiente de variación intraensayo para el control de calidad bajo fue de 4.52% (3.32 ng/ml) y para el control alto fue de 8.25% (5.28 ng/ml). El coeficiente de variación interensayo fue de 12.46% y 12.87% para los controles de calidad bajo y alto, respectivamente.

3.4 Parámetros Evaluados

Se evaluaron los siguientes parámetros en cada grupo experimental:

1. Porcentaje de animales con niveles de P4 mayores a 1 ng/ml antes del tratamiento.
2. Porcentaje de animales en los que hubo regresión efectiva del CL en respuesta al tratamiento que se manifiesta en la reducción de las concentraciones de P4 a menos de 1 ng/ml dentro de las 48 hrs posteriores al tratamiento.
3. Porcentaje de animales que presentaron estro manifiesto durante las primeras 120 hrs post-tratamiento.
4. Intervalo entre el tratamiento y la regresión del CL.
5. Intervalo entre el tratamiento y el inicio del estro.
6. Niveles promedio de P4 a las 0, 12, 24, 48, y 72 hrs post-tratamiento en los animales que lisaron el CL.
7. Niveles promedio de P4 a las 0, 12, 24, 48, y 72 hrs post-tratamiento en todos los animales tratados.

3.5 Análisis Estadístico

El análisis estadístico para los parámetros de los incisos 1, 2, y 3 se realizó con la prueba de Ji-cuadrada. Los parámetros de los incisos 4, 5, 6, y 7 se evaluaron por Análisis de Varianza y prueba de Duncan para comparaciones múltiples. (Gill, 1978)

IV. RESULTADOS

Seis animales que tenían niveles de P4 menores a 1 ng/ml en la muestra tomada antes del tratamiento fueron excluidos de los resultados debido a que la concentración de esta hormona demostró que no tenían un CL funcional antes de ser inyectados. De esta forma los grupos IM, IPS, CON, SUP, e INF quedaron conformados por 17, 22, 19, 23, y 20 animales respectivamente. Al evaluar el porcentaje de animales seleccionados por cada palpador que realmente tenían un CL funcional, se encontró que la eficacia en la palpación fue del 91.4% (43/47) para un palpador, y de 96% (58/60) para el otro.

Se consideró que el tratamiento con $\text{PGF}_2\alpha$ causó una luteólisis efectiva cuando el animal tenía niveles de P4 superiores a 1 ng/ml antes de ser inyectado y dichos valores bajaban a menos de 1 ng/ml dentro de las primeras 48 hrs post-inyección. En los animales tratados con la dosis completa por vía i.m., los patrones de P4 se comportaron en una forma constante, alcanzando siempre niveles menores a 1 ng/ml durante las primeras 48 hrs post-tratamiento (ver figuras 1, 2, y 3). La única excepción fue un animal (figura 3d) en el que los niveles de progesterona al momento de la inyección (1 ng/ml) son relativamente bajos, produciéndose posteriormente una elevación.

En contraste, en los animales de todos los grupos tratados con dosis reducida por vía intravulvar, las curvas individuales de los niveles de P4 después del tratamiento indican patrones de respuesta muy variable. En algunos

animales de estos grupos la respuesta es similar a la que se presentó en el grupo IM, indicando una luteólisis efectiva (ver figuras 4, 5a y 5b, 7, 10, 11a-11f, 13, 14a y 14b). Sin embargo, en otros animales la progesterona se recupera después de una disminución inicial. (ver figuras: 5c-5f, 8a-8c, 9a y 9c, 11g, 12d,g,h, 14c,e,g), por lo que no se completa la luteólisis.

Otro tipo de respuesta en animales tratados vulvarmente es aquella en la que hay una disminución y recuperación de la P4, que posteriormente vuelve a decaer, resultando en la regresión del CL, pero en un lapso mayor al normal (ver figuras: 5h, 8d-8g, 12a, 12b, 14f).

Finalmente en otros animales no hay ninguna disminución en la secreción de P4, la cual incluso aumenta en algunas ocasiones después de la inyección de $\text{PGF}_2\alpha$ (ver figuras: 5f, 6a-6f, 8h, 12c,e,f, 14h, y 15a-15d).

En el cuadro 1 se resumen los resultados anteriores. El porcentaje de animales en los que se presentó luteólisis efectiva no varió entre los tratamientos vulvares. En contraste, los animales del grupo IM tuvieron una respuesta significativamente ($p < 0.05$) mayor a la de todos los grupos vulvares. Este resultado es más claro al evaluar por análisis de varianza y prueba de Duncan el comportamiento de los niveles promedio de P4 de todos los animales después de ser inyectados (cuadro 2). A las 48 y 72 horas, todos los tratamientos vulvares tienen niveles promedio de P4 mayores a 1 ng/ml, que resultan significativamente mayores ($p < 0.05$) a los del tratamiento IM. Esto es resultado de que en muchos

animales inyectados por vía vulvar no se produjo una luteólisis efectiva.

En el cuadro 3 se presentan los porcentajes de estros manifiestos o silenciosos con respecto al total de animales tratados en cada grupo. El grupo IM fue significativamente ($p < 0.05$) más eficiente en la inducción de estros manifiestos y silenciosos en comparación a los grupos tratados vulvarmente. La proporción entre la presentación de estros manifiestos y estros silenciosos fue similar en todos los grupos.

El resto de la información resultante se refiere solamente a los animales en los que sí hubo luteólisis ($P_4 < 1 \text{ ng/ml}$ antes de las 48 hrs.) en relación a: presentación de estros, intervalo a la luteólisis y al estro, y niveles de P_4 post-tratamiento.

Aunque hubo diferencias significativas en el número de animales con luteólisis efectiva en cada grupo (cuadro 1), en los animales que sí sufrieron luteólisis, ésta se completó en promedio a las 35.6 hrs post-tratamiento sin diferencias significativas ($p > 0.05$) entre grupos (cuadro 4).

Asimismo, si se toma únicamente en cuenta a los animales que presentaron luteólisis en cada grupo, se encuentra que el porcentaje de los mismos que presentaron estro manifiesto es similar en todos los grupos (cuadro 5).

En los animales que presentaron estro manifiesto, éste ocurrió en promedio a las 64.6 hrs., con un intervalo de confianza de 58.9 hrs a 70.3 hrs, sin diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos (cuadro 6).

En los animales con luteólisis los niveles promedio de P4 antes del tratamiento fueron de 5.46 ng/ml, y a las 48 hrs post-inyección son de 0.33 ng/ml en promedio para todos los grupos, entre los cuales no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) (cuadro 7).

Cuadro 1. Efecto del tratamiento con PGF2 α sobre la inducción de la luteólisis.

Tratamiento	n	Luteólisis efectiva	
		Número	Porcentaje
IM	17	16	94.1%*
IPS	22	10	45.5%
CON	19	8	42.1%
SUP	23	13	56.5%
INF	20	10	50.0%

* Diferente a los demás grupos ($p < 0.05$).
n=número de animales que tenían un CL funcional antes de ser inyectados.

Cuadro 2. Efecto del tratamiento con PGF2 α sobre la concentración promedio de P4 (ng/ml) en todos los animales tratados.

Horas post-tratamiento	TRATAMIENTOS				
	IM	IPS	CON	SUP	INF
	n=17	n=22	n=19	n=23	n=20
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
0 HRS	5.08	4.99	4.29	5.45	4.15
12 HRS	2.20	2.63	2.34	3.04*	2.23
24 HRS	1.02	2.11*	1.74	2.00*	1.87*
48 HRS	0.48	1.86*	1.83*	1.79*	1.85*
72 HRS	0.51 (n=12)	2.33* (n=17)	2.11* (n=15)	2.01* (n=16)	2.22* (n=14)

*Mayores ($p < 0.05$) que la concentración correspondiente al mismo periodo en el grupo IM. Entre paréntesis se indica el número de animales sangrados a las 72 hrs debido a que aún no presentaban estro.

Cuadro 3. Efecto del tratamiento con PGF2 α sobre la presentación de estros manifiestos y silenciosos en relación al total de animales tratados

Tratamiento	Número de animales			Relación estros manifiestos vs. silenciosos
	n	Estros manifiestos	Estros silenciosos	
IM	17	10 (58.8%) *	5 (29.4%) *	10/5
IPS	22	7 (31.8%)	3 (13.6%)	7/3
CON	19	4 (21.0%)	3 (15.7%)	4/3
SUP	23	8 (34.7%)	4 (17.3%)	8/4
INF	20	6 (30.0%)	3 (15.0%)	6/3

* Diferente ($p < 0.05$) a los demás grupos.

Cuadro 4. Efecto del tratamiento con PGF2 α sobre el intervalo a la luteólisis.

Tratamiento	Animales con luteólisis	Intervalo a la luteólisis (horas) (X \pm D.E.)
IM	16	38.40 \pm 12.17
IPS	10	33.60 \pm 12.39
CON	8	33.00 \pm 12.42
SUP	13	38.76 \pm 12.15
INF	10	31.20 \pm 15.17
Total/ Promedio	56	35.57 \pm 12.73

No hay diferencia ($p > 0.05$.) en el intervalo a la luteólisis de los diferentes grupos.

Cuadro 5. Efecto del tratamiento con PGF₂ α sobre la inducción de estros en animales con luteólisis.

Tratamiento	No. de animales			
	Animales con luteólisis	Estros manifiestos	Estros silenciosos	Total de estros
IM	16	10 (62.5%)	5 (31.2%)	15 (93.7%)
IPS	10	7 (70.0%)	3 (30.0%)	10 (100.0%)
CON	8	4 (50.0%)	3 (37.5%)	7 (87.5%)
SUP	13	8 (61.5%)	4 (30.7%)	12 (92.2%)
INF	10	6 (60.0%)	3 (30.0%)	9 (90.0%)

El porcentaje de animales en estro no es diferente entre los grupos ($p > 0.05$).

Cuadro 6. Efecto del tratamiento con PGF₂ α sobre el intervalo al estro manifiesto (E M).

Tratamiento	Intervalo a estro manifiesto (horas)	
	Animales con (E M)	($\bar{X} \pm$ D.E.)
IM	9	61.66 \pm 4.84
IPS	7	70.85 \pm 20.36
CON	4	52.25 \pm 4.85
SUP	8	67.37 \pm 18.29
INF	6	66.33 \pm 25.32
Total/ Promedio	34	64.61 \pm 16.37

El intervalo a estro manifiesto no es diferente entre los grupos ($p > 0.05$).

Cuadro 7. Efecto del tratamiento con PGF₂ α sobre la concentración promedio de P₄ (ng/ml) en animales con luteólisis

Horas post-tratamiento	TRATAMIENTOS					Promedio/ total
	IM	IPS	CON	SUP	INF	
	n=16	n=10	n=8	n=13	n=10	n=56
	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
0 HRS	5.60	6.34	4.78	5.85	4.37	5.46
12 HRS	2.24	2.55	2.20	3.02	2.03	2.43
24 HRS	1.03	1.39	0.95	1.35	1.16	1.18
48 HRS	0.39	0.28	0.33	0.31	0.32	0.33
72 HRS	0.19 (n=10)	0.15 (n=5)	0.30 (n=4)	0.45 (n=6)	0.20 (n=5)	0.25 (n=30)

No hay diferencias ($p > 0.05$) entre grupos. Entre paréntesis se indica el número de animales sangrados a las 72 hrs debido a que aún no presentaban estro.

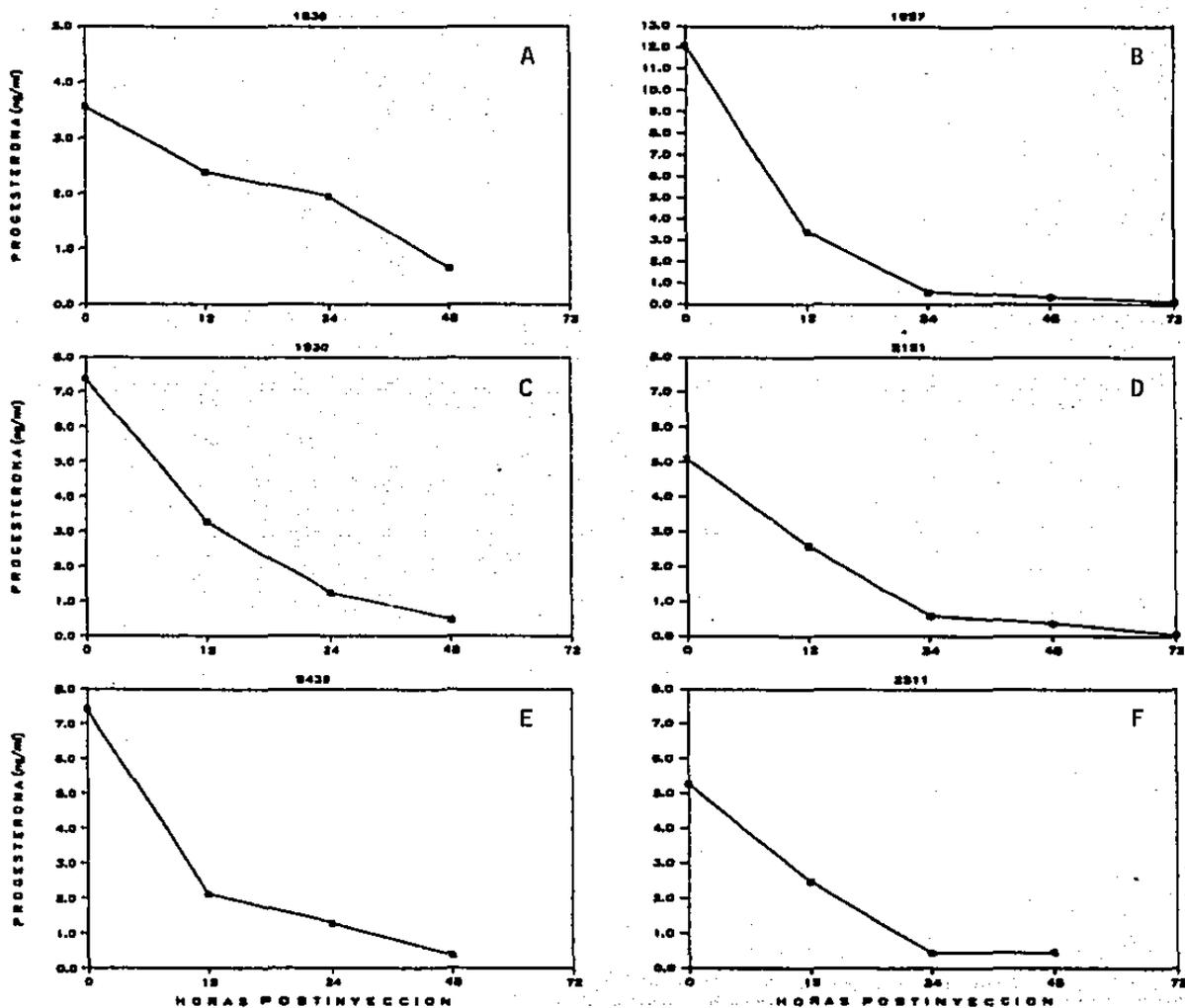


Figura 1: Niveles de progesterona después del tratamiento con 25 mg de PGF2 alfa aplicada por vía intramuscular en animales con luteólisis efectiva.

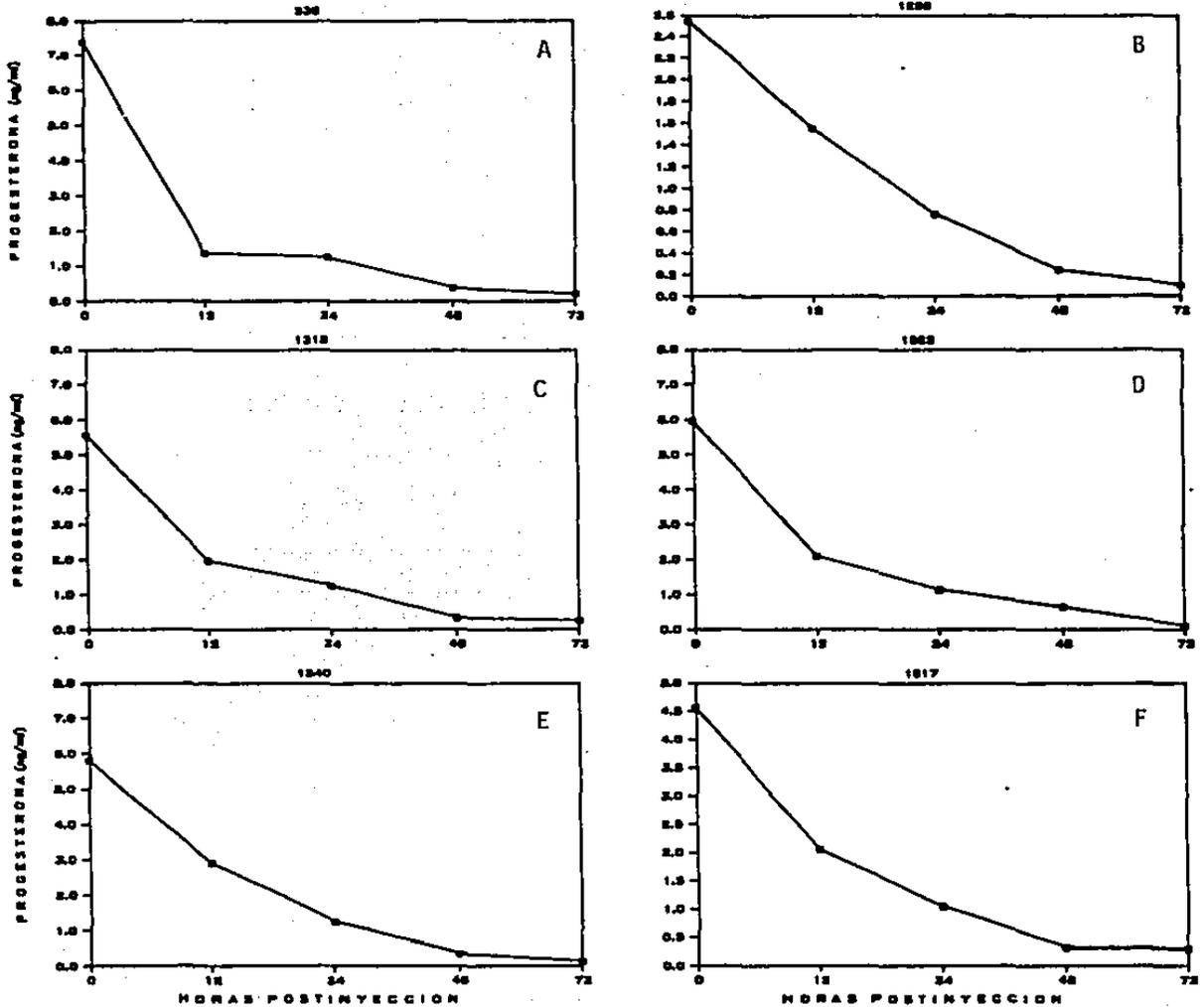


Figura 2: Niveles de progesterona después del tratamiento con 25 mg de PGF2 alfa aplicada por vía intramuscular en animales con luteólisis efectiva.

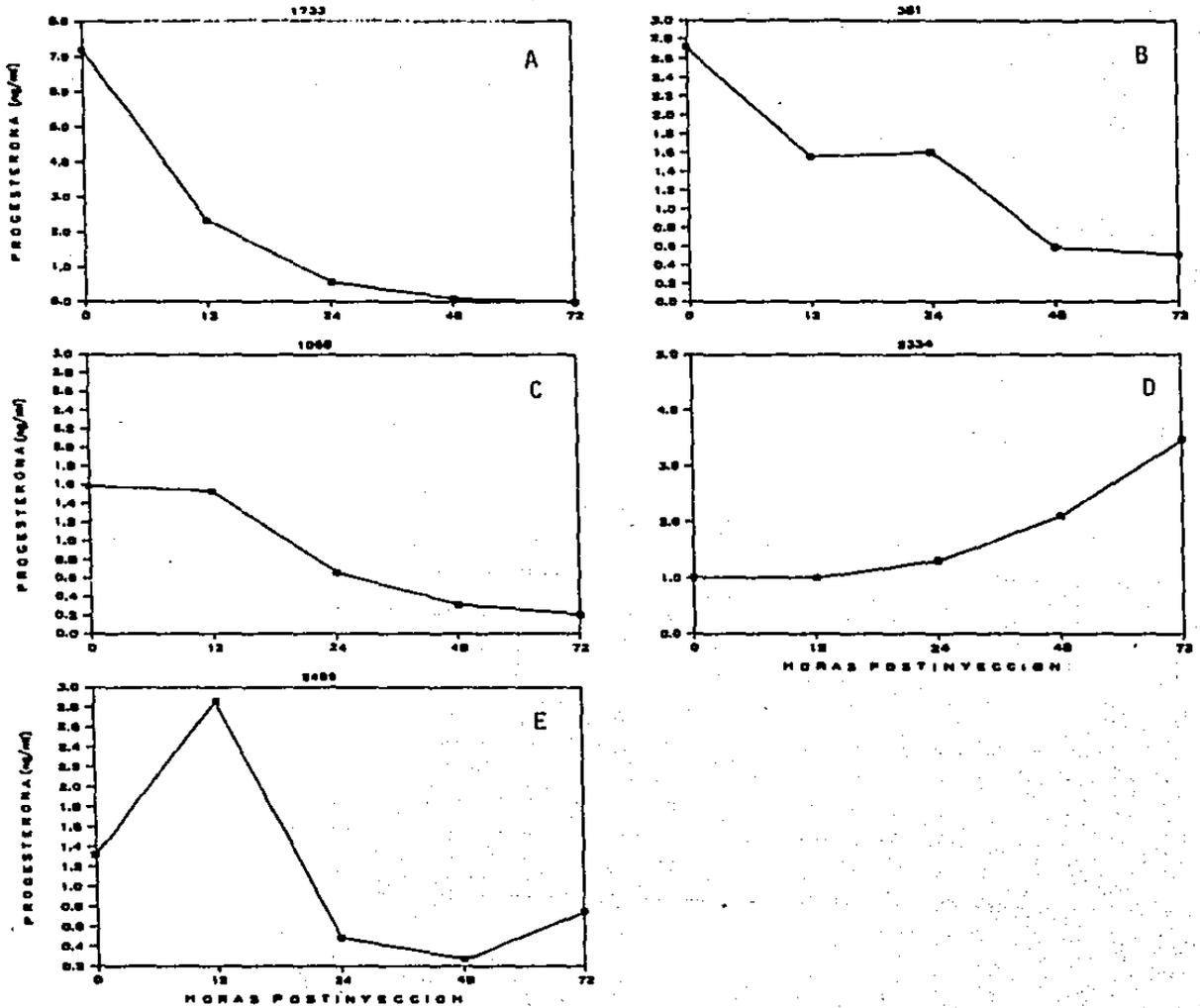


Figura 3: Niveles de progesterona después del tratamiento con 25 mg de PGF2 alfa aplicada por vía intramuscular en animales con luteólisis efectiva (A,B,C,E), o sin respuesta a la inyección(D).

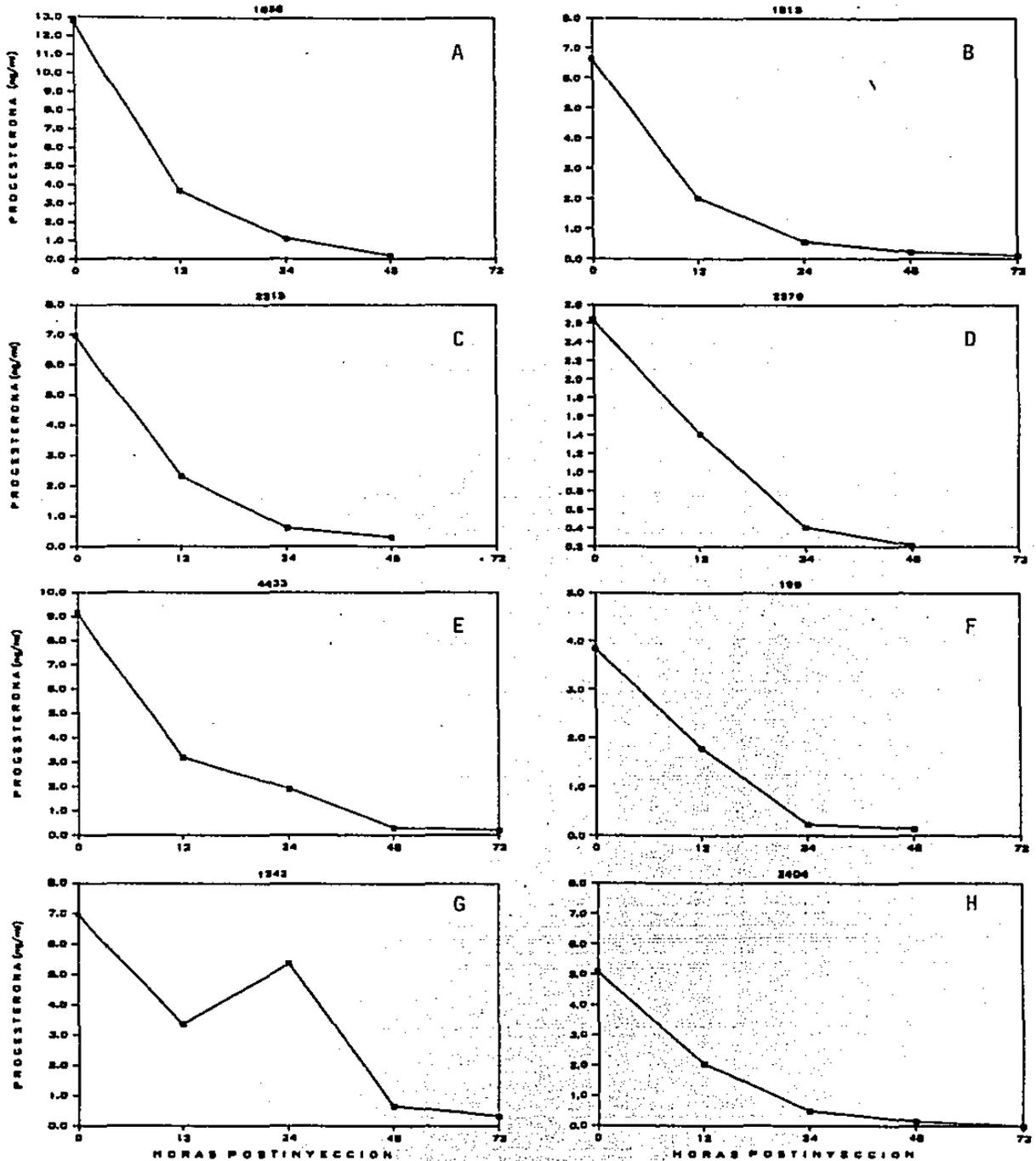


Figura 4: Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF2 alfa aplicada por vía vulvar ipsilateral al CL en animales con luteólisis efectiva.

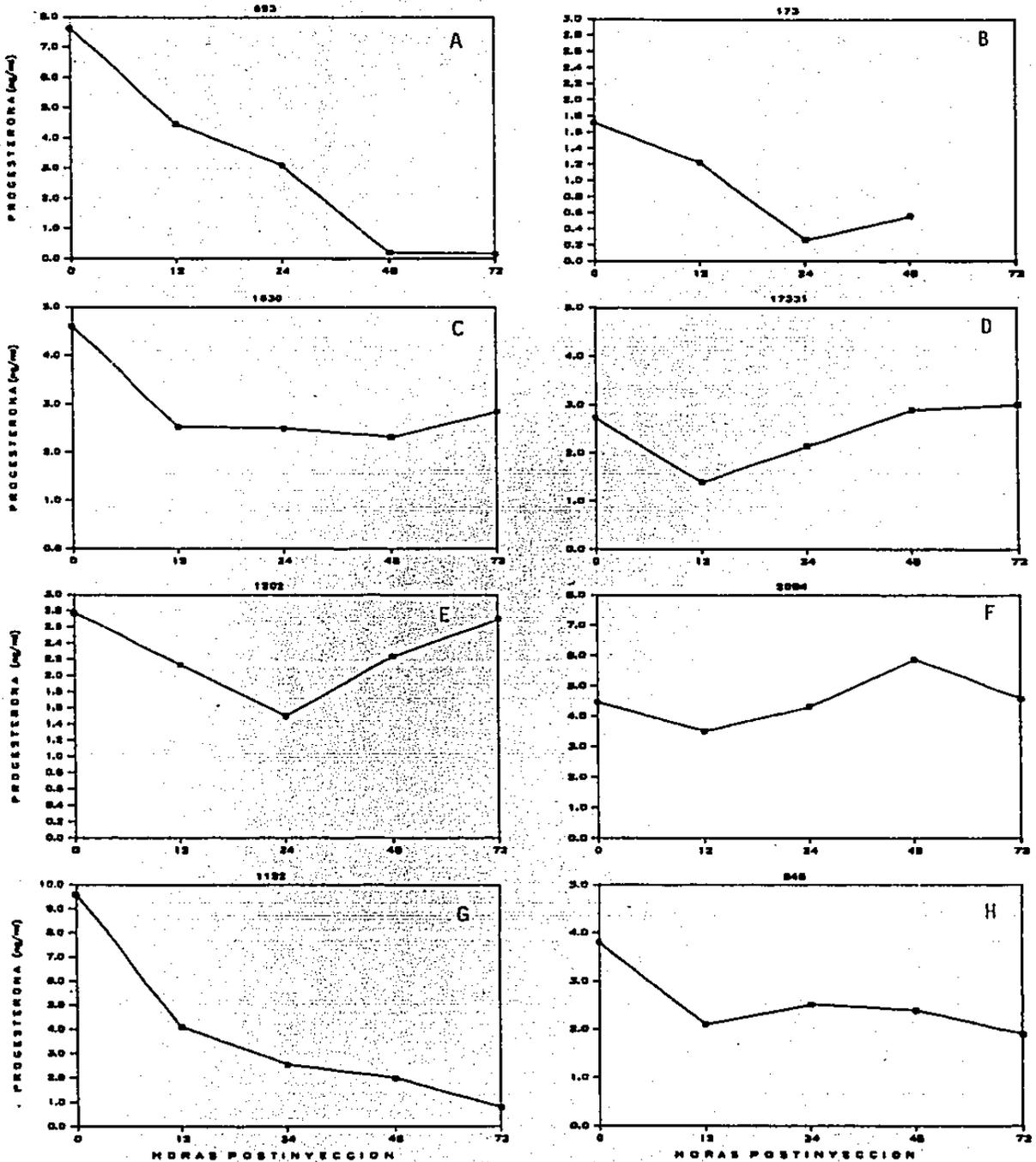


Figura 5: Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF2 alfa aplicada por vía vulvar, ipsilateral al CL en animales con luteólisis efectiva (A,B), o con respuesta parcial a la inyección (C-H).

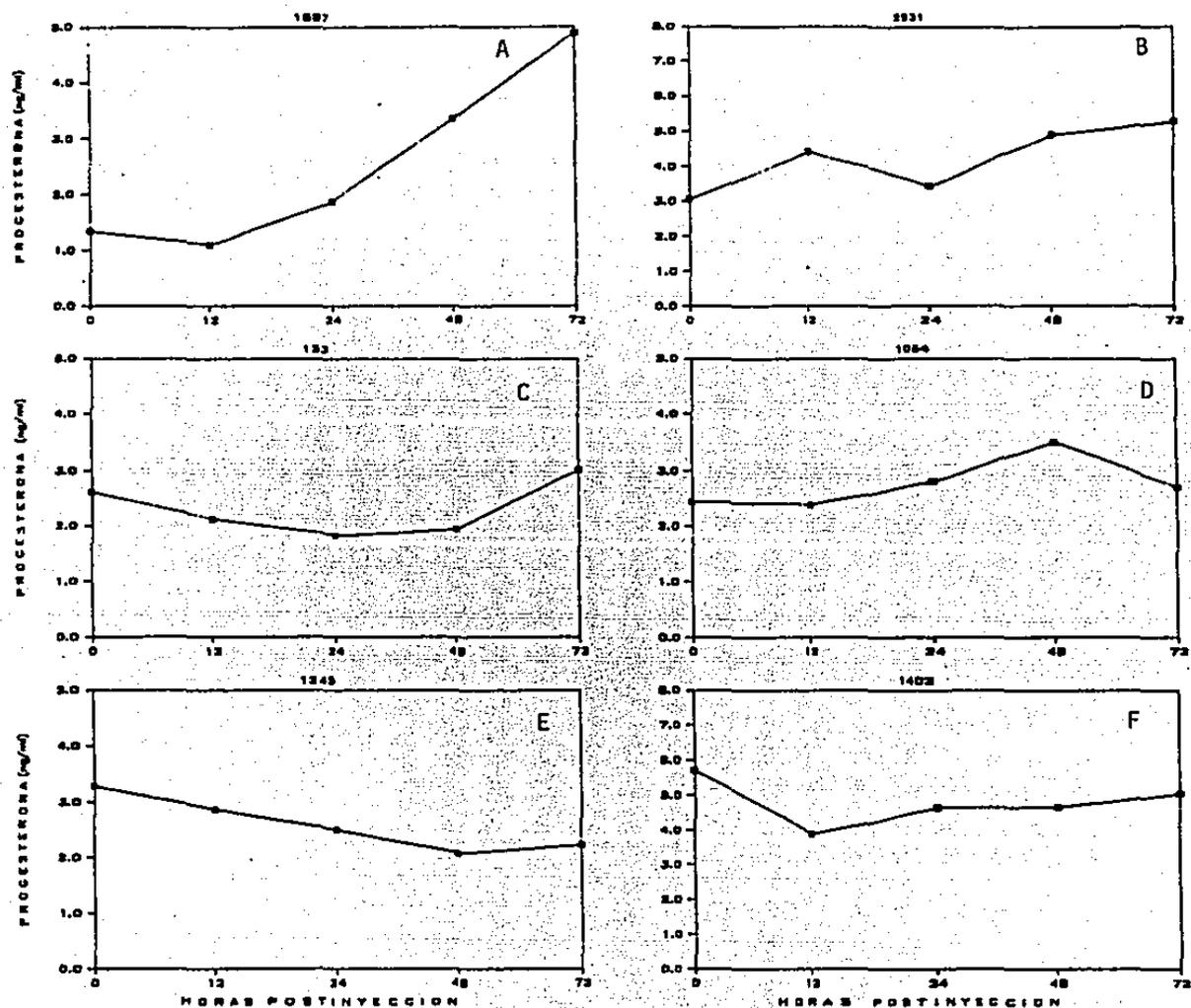


Figura 6: Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF2 alfa aplicada por vía vulvar, ipsilateral al CL en animales que no responden a la inyección.

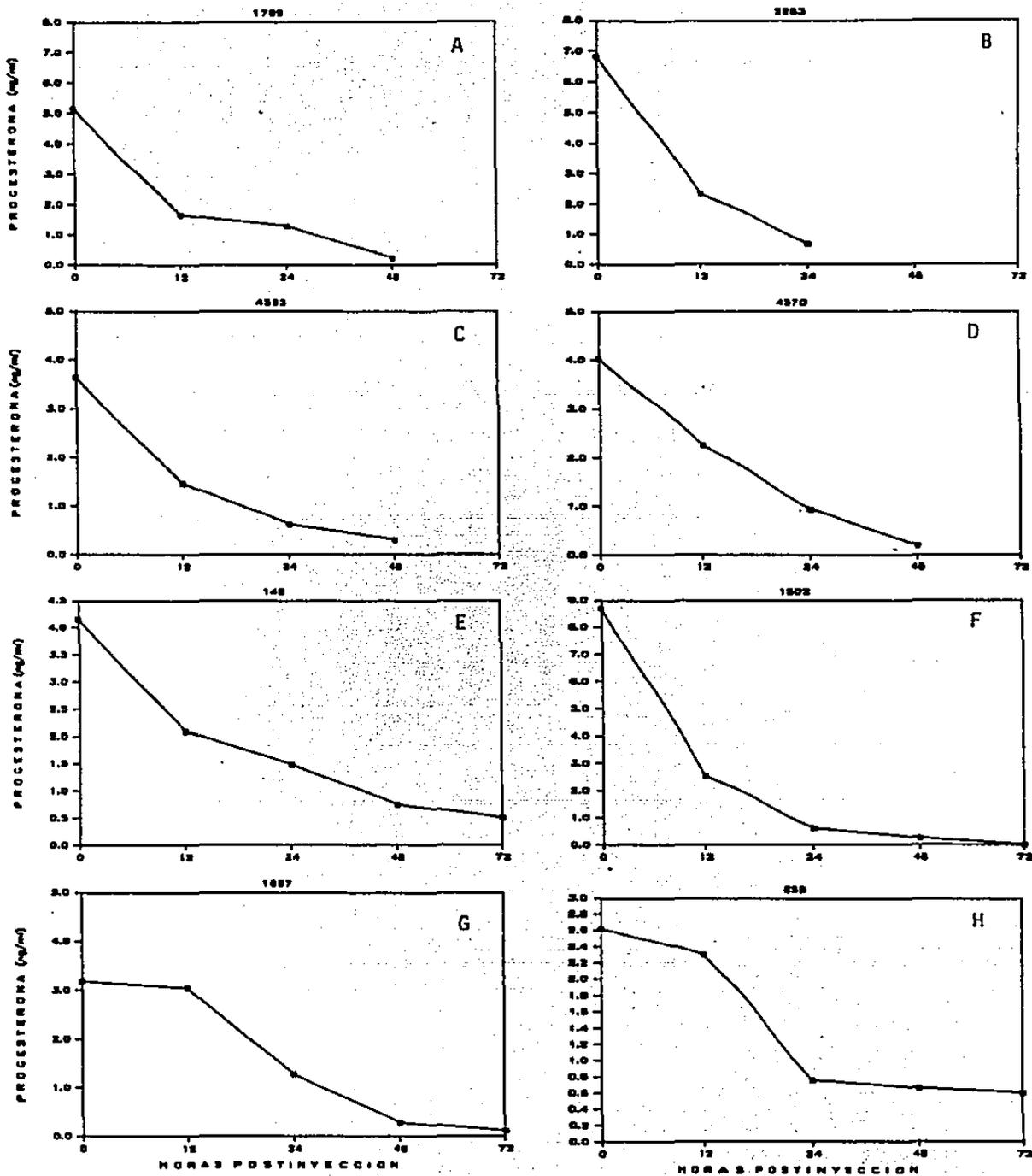


Figura 7: Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF2 alfa aplicada por vía vulvar, contralateral al CL en animales con luteólisis efectiva.

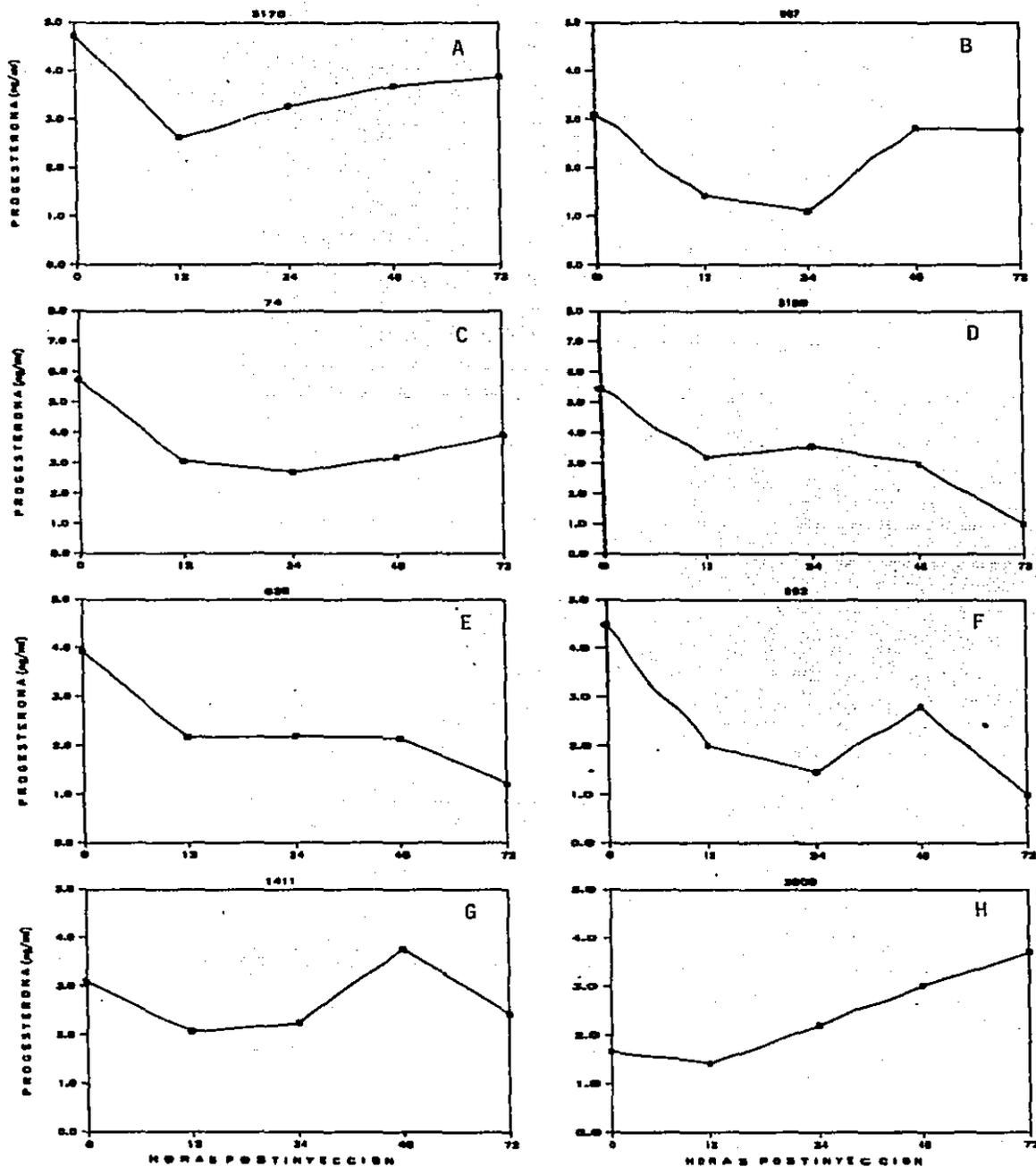


Figura 8: Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF2 alfa aplicada por vía vulvar, contralateral al CL en animales con respuesta parcial (A-G), o sin respuesta a la inyección(H).

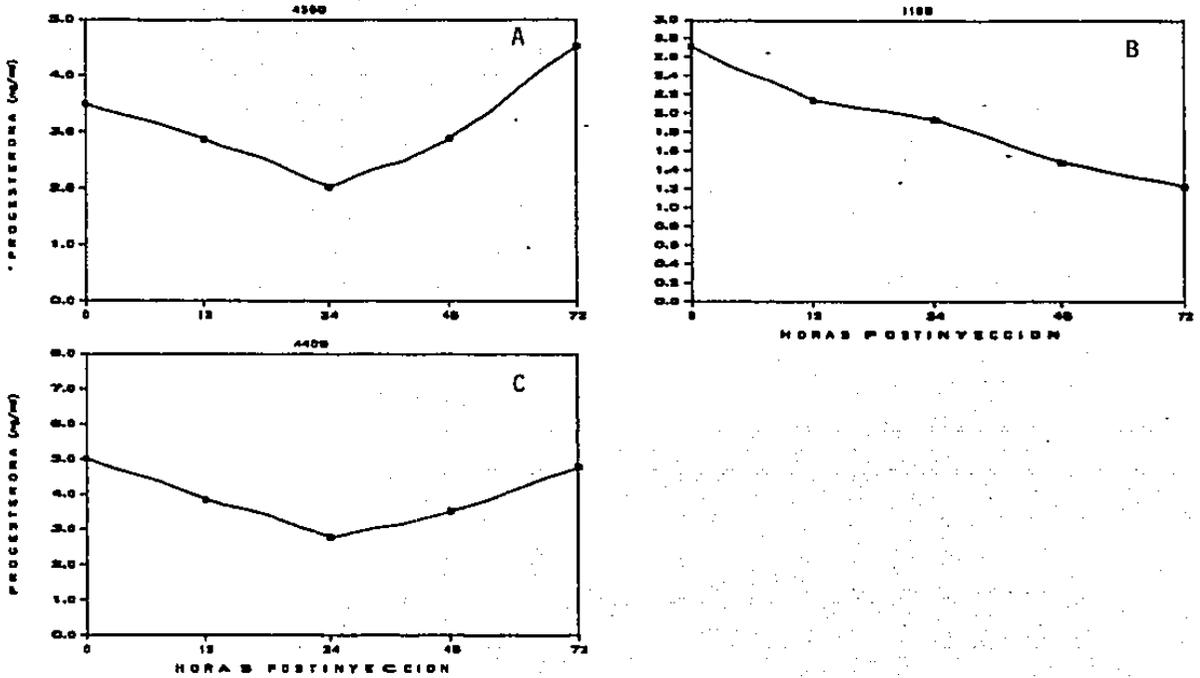


Figura 9: Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF2 alfa aplicada por vía vulvar, contralateral al CL en animales sin respuesta a la inyección.

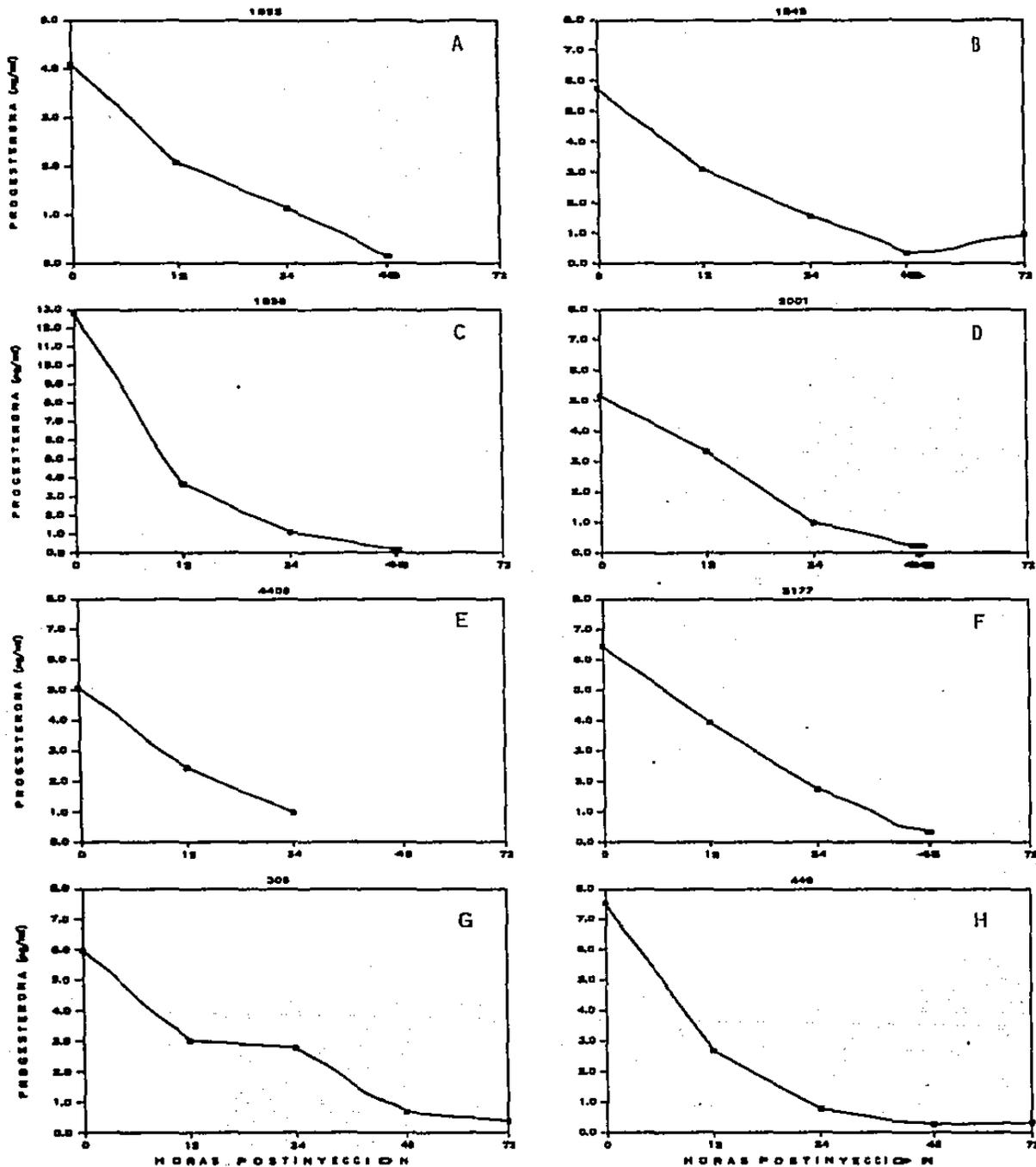


Figura 10: Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF2 alfa aplicada sobre la comisura dorsal de los labios vulvares en animales con una luteólisis efectiva.

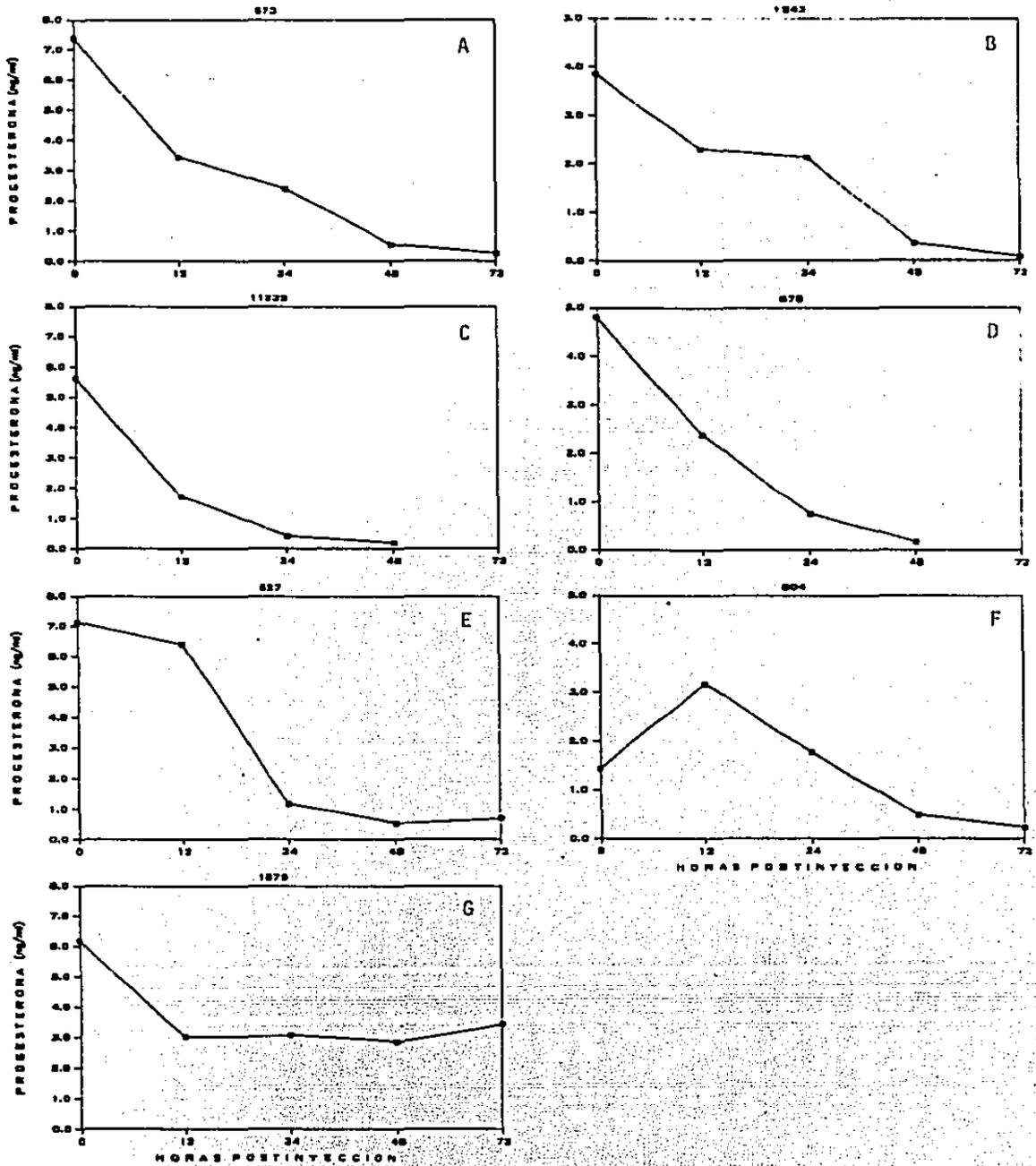


Figura 11: Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF2 alfa aplicada sobre la comisura dorsal de los labios vulvares en animales con luteólisis efectiva (A-F), o con respuesta parcial a la inyección (G).

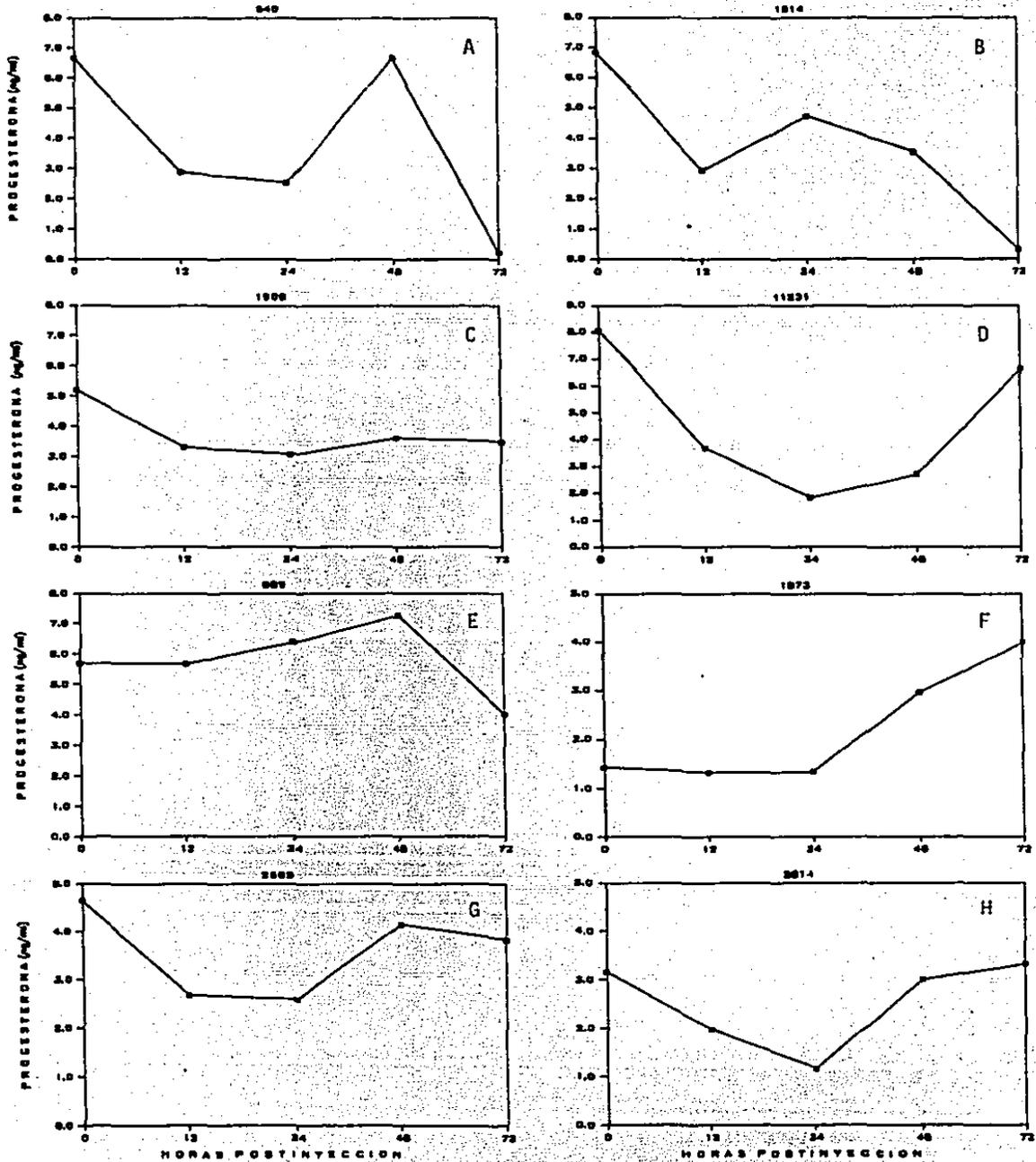


Figura 12: Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF2 alfa aplicada sobre la comisura dorsal de los labios vulvares en animales con una respuesta parcial (A,B,D,G,H), o sin respuesta a la inyección E,F).

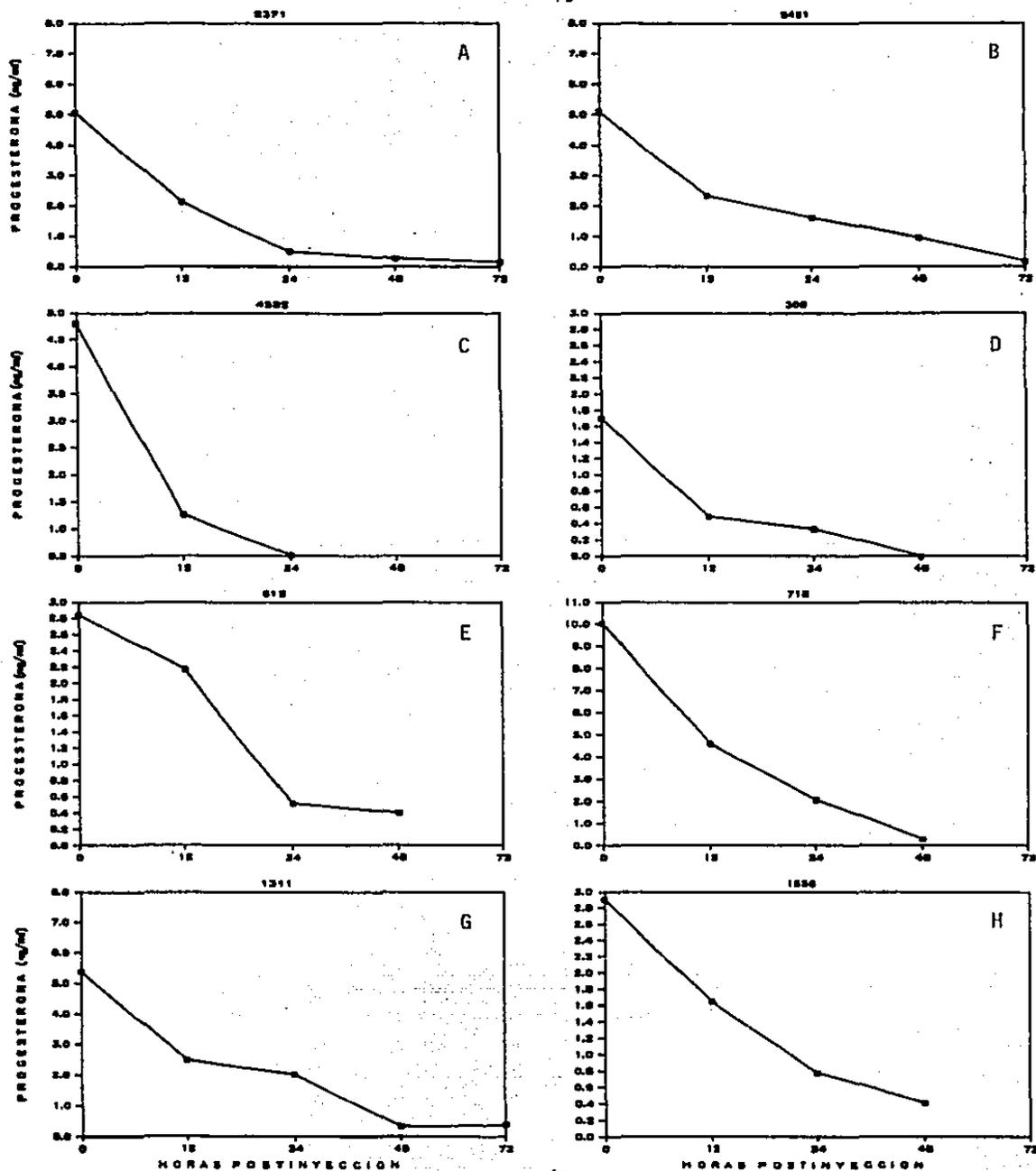


Figura 13: Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF2 alfa aplicada inferior a la comisura ventral de los labios vulvares en animales con luteólisis efectiva.

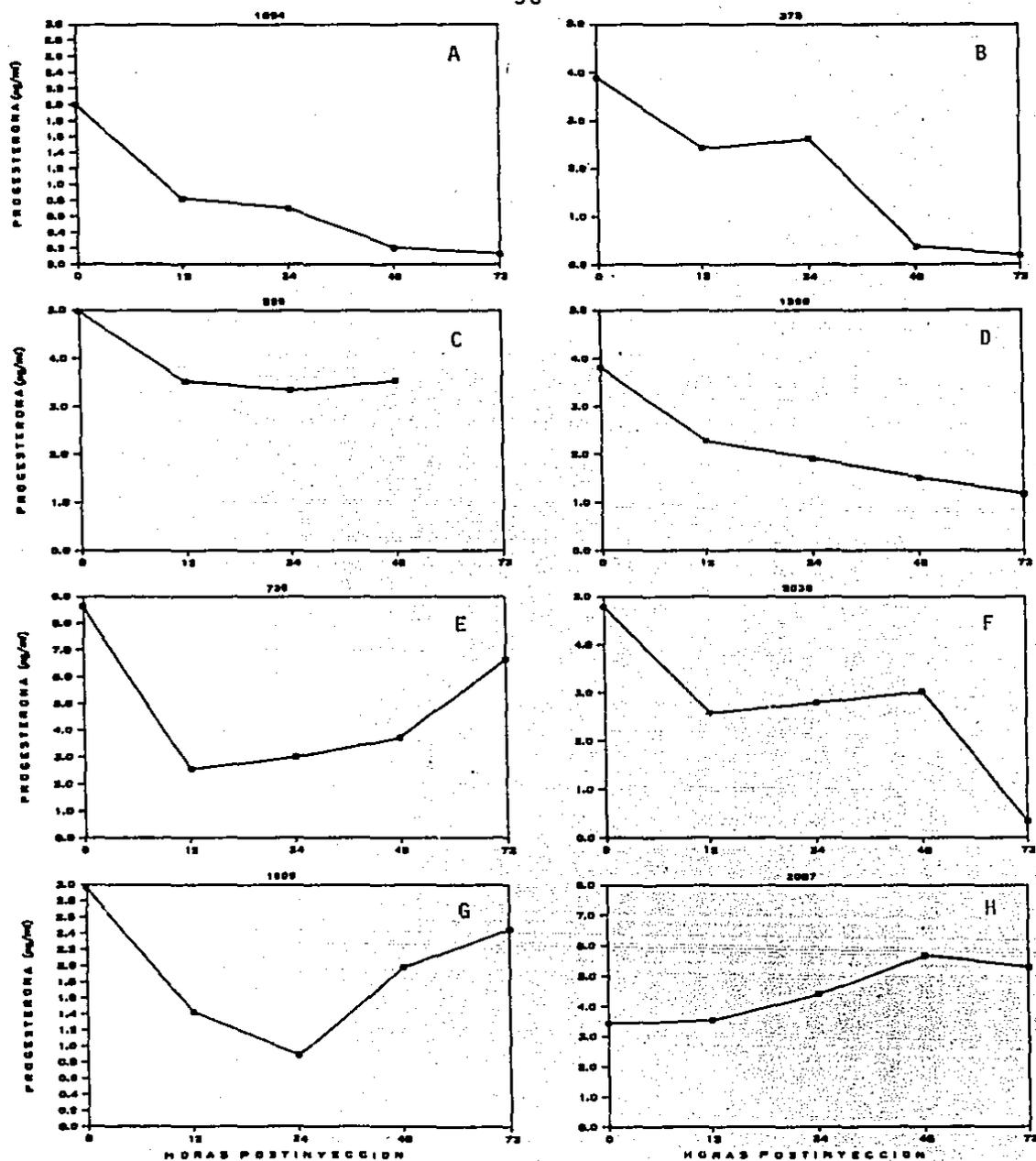


Figura 14: Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF2 alfa aplicada inferior a la comisura ventral de los labios vulvares en animales con luteólisis efectiva (A,B), con respuesta parcial (C-G) o sin respuesta a la inyección (H).

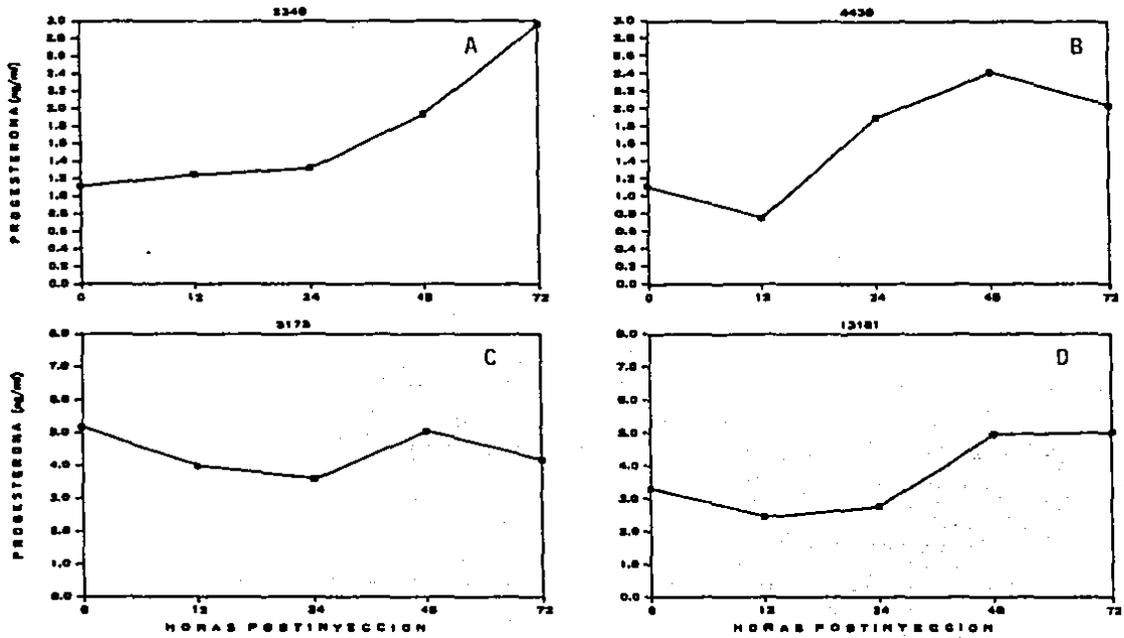


Figura 15: Niveles de progesterona después del tratamiento con 8 mg de PGF2 alfa aplicada inferior a la comisura ventral de los labios vulvares en animales sin respuesta a la inyección.

V. DISCUSION Y CONCLUSIONES

La respuesta al tratamiento con 25 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ i.m. en cuanto a luteólisis y presentación de estros (cuadros 1 y 3) concuerdan con resultados obtenidos en otros trabajos (Hafst y Manns, 1975; Lauderdale, 1975; Louis et al. 1975) en donde también se informa que la luteólisis efectiva resulta en que los niveles de P4 plasmática bajan a menos de 1 ng/ml a más tardar a las 48 hrs post-tratamiento, lo que ha sido ampliamente confirmado (Cooper y Rowson, 1975; Henricks et al. 1974; King et al. 1982; MacMillan y Henderson, 1984).

En relación a la concentración de P4 antes del tratamiento, los resultados del presente trabajo (cuadros 2 y 7) concuerdan con los de Horta et al., (1986) quienes encontraron un promedio de 5.3 ± 0.3 ng/ml, y con los de Watts y Fuquay (1985), que fueron de 5.18 y 5.22 ng/ml respectivamente en animales inyectados en los días 8-11 ó 12-15 del diestro. A pesar de que la media para este valor en nuestro trabajo es muy similar, se encontraron varios animales con concentraciones menores a 2 ng/ml al momento de la inyección. Hernández, (1989) encontró en vaquillas Holstein sangradas en los días 5, 6, y 7 postinseminación concentraciones plasmáticas de 1.33, 1.92, y 2.27 ng/ml respectivamente. Watts y Fuquay encontraron concentraciones de P4 similares para animales sangrados en los días 5-7 del diestro, que responden solamente en un 43% de casos al ser inyectados con 25 mg de $\text{PGF}_2\alpha$. Como lo mencionan estos autores existe una correlación del 82% entre la concentración

de P4 al momento del tratamiento y el nivel de respuesta alcanzado, ya que existen factores asociados con la madurez funcional del CL necesarios para que éste responda a la prostaglandina. Se sabe con certeza que los animales tratados antes del día 5 del ciclo estral no responden al tratamiento con prostaglandina natural o sus análogos, sin importar la dosis o vía de administración (Beal et al. 1980; Henricks et al. 1974; Inskoop, 1973; Saumande y Chupin, 1981).

En el único animal que no respondió al tratamiento i.m. (figura 3D) con 25 mg de $PGF_2\alpha$, la concentración de P4 al momento de la inyección era tan baja (1 ng/ml) que indica la posibilidad de que el animal se encontrara en el día 4 ó 5 del diestro, razón por la que el CL aún era refractario a la $PGF_2\alpha$. Esto también puede explicar la falla en la luteólisis de un animal del grupo IP (figura 6A), uno del grupo CON (figura 8H), uno del grupo SUP (figura 12F), y dos del grupo INF (figuras 15A y 15B). Sin embargo, ninguna de las otras fallas en la luteólisis en los grupos tratados con dosis reducida puede explicarse por la inmadurez del CL, ya que estos animales tenían concentraciones elevadas de P4 al ser inyectados. En este trabajo no fue posible determinar el día del ciclo en que se encontraban los animales seleccionados. Las vacas no fueron detectadas en estro con anterioridad al día del tratamiento por lo que fue imposible conocer la edad del CL palpado. Con las vaquillas ocurrió algo similar, ya que, éstas se seleccionaron primero por cumplir con el peso adecuado para recibir su primer servicio por lo que no tenían

registro de calores previos a la fecha del tratamiento. Es así como el estatus funcional del CL se determinó sólomente por la concentración sérica de P4.

Otro factor que puede haber afectado es que parte de la $PGF_2\alpha$ haya drenado directamente a la circulación general, ocasionando que la dosis que llegara al ovario fuera insuficiente. Sin embargo, esto no explicaría la respuesta luteolítica positiva en la mitad de los animales tratados intravulvarmente (cuadro 1). Además, el punto exacto en que se deposita el producto es el mismo que en la vía i.v.s.m., lo que varía es la forma de introducir la aguja hasta el punto de deposición.

Como se vio en las gráficas de las curvas de P4 citadas en los resultados, se presentaron respuestas muy variables. Algunos animales respondieron con una caída inmediata y sostenida de P4 hasta alcanzar concentraciones menores a 1 ng/ml a las 48 hrs, caracterizando una respuesta luteolítica efectiva. En otros animales se presentó una disminución inicial en la P4, que en pocas horas se recuperó, lo que probablemente indica que la dosis que llegó al CL fue insuficiente, permitiendo la recuperación de éste después de una reducción transitoria en su función.

Se ha demostrado que la administración de una dosis insuficiente de $PGF_2\alpha$ resulta en una caída transitoria en la función del CL seguida por una recuperación en la función del mismo, por lo que la luteólisis no se completa (Chauhan et al 1986; Thorburn y Nicol, 1971)). Esto también se ha comprobado

en ovejas con persistencia espontánea del CL, en las que la producción insuficiente de prostaglandina endógena resulta solamente en una reducción temporal en la producción de progesterona por el CL (Zarco et al., 1984) Al analizar los resultados de este trabajo es evidente que independientemente de que la aplicación vulvar de $PGF_2\alpha$ en dosis reducida es capaz de producir una luteólisis efectiva en algunos animales, en un porcentaje importante de estos, la dosis es insuficiente, por lo que la luteólisis no se completa.

En otros animales tratados vulvarmente se produjo una disminución inicial, luego una recuperación, y finalmente una caída de la P4. Es posible que en estos animales el efecto final se deba a secreción de $PGF_2\alpha$ de origen endógeno, estimulada por la baja inicial de P4 (McCracken, 1984). Esta aseveración es apoyada por el retraso en la presentación de estros en los animales con este tipo de perfil de P4. Por ejemplo los animales de las figuras 8d, 8f, y 14f, presentaron estro hasta las 126, 120, y 124 hrs postratamiento respectivamente. Chauhan et al. (1986) también obtuvieron patrones irregulares en la caída de P4, que describen como "luteólisis incompleta" en animales tratados con 62.5 μ g de cloprostenol.

El nivel de respuesta luteolítica a las dosis de 8 mg aplicadas por vía vulvar fue bajo independientemente del sitio de la vulva en que se aplicara la prostaglandina (menos del 57% de luteólisis efectiva), sin diferencias entre los grupos (cuadro 1) y con un nivel máximo de estros manifiestos

del 34.7% (cuadro 3). Estos resultados son bajos al compararlos con trabajos como el de Córdova y Fraga (1987), quienes dicen haber obtenido un 66.6% de estros manifiestos y 33.3% de estros silenciosos al aplicar 8 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ i.v.s.m.. Sin embargo, en ese trabajo no se midieron los niveles plasmáticos de P4 antes o después del tratamiento, por lo que se pudo errar al incluir animales que por sí solos ya estaban lisando el CL. También se pueden haber incluido animales que no tenían un CL funcional aunque a la palpación rectal parecieran tenerlo, situación que puede ocurrir hasta en un 20% de los animales seleccionados (Ortiz et al. 1986). Es posible también que se haya considerado erróneamente un animal que estaba en estro sin estarlo realmente, situación que se presenta con frecuencia (Appleyard y Cook, 1976). En otros experimentos, como el de Ono et al. (1982) con 6 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ i.v.s.m. se obtienen 35.7% de estros manifiestos hasta las 72 hrs. post-tratamiento. Alberio et al. (1987) con 1/4 de dosis (125 μg) de cloprostenol i.v.s.m. obtienen tan sólo 20% de estros manifiestos, aún considerando hasta las 120 hrs post-tratamiento, y Chauhan et al. (1986) con la misma dosis obtienen 46.4% de estros manifiestos y 21.4% de estros silenciosos. Son estos dos últimos trabajos los que más se acercan a los resultados obtenidos en la presente investigación (cuadro 3).

Con respecto al efecto del sitio de la vulva en que se realiza la aplicación (ipsilateral o contralateral al CL, superior o inferior a la comisura dorsal y ventral,

respectivamente), los resultados de este trabajo indican que no existe ningún efecto del punto de aplicación sobre ninguno de los parámetros evaluados. Esto podría incluso indicar que la $PGF_{2\alpha}$ está llegando al CL por vía sistémica, y dependerá de la sensibilidad del animal si la dosis que llega al CL es o no suficiente para ocasionar la luteólisis.

Es aparente que en todos los grupos hubo animales que sí respondieron a las dosis reducidas de $PGF_{2\alpha}$, y en esos casos la relación temporal entre la inyección, la luteólisis, y el estro, fueron similares a los del grupo tratado con la dosis completa por vía i.m.. Esto parece indicar que existe un umbral de sensibilidad a la $PGF_{2\alpha}$, el cual de ser alcanzado resulta en una luteólisis normal. Por el contrario, si no se alcanza este umbral, se da una lutolisis incompleta, o una falta total de respuesta.

El intervalo tratamiento-estro manifiesto en los animales que presentan luteólisis (64.6 hrs, cuadro 6) es más corto que el valor reportado por Horta *et al.* (1986), quienes a pesar de no encontrar diferencias significativas entre dosis i.m. (550 μ g) y dosis i.v.s.m. (125 μ g) de cloprostenol, obtienen un intervalo al estro de 82.2 hrs. en promedio. Córdova y Fraga (1978) con 8 mg de $PGF_{2\alpha}$ obtienen un intervalo al estro de 71.2 hrs.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo no concuerdan del todo con otros experimentos en los que al utilizar dosis reducidas de prostaglandinas naturales o sintéticas por vía i.v.s.m. se obtuvieron porcentajes de

respuesta más elevados (Chauhan *et al.* 1986; Horta *et al.* 1986; Córdova y Fraga, 1987; Córdova y Castro 1988; Córdova y Villa, 1988a; 1988b). Sin embargo, creemos que la metodología utilizada a través del monitoreo de los niveles de P4 plasmática, antes, y a intervalos regulares después del tratamiento, nos permitieron establecer con mayor certeza, el número de animales en los que ocurrió la luteólisis. El limitarse a evaluar la efectividad de este tipo de tratamientos a través del número de animales en estro puede resultar subjetivo, ya que la evaluación puede verse afectada por el sistema de detección de calores, en el caso de estros manifiestos, y por la habilidad del palpador para diagnosticar signos como desarrollo folicular y regresión morfológica del CL, que no siempre coinciden con una luteólisis completa (Watson y Munro, 1980).

La aplicación perivulvar de la $PGF_{2\alpha}$ resultó ser muy práctica por la rapidez de la inyección, y porque no se presenta ningún tipo de respuesta inflamatoria en el sitio de aplicación. Sin embargo, los resultados obtenidos al usar una dosis de 8 mg son demasiado pobres al compararlos con la respuesta que se consigue con la dosis intramuscular completa (25 mg), por lo que no puede recomendarse su uso. Sin embargo podría resultar conveniente el seguir evaluando el uso de dosis mayores a 8 mg de $PGF_{2\alpha}$ utilizando la vía de aplicación perivulvar. Con los resultados del presente trabajo tampoco se puede excluir la posibilidad de que las prostaglandinas sintéticas si sean capaces de inducir la luteólisis en dosis

reducida al aplicarse vulvarmente. Por esto sería conveniente realizar estudios similares al presente utilizando prostaglandinas sintéticas.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

VI.LITERATURA CITADA

1. Adeyemo, O., Akpokodje, U. and Odili, P.I.: Control of estrus in Bos Indicus and Bos Taurus heifers with prostaglandin F₂α. Theriogenology, 12: 255-262 (1979).
2. Alberio R.H., Butler H.M., Schiersmann G.C., Tortonese D. and Torquati, O.: Induction of luteolysis by means of a reduced dose of a luteolytic agent. Anim. Breed. Abstr. 55: Abstr. 6093 (1987).
3. Appleyard, W.T. and Cook, B.: The detection of oestrus in dairy cattle. Vet.Rec., 99: 233-256 (1976)
4. Baird, D.T., Land, R.B., Scaramuzzi, R.J. and Wheeler, A.G.: Functional assesment of the autotransplanted uterus and ovary in the ewe. Proc. Royal Soc. Med. (London), B 192: 1340-1349 (1976).
5. Barcikowski, B., Carlson, J.C., Wilson, L. and McCracken, J.A.: The effect of endogenous and exogenous estradiol 17β on the release of prostaglandin F₂α from the ovine uterus. Endocrinology, 95: 1340-1349 (1974).
6. Beal, W.E., Milvae, R.A. and Hansel, W.: Oestrus cycle length and plasma progesterone concentrations following administration of prostaglandin F₂α early in the bovine oestrus cycle. J. Reprod. Fert., 59: 393-396 (1980).
7. Betteridge, K.J., Sudgen, E.A. and Eaglesome, M.D.: Synchronization of estrus and ovulation in cattle with the prostaglandin analogue AY24655. Can. J. Anim. Sci. 57: 23-32 (1977).
8. Bond, G.C., Archibald, L.F. and Godke, R.A.: The effect of minimal dose levels of prostaglandin and cloprostenol (ICI-80996) given intravenously to cycling beef heifers. Theriogenology, 13: 88 (1980).
9. 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 subestrus cattle. Theriogenology, 26: 69-75 (1986).
10. Cooper, M.J. and Rowson, L.E.A.: Control of the oestrous cycle in friesian heifers with ICI 80,996. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 15: 427-436 (1975).
11. Cordova, S.L.A., Fraga, E.E.: Sincronización del estro con dosis reducidas de PGF₂α aplicadas por vía submucosa intravulvar. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México: p.365. UNAM-INIFAP México, D.F. (1987).

12. Cordova, S.L.A. y Castro, G.E.: Utilización de cloprostenol, dinoprost y luprostiol por vía submucosa intravulvar para sincronización del estro en vaquillas Holstein. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México: p.119. UNAM-INIFAP México, D.F. (1988).
13. Cordova, S.L.A., Villa, G.A., Jimenez, K.F. y Flores, L.R.: Aplicación de dosis mínimas de luprostiol por vía submucosa intravulvar, ipsilateral o contralateral al cuerpo luteo. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México: p.120 UNAM-INIFAP México, D.F. (1988).
14. Cordova, 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 la Reunión de Investigación Pecuaria en México: p.120 UNAM-INIFAP México, D.F. (1988).
15. Del Campo, C.H. and Ginther O.J.: Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: horses, sheep, and swine. Amer. J. Vet. Res., 34: 305.(1973)
16. Del Campo, C.H., Rowe, R.F., French, L.R. and Ginther O.J.: Unilateral relationship of embryos and corpus luteum in cattle. Biol. Reprod., 16: 580-585 (1977)
17. Etherington, W.G., 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 an embryo transfer recipient herd. Theriogenology, 25: 845-854 (1986).
18. Gill, J.L.: Design and analysis of experiments in the animal and medical sciences. Vol.I. The Iowa State University Press. First Ed. Ames. Iowa, U.S.A. 1978.
19. Ginther O.J.,: Utero-ovarian relationships in cattle: physiological aspects. J.A.V.M.A., 153: 1656-1664.(1968)
20. Ginther O.J.: Internal regulation of physiological processes through local venoarterial pathways: a review. J. Anim. Sci. 39: 550-564 (1974)
21. Ginther O.J.: Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects. Published by the author, department of Veterinary Science, University of Wisconsin, U.S.A. (1979).
22. Ginther O.J.: Local versus systemic uteroovarian relationships in farm animals. Acta Vet. Scand. Suppl 77: 103-115 (1981).

23. Ginther, O.J., Pope, A.L. and Casida, L.E.: Local effect of intrauterine plastic coil on the oestrus cycle of the heifer. J. Anim. Sci., 25: 472-475 (1966)
24. Ginther, O.J., Woody, C.O., Mahajan, S., Janakiraman, K. and Casida, L.E.; Effect of oxytocin administration on the oestrus cycle of unilaterally hysterectomized heifers. J. Reprod. Fert., 14: 225-229 (1967)
25. Ginther O.J. and First, N.L.: Maintenance of the corpus luteum in hysterectomized mares. Am. J. Vet. Res., 32: 1687-1691 (1971)
26. Ginther, O.J. and DelCampo, H.C.: Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: Areas of close apposition between the ovarian artery and vessels which contain uterine venous blood in sheep. Am. J. Vet. Res. 34: 1387 (1973).
27. 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)
28. Granstrom, E.: Prostaglandin chemistry. Acta Vet. Scand. Suppl. 77: 1-39 (1981)
29. Hafst, H.D. and Manns, J.G.: Onset of oestrus and fertility of dairy heifers and suckled beef cows treated with prostaglandin F₂ alpha. Anim. Prod. 21: 13-20 (1975).
30. Harrison, F.A., Heap, R.B. and Linzell, J.L.: Ovarian function in the sheep after autotransplantation of the ovary and uterus to the neck. J. Endocrinology: 40: Proceedings xiii (Abstract) (1968)
31. Henricks, D.M., Long, J.T., Hill, J.R. and Dickey, J.F.: The effect of prostaglandin F₂alpha during various stages of the oestrus cycle of beef heifers. J. Reprod. Fert., 41: 113-120 (1974).
32. Hernández J.: Incidencia de ovulación retardada y sus efectos sobre la función del cuerpo lúteo y la fertilidad de vaquillas holstein. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1989.
33. Hixon, J., and Hansel, W.: Preferential transfer of prostaglandin F₂α to the ipsilateral ovarian artery following intrauterine administration in cattle. Biol. Reprod., 11: 543-552 (1974).

34. 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).
35. Inskeep, E.K.: Potential uses of prostaglandins in the control of reproductive cycles of domestic animals. J. Anim. Sci., 36: 1149-1157 (1973).
36. Kindahl, H., Lindell, J.O. and Edqvist L.E.: Release of prostaglandin F₂ alpha during the oestrus cycle. Acta Vet. Scand., Suppl.77: 143-158 (1981).
37. King, G.J., and Robertson H.A.: A two injection schedule with prostaglandin F₂ alpha for the regulation of the ovulatory cycle of cattle. Theriogenology, 1: 123-128 (1974).
38. King, M.E., Kiracofe, G.H., Stevenson, J.S. and Schalles, R.R.: Effect of stage of estrous cycle on interval to estrus after PGF₂alpha in beef cattle. Theriogenology, 18: 191-200 (1982).
39. Lauderdale, J.W. : The use of prostaglandins in cattle.. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 15 : 419-425 (1975).
40. Loeb, L.: The effect of the extirpation of the uterus on the life and function of the corpus luteum in the guinea pig. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 20: 441-443 (1923).
41. Louis, T.M., Hafs, H.D. and Morrow, D.A.: Estrus and ovulation after uterine PGF₂alpha in cows. J. Anim. Sci., 35: Abstr.247, (1972).
42. Louis, T.M., Hafs, H.D. and Morrow D.A.: Intrauterine administration of prostaglandin F₂alpha in cows. Progesterone, estrogen, LH, estrus and ovulation. J. Anim. Sci., 38: 347-353 (1974).
43. Louis, T.M., Hafs, H.D. and Stellflug, J.N.,: Control of ovulation, fertility and endocrine response after prostaglandin F₂alpha in cattle. Ann. Bio. anim. Bioch. Biophys., 15: 407-417 (1975).
44. Macmillan, K.L. and Day, A.M.: Prostaglandin F₂alpha, a fertility drug in dairy cattle? Theriogenology, 18: (1982).
45. Macmillan, K.L. and Henderson, H.V.: Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F₂alpha to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows. Anim. Reprod. Sci., 6: 245-254 (1983).

46. Mapletoft, R.J., Del Campo, M.R. and Ginther, O.J.: Unilateral luteotropic effect of uterine venous effluent of a gravid uterine horn in sheep. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 150: 129-133 (1975)
47. Martinez, A.J.L., Porrás, A.A., Zarco, 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. 125 UNAM-INIFAP México, D.F. (1988).
48. McCracken J.A.: Hormone receptor control of $PGF_{2\alpha}$ secretion by the ovine uterus. Advances in prostaglandin and thromboxane research. 8: 1329-1334.(1980)
49. McCracken J.A., 1984: Update on luteolysis - receptor regulation of pulsatile secretion of prostaglandin $F_{2\alpha}$ from the uterus. Res. Reprod., 16: 1-2 (1984).
50. McCracken, J.A., Caldwell, B.V., Tillson, S.A., Thorneycroft, I.H. and Scaramuzzi, R.J.: Ovarian steroid secretion and LH levels in sheep after autotransplantation of the ovary, uterus, cervix, and vagina to the neck. Proceedings of the II Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction. Davis, CA., Abstr. 3 (1969).
51. McCracken, J.A., Glew, M.E. and Levy, L.K.: Regulation of corpus luteum function by gonadotrophins and related compounds. Advances in Biosciences, 4: 377-397 (1970a).
52. McCracken, J.A., Glew, M.E., and Scaramuzzi, R.J.: Corpus luteum regression induced by prostaglandin $F_{2\alpha}$. J. Clin. Endo. Metab., 30: 544-546 (1970b).
53. McCracken, J.A., Baird, D.T. and Goding, J.R.: Factors affecting the secretion of steroids from the transplanted ovary in sheep. Rec. Prog. in Horm. Res., 27: 537-582 (1971)
54. McCracken J.A., Carlson, J.C., Glew, M.E., Goding, G.R. and Baird, D.T.: Prostaglandin $F_{2\alpha}$ identified as the luteolytic hormone in sheep. Nature New Biology, 238: 129-134 (1972)
55. McCracken, J.A., and Schramm, W.: Prostaglandins and corpus luteum regression. In: A handbook of Prostaglandins and Related Compounds. Ed. P.B. Curtis-Prior. Pub.Churchill-Livingstone, Edinburgh (1983).

56. 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. anim. Bioch. Biophys. 15: 451-460 (1975).
57. Okulicz, W.C., Evans, R.W., and Leavitt, W.W.: Science, 213: 1503 (1981)
58. Ono, H., Fukui, Y., Terawaki, Y., Ohboshi, K., and Yamasaki, D.: An intravulvosubmucous injection of prostaglandin $F_2\alpha$ in anoestrus cows. Anim. Reprod. Sci., 5: 1-5 (1982).
59. Ortiz, G.O., Zarco, Q.L., y Suarez, 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. (1986).
60. Peters, A.R.: Luteolysis in cows using the prostaglandin $F_2\alpha$ analogue, tiaprost, and the effect of mode of administration. Vet. Rec., 114: 418-421 (1984).
61. 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)
62. Plunkett, S.S., Stevenson, J.S. and Call, E.P.: Prostaglandin $F_2\alpha$ for lactating dairy cows with a palpable corpus luteum but unobserved estrus. J. Dairy Sci., 67: 380-387 (1984).
63. Pulido, A.A., Zarco, Q.L., Galina, S.C., Murcia, M.C., Flores, G., y Posadas, M.E.: Metabolismo de progesterona en muestras de ganado Gyr. Efecto del anticoagulante, tiempo y temperatura de incubación. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México: 116. UNAM-INIFAP México, D.F. 1988.
64. Refsal, K.R. and Seguin, B.E.: Effect of stage of diestrus and number of cloprostenol (ICI 80996) injections on intervals to estrus, LH peak and ovulation in heifers. Theriogenology, 14: 37-48 (1980).
65. Roberts, J.S., McCracken, J.A., Gavagan, J.E. and Soloff, M.S.: Oxytocin stimulated release of prostaglandin $F_2\alpha$ from ovine endometrium: correlation with estrus cycle and oxytocin receptor binding. Endocrinology, 99: 1107-1114 (1976).

66. Roche, J.F. and Prendiville, D.J.: Control of estrus in dairy cows with a synthetic analogue of prostaglandin $F_{2\alpha}$. Theriogenology, 11: 153-162 (1979).
67. Rowson, L.E.A., Tervit, R. and Brand, A.: The use of prostaglandins for synchronization of oestrus in cattle. J. Reprod. Fert. 29: Abstr. 145 (1972)
68. Saumande, J., and Chupin, D.: The non-luteolytic effect of prostaglandin $F_{2\alpha}$ at the beginning of the bovine estrus cycle. Theriogenology, 15: 265-269 (1981).
69. Shams, O., Schallenberger, A., Hoffman, E. and Karg, H.: The estrus cycle of the cow: hormonal parameters and time relationships concerning estrus, ovulation, and electrical resistance of vaginal mucus. Acta Endocrinológica, 86: 180-192 (1972)
70. Shemesh, M. and Hansel, W.: Levels of Prostaglandin F in the bovine endometrium, uterine venous, ovarian arterial and jugular plasma during estrous cycle. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 148: 123-126 (1975).
71. Shemesh, M., Hansel, W., Strauss, J., Rafaeli, A., Lavi, S. and Mileguir, M.: Control of prostanoid synthesis in bovine trophoblast and placentome. Anim. Reprod. Sci., 7: 177-194 (1984).
72. 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 or 60 mg. of prostaglandin $F_{2\alpha}$. Prostaglandins, 9: 609-615 (1975).
73. Strandberg, K.: Some aspects on the pharmacology of prostaglandins. Acta Vet. Scand., Suppl. 77: 39-45 (1981)
74. Tanabe, T.Y. and Hann, R.C.: Synchronized estrus and subsequent conception in dairy heifers treated with prostaglandin $F_{2\alpha}$. Influence of stage of cycle at treatment. J. Anim. Sci. 58: 805-811 (1984)
75. Tervit, H.R., Rowson, L.E.A., and Brand, A.: Synchronization of oestrus in cattle using a prostaglandin $F_{2\alpha}$ analogue. J. Reprod. Fert., 34: 179-181 (1973).
76. 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)
77. Walpole, A.L.: Characteristics of prostaglandins. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 15: 389-406 (1975)

78. Watson, E.D. and Munro, C.D.: A re-assessment of the technique of rectal palpation of corpora lutea in cows. Br. Vet. J., 136: 550-560 (1981).
79. Watts, T.L. and Fuquay, J.W.: Response and fertility of dairy heifers following injection with prostaglandin F₂α during early, middle or late diestrus. Theriogenology, 23: 655-661 (1985).
80. Wilson, R., Cenedella, R.J., Butcher, R.L. and Inskip, E.K.: Levels of prostaglandins in the uterine endometrium during the ovine estrus cycle. J. Anim. Sci. 34: 93-99 (1972)
81. Zarco, L., Morán, E., y Galina, C.: Influencia del desarrollo folicular sobre la respuesta al tratamiento con prostaglandina F₂α en ganado holstein. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México: 185 UNAM-INIFAP México, D.F. (1985).
82. Zarco, L., Stabenfeldt, G.H., Kindahl, H., Quirke, J.F. and Granstrom, E.: Persistence of luteal activity in the non-pregnant ewe. Anim. Reprod. Sci. 7: 245-267 (1984).