

2 11663



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN**

**EFFECTO DE LA NALOXONA EN APLICACIONES REPETIDAS SOBRE  
LA LIBERACIÓN DE LA HORMONA LUTEINIZANTE Y LA  
ACTIVIDAD OVARICA POSPARTO EN VACAS DE DOBLE  
PROPÓSITO**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE  
MAESTRO EN REPRODUCCIÓN ANIMAL**

**POR:**

**JORGE VÍCTOR ROSETE FERNÁNDEZ**

**ASESOR: DR. ALEJANDRO VILLA-GODOY**

**AJUCHITLÁN, QRO.**

**2001**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

# PAGINACION DISCONTINUA

## **DEDICATORIAS**

**DEDICO ESTE TRABAJO A LAS PERSONAS  
QUE MÁS AMO Y RESPETO**

**A mi padre y a mi madre**

Quienes por gracia de dios y su amor hicieron posible mi ser

**A mis hermanas, hermano, sobrinos, sobrinas, cuñadas, cuñados, y concuño**

Por el cariño, confianza y aprecio que les tengo

**En especial, a mi esposa e hija**

***Alejandra y Ana Isabella***

Por el gran amor que les tengo

## **AGRADECIMIENTOS**

Por la participación y apoyo para la realización del programa académico, trabajo de campo, de laboratorio y del escrito final de esta tesis.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Centro Nacional de Investigación en Fisiología y Mejoramiento Animal, INIFAP

Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Subirán"

En especial a:

Dr. Alejandro Villa Godoy

Dr. Eugenio Villa Gómez Amézcua Manjares

MVZ Juvencio Lagunes Lagunes

Revisores de tesis: Dres. Everardo González Padilla, Alejandro Villa Godoy, Eugenio Villa Gómez Amézcua Manjares, Moisés Montaña Bermúdez y Héctor Vera Ávila

Compañeros y profesores de la maestría

Amigos investigadores y administrativos del Campo Experimental Las Margaritas

A todas a aquellas personas que han intervenido en mi formación

## CONTENIDO

	Pag.
<b>LISTA DE CUADROS</b>	III
<b>RESUMEN</b>	V
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	4
<b>ENDOCRINOLOGÍA DEL PERÍODO POSPARTO EN VACAS</b>	4
Características de secreción de las gonadotropinas hipofisarias	5
Efecto de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) sobre la secreción de la hormona luteinizante (LH) y la foliculo estimulante (FSH)	7
Efecto de la LH y la FSH sobre la secreción de las hormonas ováricas	7
Efecto de la prolactina sobre la anovulación posparto	8
Retroalimentación negativa de las hormonas ováricas	8
Concentración de las hormonas de la reproducción en las glándulas de origen durante el anestro posparto	10
<b>LA NUTRICIÓN EN EL ANESTRO POSPARTO</b>	13
<b>EL AMAMANTAMIENTO EN EL ANESTRO POSPARTO</b>	14
Efecto de la frecuencia del amamantamiento y del ordeño sobre la anovulación	15
Efecto de la presencia del becerro sobre la anovulación	16
Evaluación de los estímulos somatosensoriales sobre la anovulación	17
Posible ruta nerviosa del bloqueo de la secreción de la LH por el estímulo del amamantamiento	18
<b>LOS PÉPTIDOS OPIOIDES HIPOTALÁMICOS Y SU INTERVENCIÓN DURANTE EL ANESTRO POSPARTO</b>	19
Origen de los péptidos opioides	19
Mecanismo de acción de los péptidos opioides	20
Los péptidos opioides y su relación con las hormonas ováricas	21

Los péptidos opioides y su relación con el amamantamiento	25
<b>HIPÓTESIS</b>	28
<b>OBJETIVOS</b>	29
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	30
Animales	30
Manejo y alimentación	30
Tratamientos	31
Toma de muestras de sangre y medición de hormonas	31
Variables de respuesta	32
Diseño experimental y análisis estadístico	34
<b>RESULTADOS</b>	37
<b>DISCUSIÓN</b>	46
<b>CONCLUSIONES</b>	51
<b>LITERATURA CITADA</b>	52
<b>ANEXOS</b>	65

## LISTA DE CUADROS

CUADRO 1	Cuadros medios del análisis de varianza para número, de pulsos concentración promedio y basal de LH, en vacas de doble propósito tratadas con naloxona.	39
CUADRO 2	Medias de cuadrados mínimos y errores estándar del número de pulsos, concentración promedio y basal de LH en vacas de doble propósito tratadas con naloxona	40
CUADRO 3	Medias y desviaciones estándar de la concentración, amplitud y duración de pulsos de LH, en vacas de doble propósito tratadas con naloxona	41
CUADRO 4	Cuadros medios del análisis de varianza para número de pulsos, concentración promedio y basal de LH durante una hora después de inyectada la naloxona, en vacas de doble propósito.	42
CUADRO 5	Medias de cuadrados mínimos y errores estándar para número de pulsos, concentración promedio y basal de LH durante una hora después de inyectada la naloxona, en vacas de doble propósito	43
CUADRO 6	Medias y desviaciones estándar para concentración, amplitud y duración de pulso de LH durante una hora después de inyectada la naloxona, en vacas de doble propósito	44
CUADRO 7	Cuadros medios del análisis de varianza para días a primer estro, concepción posparto y servicios por concepción en vacas de doble propósito tratadas con naloxona	45
CUADRO 8	Medias de cuadrados mínimos y errores estándar para días a primer estro y concepción posparto, en vacas de doble propósito tratadas con naloxona	45
CUADRO 9	Cuadros medios de cambios de peso, condición corporal y promedio de producción de leche hasta los 30 días posparto en vacas de doble propósito tratadas con naloxona	65
CUADRO 10	Medias de cuadrados mínimos y errores estándar para cambios de peso, condición corporal y promedio de producción de leche hasta los 30 días posparto de vacas de doble propósito tratadas con naloxona	66
CUADRO 11	Cuadros medios de cambios de peso, condición corporal y promedio de producción de leche de los 30 hasta los 56 días posparto de vacas de doble propósito tratadas con naloxona	67



CUADRO 12	Medias de cuadrados mínimos y errores estándar para cambios de peso, condición corporal y promedio de producción de leche de los 30 a los 56 días posparto en vacas de doble propósito tratadas con naloxona	68
CUADRO 13	Cuadrados medios de cambio de peso de los 56 días posparto al día del estro y promedio de producción de leche del parto al día del estro en vacas de doble propósito tratadas con naloxona	69
CUADRO 14	Medias de cuadrados mínimos y errores estándar para cambio de peso del día 56 posparto al día del estro y promedio de producción de leche del parto al día del estro en vacas de doble propósito tratadas con naloxona.	70

## RESUMEN

**Jorge Víctor Rosete Fernández. Efecto de la naloxona en aplicaciones repetidas sobre la liberación de la hormona luteinizante y la actividad ovárica posparto en vacas de doble propósito. Asesor: Dr. Alejandro Villa Godoy.**

Se desconoce el efecto de la naloxona (NX) sobre las funciones reproductivas de vacas sometidas a ordeño y amamantamiento, como ocurre en aquellas destinadas al doble propósito. Se examinó el efecto de diferente número de inyecciones intramusculares de NX (500 mg) aplicadas el día 30 posparto (0 = T, 1 = 1NX ó 3 = 3NX a intervalos de 1 h), sobre el patrón de liberación de la hormona luteinizante (LH), el período del parto a la primera ovulación y al primer estro de vacas  $\frac{3}{4}$  de raza lechera (Holstein, Suizo o Simmental) x  $\frac{1}{4}$  Cebú (n = 18). Las vacas se mantuvieron en zacate Estrella de Africa (Cynodon plectostachyus) y gramas nativas (Axonopus y Paspalum spp.) y consumieron 5 kg de concentrado diariamente (16 % de PC). A partir del parto se les observó por dos períodos diarios de 1 h para detección de estros. Las vacas fueron ordeñadas mecánicamente dos veces al día y amamantaron a sus crías después de cada ordeño (30 min). Vacas y crías permanecieron separadas, excepto en los períodos de amamantamiento. Los tres grupos fueron homogéneos en cuanto al número de partos, cambios de peso y condición corporal posparto y producción láctea. Se tomaron muestras de sangre cada 15 min durante 3 períodos de 3 h: antes, durante y después de las inyecciones de NX o el placebo (solución salina fisiológica); adicionalmente se tomaron muestras de sangre cada 15 min de 21 a 24 h post NX o el placebo (efecto residual). En estas muestras se midió la LH sérica por radioinmunoensayo (RIA). Se colectó una muestra de sangre cada 2 días desde el parto hasta el día 56 posparto y se cuantificó la progesterona (P) sérica por RIA. El anestro fue indicado por  $P < 1$  ng/ml en las muestras anteriores al día 30 posparto. La P de muestras posteriores, indicó si ocurrió la ovulación al haber incrementos en tres muestras consecutivas mayores a 1 ng/ml. Las variables de respuesta fueron la concentración media (MLH) y basal (BLH) de LH; número (NP) y amplitud (AP) de pulsos de LH; intervalo del parto a la primera ovulación (OV) y al primer estro (ES). La información se analizó por ANDEVA usándose, a) un diseño de parcelas divididas (parcela mayor = animal/tratamiento; subparcela = período de muestreo) para estudiar las variables de LH, y b) un completamente al azar para OV y ES. Ninguna vaca ovuló durante los primeros 56 días posparto. No se detectaron efectos agudos y residuales ( $P > .05$ ) de tratamiento, período o sus interacciones en MLH, BLH, NP ni AP. Sin embargo, se aceleró la ciclicidad posparto, ya que en las vacas con 1 NX ( $77 \pm 15$  días) y 3 NX ( $81 \pm 15$  días), el ES fue menor ( $P < .05$ ) que en T ( $143 \pm 15$  días). En vacas de doble propósito sometidas a control del amamantamiento, la naloxona no induce cambios en la secreción de la LH durante el posparto temprano. Sin embargo, con una sola inyección de naloxona se reduce el anestro posparto mediante un mecanismo no explicado en esta tesis.

## INTRODUCCIÓN

Las diferencias reproductivas entre las vacas lecheras y las productoras de carne son debidas principalmente al manejo del amamantamiento, que determina la condición conocida como anestro posparto (Short et al., 1990). Es bien conocido que en las vacas lecheras, a las que se les retira la cría tan pronto como se pueda después del nacimiento, la primera ovulación se presenta antes de los 30 días posparto (Carruthers y Hafs, 1980). Por el contrario, las vacas de carne que se mantienen con la cría al pie, presentan intervalos del parto al primer estro que exceden los 100 días (Williams, 1990). Sin embargo, cuando se les retira el becerro inmediatamente después del parto, presentan la primera ovulación tan pronto como las vacas lecheras (Carruthers y Hafs, 1980; Viker y Kiracofe, 1990).

En las vacas productoras de carne, el anestro posparto prolongado es la condición que limita en mayor grado la eficiencia reproductiva, considerándose como factores predisponentes el estado nutricional, el amamantamiento, la raza, la edad o número de parto, la presentación de distócias, la ausencia del toro y la estación del año (McNeilly, 1988; Custer et al., 1990; Azzam et al., 1991; Hansen, 1992a)

Aunque cada uno de los factores mencionados en el párrafo anterior interactúan con los demás para prolongar el intervalo del parto al primer estro (Short et al., 1990), la inadecuada nutrición (Short y Adams, 1988) y el amamantamiento de los becerros (Wetteman et al., 1978; McNeilly, 1988; Williams, 1990) son los que afectan en mayor grado la duración de dicho intervalo.

En el ganado de doble propósito, mantenido en la región tropical de México, también se ha documentado la importancia del anestro, ya que el intervalo del parto a la concepción en este tipo de vacas, excede en ocasiones los 150 días (Rueda y González, 1990; Villafuerte, 1990).

En vacas productoras de carne, existen evidencias de que una alimentación adecuada pre y posparto (Short y Adams, 1988; Short et al., 1990) y una reducción de los estímulos del becerro al amamantarse (Williams, 1990), acortan sensiblemente el período de anestro o aumentan el número de vacas que ciclan normalmente. Sin embargo, en las empresas de doble propósito, donde con frecuencia se les proporciona a las vacas una complementación alimenticia durante o después del ordeño y tradicionalmente se someten a amamantamiento restringido, el anestro

puede ser tan prolongado que determina intervalos interpartos que promedian hasta 22 meses (Villafuerte, 1990).

Aún suministrando complementación alimenticia y restringiendo el amamantamiento a sólo una o dos horas por día, el anestro en vacas de doble propósito sigue siendo prolongado, ya que el intervalo del parto a la concepción varía entre 129 y 166 días (Rebolledo et al., 1990; Rueda y González, 1990). Por derivarse dichas cifras de trabajos en los que se consideraron únicamente las vacas que mostraron estro y resultaron gestantes, excluyendo las que no se gestaron, es posible que la duración del anestro en estas vacas haya sido subestimada.

A través de estudios efectuados en vacas productoras de carne, se sabe que la hormona luteinizante (**LH**) cumple con una función determinante en el control del anestro posparto. Durante el anestro, la LH es secretada en forma de pulsos de baja frecuencia ( $\leq 1$  pulso/6 horas); sin embargo, cuando se aproxima la primera ovulación y con ella el fin del anestro, los pulsos de la LH se vuelven más frecuentes ( $\geq 1$  pulso/hora). Este incremento de la frecuencia pulsátil desencadena el pico preovulatorio de la LH, que causa el desarrollo final de un folículo y su ovulación (Carruthers y Hafs, 1980; Schallenberger et al., 1985).

Existe abundante información que indica que la liberación pulsátil de la LH depende del ritmo en que se secreta la hormona liberadora de gonadotropinas hipofisarias (**GnRH**), sintetizada en el hipotálamo (D'Occhio et al., 1989; Moenter et al., 1992) y que la secreción de la GnRH es modulada por los péptidos opioides hipotalámicos (Drouva et al., 1980; Short et al., 1986), los cuales aumentan su contenido en hipotálamo y en los vasos porta del sistema hipotálamo-hipofisario, de vacas que se encuentran amamantando a su cría, con relación a las que se les ha separado el becerro desde el parto (Whisnant et al., 1986a,c).

El incremento de los opioides, reduce la frecuencia de secreción de la GnRH, lo que consecuentemente mantiene el ritmo de baja frecuencia de la LH, característico del anestro en vacas que amamantan continuamente a su cría. (Whisnant et al., 1986a,c)

El uso de antagonistas de los péptidos opioides incrementa la liberación de la LH en vacas productoras de carne con cría al pie, pero no ejerce este efecto en vacas cuyo becerro fue destetado precozmente (Whisnant et al., 1986a,c). Asimismo, en las vacas de carne sometidas a esquemas de amamantamiento restringido, la inyección de antagonistas de los opioides no incrementan la frecuencia pulsátil de la LH (Arreguín et al., 1992).

En vacas de razas lecheras se ha determinado que si se les permite amamantar a su cría, se retrasa la presentación del patrón de liberación de la LH de alta frecuencia, la oleada preovulatoria de la LH y la primera ovulación posparto (Carruthers et al., 1980). Sin embargo, el estímulo del ordeño aún efectuado cuatro veces al día, no prolonga el anestro posparto, presentándose los eventos endocrinos que anteceden a la primera ovulación, antes de los 30 días posparto (Carruthers et al., 1980).

La discusión contenida en párrafos anteriores, indica que la complementación alimenticia y la restricción del amamantamiento en las modalidades empleadas en ranchos de ganado destinado al doble propósito, no resuelven el anestro posparto, desconociéndose que ocurre con los patrones de liberación de la LH y si los péptidos opioides hipotalámicos participan en su control, cuando las vacas son sometidas a 2 ordeños diarios con amamantamiento después de cada ordeño. Por lo tanto en este tipo de vacas, parece ser necesaria la generación de conocimientos sobre el control neuroendocrino de dicha condición, sin alterar el manejo con respecto a la alimentación, el amamantamiento y el ordeño.

El objetivo general de la presente tesis fue producir información que contribuya a determinar el papel que desempeñan los péptidos opioides hipotalámicos sobre los patrones de liberación de la hormona luteinizante y la duración del anestro en vacas de doble propósito, utilizando a la "Naloxona", para antagonizar la acción de los péptidos opioides y conocer en forma indirecta la participación opioide en la inhibición de la liberación de la LH durante el anestro posparto.

## REVISIÓN DE LITERATURA.

La condición de anestro se refiere a un período de duración variable posterior al parto, caracterizado por la ausencia de signos de conducta estral y anovulación. Desde hace más de 25 años, se ha reconocido que el anestro posparto es el factor que contribuye en mayor grado al pobre comportamiento reproductivo de los hatos de bovinos productores de carne y de doble propósito (Casida, 1971; Edgerton, 1980; Menéndez, 1992). Desde entonces, se ha generado abundante información que difícilmente puede ser incluida en esta tesis. Por lo que se remite a los lectores a revisiones en las que se detallan las funciones neuroendocrinas involucradas en el anestro (Nett et al., 1988; McNeilly, 1988; Short et al., 1990; Williams, 1990) y cómo son afectadas por los desbalances nutricionales (Spicer y Echterkamp, 1986; Short et al., 1990) o el amamantamiento de la cría (Williams, 1990).

En la presente revisión, se describirán los cambios hormonales asociados con la condición del anestro posparto y los mecanismos neuroendocrinos más aceptados en la actualidad, como posibles determinantes de dicha condición.

Puesto que la nutrición que reciben las vacas, modula la influencia que ejercen otros factores sobre el anestro, también se explicarán en forma breve, los efectos que causa la alimentación inadecuada o insuficiente en el inicio de la ciclicidad estral posparto.

Por último, por ser el tema central de esta tesis, se enfatizará en el análisis de la información disponible relacionada con los efectos del amamantamiento de las crías sobre la presentación del anestro, su duración y los mecanismos que los regulan.

La información que se examinará será la derivada de estudios efectuados en bovinos; sin embargo, se usarán resultados obtenidos de otras especies para aclarar o enfatizar algunos aspectos conceptuales de carácter biológico.

## ENDOCRINOLOGÍA DEL PERÍODO POSPARTO EN VACAS.

En las vacas que se encuentran ciclando, existe un fino balance entre las acciones de las gonadotropinas sintetizadas y liberadas por la pituitaria, hormona luteinizante y foliculo estimulante (**LH y FSH**) y los esteroides producidos y secretados por las glándulas ováricas, (andrógenos estrógenos y progestágenos). Cambios secuenciales en el ritmo de liberación de las gonadotropinas, estimulan el desarrollo folicular y la síntesis de esteroides, entre los que

predominan los estrógenos. Estos, a su vez, retroalimentan a la pituitaria en forma directa o indirecta; provocando incrementos o decrementos en la cantidad de gonadotropinas sintetizadas y su frecuencia de secreción. El aumento en la disponibilidad de gonadotropinas, estimula el desarrollo final y la ruptura de un folículo ocasionando con ello la ovulación. Los tejidos que conformaron las paredes del folículo ovulatorio dan origen al cuerpo lúteo (CL), glándula que secreta una gran variedad de hormonas, entre las que predomina la progesterona. En ausencia de gestación o condiciones patológicas, el CL deja de ser funcional y al reducirse la síntesis y liberación de progesterona, se reinicia el ciclo con el incremento en la frecuencia de liberación de las gonadotropinas antes mencionadas. Los procesos antes descritos son controlados por el hipotálamo, donde radican los centros de control, inhibitorios y estimulatorios, de las funciones reproductivas.

Varios autores (Peters, 1985; Schalenberger et al., 1985; D'Occhio et al., 1989; Moenter et al., 1992) han descrito los fenómenos abreviados en el párrafo precedente, que implican la interacción entre múltiples funciones ejercidas por varios tejidos y glándulas localizados en el cerebro, útero y ovarios. Los eventos fisiológicos se presentan siguiendo una secuencia relativamente estricta y dan como resultado la presentación de ciclos estrales que se suceden en promedio cada 21 días (Kotwica y Williams, 1982; Peters, 1985).

En las vacas que se encuentran en anestro posparto, los mecanismos involucrados en la ciclicidad estral no operan, observándose patrones de liberación de las hormonas reproductivas que difieren de los que presentan las vacas que se encuentran ciclando. A continuación se describirán los modelos de secreción hormonal presentes en las vacas en anestro y se contrastarán con los identificados en vacas con ciclos estrales regulares.

### **Características de secreción de las gonadotropinas hipofisarias.**

En las vacas que se encuentran en anestro posparto los mecanismos endocrinos involucrados en la ciclicidad estral se encuentran deprimidos observándose una disminución en la secreción de la LH (Wettemann, 1980; Moss et al., 1985; González y Murphy, 1988; Nanda et al., 1990). De esta manera, la funcionalidad ovárica se encuentra interrumpida al menos en lo que se refiere a la ocurrencia de la ovulación.. A este respecto, se conoce que la disminución en la frecuencia

de liberación de la LH, es la que limita la reanudación de la ciclicidad estral posparto de las vacas. (Rahe et al., 1980; Little et al., 1982).

Durante el anestro posparto de las vacas, la secreción de la LH es de baja frecuencia, limitándose a sólo un pulso por seis u ocho horas, en contraste con lo que ocurre en las vacas que se encuentran ciclando, en las que la secreción es de alta frecuencia, siendo aproximadamente de 1 pulso por hora (Wettemann, 1980; Moss et al., 1985; González y Murphy, 1988; Nanda et al., 1990).

El inicio de la secreción pulsátil de la LH en una frecuencia aproximada a 1 pulso por hora, está asociado con la primera ovulación y estro (Carruthers y Hafs, 1980; Carruthers et al., 1980; Peters et al., 1981; Little et al., 1982). De tal manera que los eventos endocrinos asociados con la ocurrencia de la primera ovulación posparto, parecen ser el incremento en la frecuencia de pulsos de la secreción de la LH (Peters, 1985). Estos incrementos en la secreción pulsátil deben ser cercanos a un pulso por hora, los que son similares a los de las vacas que se encuentran en la fase folicular del ciclo estral (Carruthers y Hafs, 1980; Carruther et al., 1980). La LH al alcanzar su secreción de alta frecuencia en forma ininterrumpida, continúa con un incremento de mayor magnitud que se conoce como pico preovulatorio de la LH, que conduce a la ocurrencia de la primera ovulación posparto (Carruthers y Hafs, 1980; Carruthers et al., 1980; Little et al., 1982; Peters, 1985; Short et al., 1990).

Con relación a la FSH, también se ha podido conocer acerca de su secreción en vacas en anestro posparto. Las evidencias indican que durante este período la concentración de esta gonadotropina no es afectada de la misma manera que la LH (Peters, 1985), al menos en el sentido de que su secreción se deprime durante el período de anestro posparto (Short et al., 1990).

En los estudios que se han realizado, se ha podido conocer que la concentración de la FSH sérica se incrementa conforme progresa el intervalo posparto (Williams et al., 1982). Además, como la concentración de la FSH es similar entre las vacas que se encuentran ciclando comparadas con aquellas que permanecen en anestro (Moss et al., 1985), parece ser que la anovulación posparto, depende principalmente de la baja frecuencia de secreción de la LH. En efecto, la concentración de la FSH en el plasma se recupera desde los 5 días posparto para no sufrir cambios posteriores, siendo similar a la encontrada en las vacas que ya están ciclando



(Schams et al., 1978). Por tal situación, se considera que la secreción de esta hormona no limita la reanudación de la ciclicidad estral. (Moss et al. 1985; Short et al., 1990).

### **Efectos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), sobre las secreción de la LH y la FSH.**

En las vacas que se encuentran en anestro posparto, la secreción de la LH esta disminuida, coincidiendo con la disminución de la liberación rítmica de la GnRH. Varios estudios han mostrado que la disminución de la secreción de la LH, que coincide con la disminución de la secreción de la GnRH, se debe a que existe una relación directa de la secreción de la LH con respecto a la secreción de la GnRH (Wettemann, 1980; Moss et al., 1985; González y Murphy, 1988; Nanda et al., 1990).

Un estudio que describe lo anterior (D'Occhio et al., 1989), mostró que la LH liberada de la pituitaria en vacas en anestro, responde al tratamiento intermitente con la GnRH natural o sintética, aplicada a intervalos de una hora simulando la liberación rítmica del hipotálamo. La GnRH se aplicó subcutáneamente desde el día 18 posparto durante 28 días consecutivos; observándose, que independientemente de su naturaleza fue capaz de desencadenar la secreción pulsátil de la LH.

Las investigaciones mencionadas confirman que los incrementos en la liberación pulsátil de la LH son consecuencia de la liberación de la GnRH en el hipotálamo, quien dicta la manera pulsátil de secreción de la LH (Sarkar y Fink, 1979; Levin et al., 1982; Moenter et al., 1992).

Con respecto a la secreción de la FSH, se sabe que durante el anestro posparto no se ve afectada por disminución de la liberación de la GnRH del hipotálamo (Moenter et al., 1992), ya que al realizarse tratamientos con la GnRH se ha observado que en los días 3, 10 y el 50 posparto, la FSH sérica se incrementa conforme progresa el intervalo posparto (Williams et al., 1982), independientemente del efecto de la GnRH exógena.

### **Efectos de la LH y la FSH sobre la secreción de las hormonas ováricas.**

Como ya se mencionó en el apartado correspondiente, la liberación pulsátil de la LH es consecuencia de la liberación rítmica de la GnRH en el hipotálamo, lo que dicta la manera pulsátil de secreción de la LH (Sarkar y Fink, 1979; Levin et al., 1982; Moenter et al., 1992).

Asimismo, la secreción pulsátil de la LH, dicta la secreción de progesterona y estradiol-17 $\beta$  en los ovarios (Peters, 1985).

Estudios realizados durante el anestro posparto en vacas, han aportado conocimientos de esta situación (Wettemann, 1980; Short et al., 1990; Williams et al., 1990). A este respecto, se conoce que la disminución en la frecuencia de liberación de la LH durante el anestro, limita la secreción del estradiol-17 $\beta$  a sólo cantidades mínimas, impidiendo la reanudación de la ciclicidad estral (Rahe et al., 1980; Little et al., 1982).

En lo que se refiere al efecto de la FSH sobre los ovarios durante el anestro posparto, no hay cambios sustanciales en su secreción; sin embargo, desde los 3 y hasta los 50 días posparto (Williams et al., 1982), su secreción se va incrementando, siendo similar a la encontrada en vacas ciclando (Schams et al., 1978; Williams et al., 1982), por lo que su participación durante el anestro, no parece limitar la reanudación de la ciclicidad estral (Moss et al., 1985; Moenter et al., 1992).

#### **Efecto de la prolactina sobre la anovulación posparto.**

En los años de 1970 a 1979, se dijo que la prolactina actuaba como un potente agente antigonadotrópico mediando la aciclicidad posparto en algunas especies animales. En varios experimentos realizados en vacas amamantantes con posparto temprano, se comprobó que un supresor específico de la secreción de la prolactina (ergocriptina; CB-154), fue incapaz de incrementar la secreción de las gonadotropinas y disminuir el intervalo del parto al primer estro (Sirinathsinghji y Martini, 1984; Ben-Jonathan, 1985). En otro estudio, se probó que inyectando prolactina a vaquillas ovariectomizadas, no se lograba disminuir la secreción pulsátil de la LH (McNeilly, 1988). Por estas razones es improbable que la prolactina intervenga en la supresión de la actividad ovárica posparto (Williams, 1990).

#### **Retroalimentación negativa de las hormonas ováricas.**

Se ha documentado que la supresión de la liberación de la LH es causada por un mecanismo endocrino denominado "**retroalimentación negativa**", en el que juega un papel importante la mínima secreción de estradiol-17 $\beta$  en los ovarios de las vacas (Acosta et al., 1983) y en las borregas (Clarke et al., 1988a,b) en anestro.

A este respecto se conoce que en las vacas en anestro posparto, los estrógenos secretados en cantidades mínimas inhiben de manera indirecta la secreción de la LH y en consecuencia se interrumpe la ciclicidad estral (Acosta et al., 1983; Clarke et al., 1988b).

Una evidencia de lo anterior, es que en vacas ovariectomizadas a las que se les priva del efecto de las hormonas ováricas, la concentración sérica de la LH se incrementa conservando el patrón de secreción pulsátil, pero cuando son tratadas con estrógenos exógenos, la secreción de la LH se deprime de la misma manera en que se secreta en vacas no ovariectomizadas (Hinshelwood et al., 1986).

Por otra parte, existen evidencias de que la retroalimentación negativa de los estrógenos, se efectúa sobre el hipotálamo, impidiendo la secreción rítmica de la GnRH (Acosta et al., 1983). Pero se ha documentado que los estrógenos también actúan a nivel de la pituitaria deprimiendo la respuesta al estímulo de la GnRH exógena (Hinshelwood et al., 1986).

Lo anterior fue dilucidado en los mismos experimentos con vacas ovariectomizadas tratadas con la GnRH, previamente inyectadas con estrógenos para crear un ambiente influenciado por ellos (Hinshelwood et al., 1986), observándose, que en vacas previamente estrogenizadas tratadas con la GnRH, la concentración de la LH sérica no se incrementó, en contra de lo que ocurrió con las vacas que no fueron previamente estrogenizadas. Esto da evidencias de que el efecto de retroalimentación negativa de los estrógenos es a nivel de la pituitaria más que por deprimir la secreción de la GnRH.

Esos mismos autores, observaron que independientemente del ambiente estrogénico creado en las vacas ovariectomizadas, hubo un efecto del amamantamiento muy marcado, el cual deprimió la secreción de la LH (Hinshelwood et al., 1986), por lo que es posible que el efecto de los estrógenos se potencialice por el amamantamiento, o bien que ambos efectos sean independientes, siendo el de los estrógenos sobre la pituitaria y el del amamantamiento sobre el hipotálamo.

De cualquier manera, las evidencias indican que los estrógenos secretados en mínimas cantidades impiden de alguna manera la liberación de la LH, pero aún queda la pregunta. ¿Cuál es la señal a nivel central, que obliga a cambiar la respuesta de la retroalimentación negativa por positiva?. Probablemente al incrementarse la secreción del estradiol-17 $\beta$ , cuando se acerca el final del anestro, éste actúe a nivel central iniciando el cambio de retroalimentación negativa por

positiva (Peters, 1985), mejorando la pituitaria su respuesta a la acción de la GnRH y aumentando el hipotálamo la secreción de esta hormona, promoviéndose la cascada de eventos que inician con la secreción de la LH hasta la ovulación.

Después de esta ovulación que en la mayoría de los casos ocurre sin manifestación de conducta estral, se desarrolla un cuerpo lúteo que secreta progesterona por un tiempo aproximado de 7 días debido a que es una estructura de vida corta (Wettemann, 1980; Eger et al., 1988). Al perder su funcionalidad este cuerpo lúteo de vida corta, deja de producir progesterona y se desarrolla un folículo nuevo que produce estradiol-17 $\beta$  (Peters, 1985; Eger et al., 1988). Con la disminución de la progesterona y el incremento del estradiol-17 $\beta$ , se estimula nuevamente al hipotálamo para que se reanude la liberación pulsátil de la LH hasta alcanzar el pico preovulatorio y presentarse una segunda ovulación que normalmente va acompañada de manifestación de conducta estral. A partir de este momento el cuerpo lúteo que se desarrolla es de vida media normal y la duración del ciclo estral es de 21 días promedio (Kotwica y Williams, 1982). De aquí en adelante los ciclos estrales se regularizan siempre y cuando no existan factores que lo impidan (Humphrey et al., 1983).

### **Concentración de las hormonas en las glándulas de origen durante el anestro posparto.**

Las hormonas relacionadas con la función reproductiva han sido estudiadas en vacas productoras de carne en anestro posparto, detallando el contenido de cada una de ellas en el tejido de su síntesis y secreción.

Se ha documentado, que la cantidad de la GnRH almacenada en el hipotálamo de las vacas en anestro con 45 días posparto, es similar a la de las vacas que se encuentran en la fase lútea del ciclo estral (Moss et al., 1980; Cemerk et al., 1983; Moss et al., 1985; Nett et al., 1988) y que el estímulo del amamantamiento no afecta su contenido en el hipotálamo (Carruthers y Hafis, 1980; Carruthers et al., 1980; Cemerk et al., 1983; Moss et al., 1985).

De la misma manera, también se sabe que en las vacas desde los 30 días posparto, así como en las borregas anéstricas, la concentración de la LH almacenada en la pituitaria anterior, es similar a la concentración de dicha hormona en las hembras que se encuentran en la fase lútea del ciclo estral (Moss et al., 1980; Walters et al., 1982a,b; Cemerk et al., 1983; Moss et al., 1985; Nett et al. 1988).

Lo anterior ha permitido suponer que en las vacas anéstricas después de los 30 días posparto, existe disponibilidad de la GnRH en el hipotálamo y de la LH en la pituitaria para reanudar la ciclicidad estral y que el amamantamiento al menos en este período de tiempo no afecta las concentraciones de las hormonas en sus respectivos orígenes (Carruthers et al., 1980; Walters et al., 1982a,b; Moss et al., 1985).

En lo que se refiere a los receptores de la pituitaria para la GnRH, se conoce que en vacas en anestro, su contenido es similar al de las vacas que están ciclando (Moss et al., 1985) por lo que se considera que existen receptores disponibles para que la GnRH pueda realizar su acción sobre la pituitaria. Además, también se sabe que los estrógenos circulantes intervienen en la estimulación de la síntesis de estos receptores (Clarke et al., 1988a). De tal manera, que cuando se aplican estrógenos exógenos en borregas ovariectomizadas, se incrementa el número de receptores para la GnRH, por una acción directa sobre la pituitaria (Clarke et al., 1988b). Esto da evidencias claras de que los estrógenos intervienen de manera activa para que el número de receptores para la GnRH en la pituitaria se incrementen y así se permita su acción en la liberación de la LH.

Por otro lado, durante el período de anestro, en los ovarios de las vacas que amamantan a sus crías, se ha observado que el número y tamaño de los folículos es reducido y que aunque existan pocos folículos de mayor tamaño, se producen muy pocos estrógenos debido a una reducción en la actividad esteroidogénica (Bellin et al., 1984). En consecuencia, estos folículos contienen pocos receptores para las gonadotropinas hipofisarias (Spicer et al., 1984; Spicer y Echternkamp, 1986), por lo que su capacidad de respuesta a la acción de la LH es reducida con relación a folículos de vacas ciclando.

Sin embargo, la administración de la GnRH, así como la realización del destete, inducen el aumento de la concentración de receptores para la LH en las células de la granulosa y de la teca produciendo un aumento en la concentración de estrógenos en el fluido de los folículos de mayor tamaño (Walters et al., 1982a; Spicer y Echternkamp, 1986), indicando que los receptores ováricos para la LH en vacas en anestro se incrementan de manera rápida al momento de ser sometidas las células de la granulosa y teca al estímulo sostenido de la LH (Walters et al., 1982a,b)

Lo que ocurre en vacas en anestro es que, al aproximarse el momento de la primera ovulación, la estimulación de los ovarios por la LH hace que en ellos se incremente el número

de receptores (Moss et al., 1985) para la LH, de la misma manera como sucede en vaquillas ciclando cuando se inicia la fase folicular, en quienes los receptores para la LH se incrementan en los folículos de mayor tamaño durante el intervalo comprendido entre la onda de desarrollo folicular que antecede al pico preovulatorio hasta la ocurrencia de la ovulación (Ireland y Roche, 1982, 1983; Staigmiller et al., 1982).

Por lo anteriormente expuesto, se puede suponer que la concentración de la GnRH en el hipotálamo, la concentración de la LH en la pituitaria y la disponibilidad de receptores para cada una de las hormonas en sus órganos blanco no son limitante para que se reanude la ciclicidad estral posparto.

La disponibilidad de la LH en la pituitaria, así como la respuesta ovárica a su estímulo, fue comprobada por D'Occhio et al. (1989), al realizar un estudio en el que utilizaron vacas productoras de carne en anestro que amamantaron continuamente a sus crías. En este experimento las vacas fueron tratadas con la GnRH natural o sintética, aplicada subcutáneamente a intervalos de una hora desde el día 18 posparto durante 28 días consecutivos; observándose que la GnRH, independientemente de su naturaleza, fue capaz de desencadenar la secreción de la LH y la ovulación en 12 de 19 vacas tratadas.

Con este experimento, D'Occhio et al. (1989) pudieron comprobar que la LH es liberada bajo el estímulo intermitente y sostenido de la GnRH y que los ovarios son capaces de responder a ese estímulo al incrementarse ( $\geq 1.0$  ng/ml) la concentración de progesterona. Esto nos permite suponer que la supresión de la ciclicidad estral es causada por la disminución en la liberación de la GnRH, la cual queda secuestrada en el hipotálamo durante el anestro. La disminución en la liberación de la GnRH, parece ser ocasionada por los péptidos opioides (mediadores neuroendocrinos), que son sintetizados en el hipotálamo (Malven, 1986; Malven et al., 1986; Nanda et al., 1990). Aparentemente los péptidos opioides actúan como mediadores del efecto que tiene el amamantamiento sobre el anestro posparto (Whisnant et al., 1986a,b) potencializando la acción los esteroides ováricos (Rund et al., 1988; Rund et al., 1989).

A continuación se mencionarán aspectos de la nutrición y el amamantamiento, así como los cambios hipotalámicos que involucran a los péptidos opioides sobre el anestro posparto, dando mayor atención al efecto del amamantamiento y a la acción de los péptidos opioides debido a que son el motivo de estudio de esta tesis.

## LA NUTRICION EN EL ANESTRO POSPARTO.

La deficiente nutrición es un factor que prolonga el anestro posparto (McNeilly, 1988). El efecto depende de las deficiencias nutricionales que existen antes y después del parto. En general, estas deficiencias son estimadas por la condición corporal, considerándose de mayor importancia la condición corporal preparto (Short y Adams, 1988), debido a que el comportamiento reproductivo de la vaca en el posparto depende de las reservas energéticas acumuladas antes del parto (Short et al., 1990).

La manera en que interviene la alimentación para retardar el inicio de la ciclicidad estral posparto, es principalmente por el bajo contenido energético en la dieta, el cual resulta ser satisfactorio sólo para cubrir las necesidades de mantenimiento y escasamente las de producción (leche para el becerro), siendo deficiente para permitir las funciones reproductivas. En vacas gestantes alimentadas con una dieta con bajo contenido energético, esto se traduce en una condición corporal pobre que se mantiene hasta después del parto, que coincide con el retraso de la ciclicidad estral (McNeilly, 1988; Short y Adams, 1988).

Se ha documentado acerca del posible mecanismo por el cual una alimentación deficiente interviene para retrasar la actividad estral después del parto. Así vemos que en los estudios de Richards et al. (1989a) y McIntush et al. (1991), la reducción de la cantidad y calidad de los nutrientes en la dieta de vacas sin cría y vaquillas, ambas con actividad estral, ocasionaron la pérdida de peso y condición corporal, disminuyendo la actividad lútea y cesando los ciclos estrales. En éstos estudios, se encontró que los animales subalimentados por un período mayor a 7 semanas, perdieron peso y condición corporal, disminuyendo la concentración media de la LH y la frecuencia de los pulsos, pero sin cambios en la amplitud, indicando que la restricción energética prolongada, disminuye la frecuencia en que es liberada la LH, reduciéndose su concentración media e interrumpiéndose la ciclicidad estral.

De la misma manera, Hansen (1992b) encontró que después del parto, cuando la cantidad de energía suministrada a las vacas es menor a la requerida para cubrir sus necesidades, los animales entran en un balance energético negativo. Las diferencias energéticas se manifiestan por la pérdida de peso y condición corporal, que coincide con la prolongación del anestro posparto. En el proceso anterior se encuentran involucradas las bajas concentraciones de glucosa en sangre, así como alteraciones en la secreción de insulina, que pueden regular la secreción de la LH y consecuentemente la actividad esteroidogénica de los ovarios.

En otro experimento realizado por Richards et al. (1989b), en el que estudiaron la concentración de glucosa, los ácidos grasos no esterificados en plasma y la insulina en el suero de vacas sin cría sometidas a una alimentación baja en energía, encontraron que en el anestro nutricional había concentraciones reducidas de glucosa e insulina y un incremento en la concentración de ácidos grasos no esterificados. De la misma manera, Villa-Godoy et al. (1990) encontraron en vaquillas Holstein una disminución de la secreción de progesterona y un incremento en la concentración sérica de ácidos grasos no esterificados, así como una reducción en la concentración de insulina.

Posiblemente, cuando existe una reducción en la concentración de la glucosa, ésta no ingresa a las células tan eficientemente en vacas delgadas en anestro como en las vacas con condición corporal moderada y ciclando. Agregándose a esto, que como la insulina también se encuentra disminuida, probablemente no moviliza tan eficientemente a la glucosa en animales delgados como en aquellos bien alimentados que poseen cantidades apropiadas de glucosa en sangre.

El posible mecanismo por el cual la privación de nutrientes regula la ciclicidad estral, puede estar involucrando señales metabólicas que modulan la secreción de la LH. Si consideramos que la glucosa es una fuente de energía utilizada por el sistema nervioso y que está íntimamente relacionada con el sistema endocrino, es lógico pensar que la concentración de glucosa sanguínea puede ser el mediador específico para los efectos de la energía sobre la reproducción, sin embargo, cuando la buena condición corporal de las vacas debida a una buena alimentación, no es el factor que impide el inicio de la actividad estral, el amamantamiento es el factor que prolonga dramáticamente el intervalo del parto al primer estro. Así vemos, que las vacas bien alimentadas que desde el parto no amamantan a sus crías, retornan al estro usualmente más pronto que las que sí los amamantan. Por lo que los mecanismos neuroendocrinos, mediante los cuales el amamantamiento pudiera estar impidiendo la reanudación de la actividad ovárica, no han dejado de ser motivo de estudio para los interesados en el tema (Short et al., 1990).

## **EL AMAMANTAMIENTO EN EL ANESTRO POSPARTO.**

La supresión de la actividad cíclica ovárica durante el período posparto, es característica de las vacas productoras de carne que amamantan continuamente a sus crías (Williams, 1990) y en vacas de doble propósito donde se combinan el ordeño con el amamantamiento restringido, una o dos veces al día (Rebolledo et al., 1990; Rueda y González, 1990; Villafuerte, 1990). La



restricción energética en la dieta y una pobre condición corporal, exacerban estos efectos (Richards et al., 1989a,b).

En las vacas que amamantan continuamente a sus crías y que están bien alimentadas, pero que se encuentran en el posparto temprano, la secreción pulsátil de la LH se encuentra deprimida. No obstante, conforme evoluciona el período posterior al parto, la liberación pulsátil de la LH ocurre con mayor frecuencia, de tal manera que entre 3 y 5 días antes de la primera ovulación se han registrado valores de aproximadamente 1 pulso por hora, similares a los observados en las vacas ciclando (Carruthers y Hafs, 1980; Peters et al., 1981; Little et al., 1982; Peters, 1985).

Por otro lado, cuando las vacas en anestro son tratadas con la GnRH exógena, la concentración de la LH sérica aumenta sin diferir entre los días 3 al 20 y en el día 30, alcanzando máxima respuesta a los 50 días posparto (McNeilly, 1988; Williams, 1990). Por lo tanto, como las vacas tratadas con la GnRH liberan grandes cantidades de LH, permite suponer que en la pituitaria existe suficiente LH almacenada para realizar una satisfactoria actividad ovárica; sin embargo, aún existiendo suficiente LH almacenada en la pituitaria, su secreción se encuentra deprimida por efecto del amamantamiento (Carruthers y Hafs, 1980; Williams, 1990).

La secreción pulsátil de la LH depende de la liberación rítmica de la GnRH en el hipotálamo (Moenter et al., 1992) y durante el anestro de vacas amamantantes la liberación rítmica de la GnRH también se encuentra deprimida. Entonces, el amamantamiento interfiere en la reanudación de la ciclicidad estral posparto a nivel central, impidiendo la liberación rítmica de la GnRH. Lo anterior fue posible demostrarlo, al inducir la ovulación en vacas amamantantes tratadas con la GnRH natural o sintética en forma intermitente por 28 días consecutivos (D'Occhio et al., 1989).

### **Efecto de la frecuencia del amamantamiento y del ordeño sobre la anovulación.**

En las vacas, la frecuencia del amamantamiento ha sido considerada como principal determinante de la prolongación del anestro posparto sin manifestar un efecto potencial la frecuencia en que son ordeñadas (Wettemann et al., 1978)

En un estudio donde fue medida la frecuencia del ordeño y el amamantamiento (Williams et al., 1987), se encontró que las vacas de los grupos donde no se incluyó el amamantamiento y en

donde las vacas fueron ordeñadas 8 veces al día, exhibieron la típica respuesta del destete que consiste en un incremento de la concentración media de la LH, debida a un aumento de su secreción tónica (Williams et al., 1987), en contra de lo sucedido en aquellas vacas que fueron sometidas a dos amamantamientos al día.

En otro experimento donde se probaron los efectos de uno y dos episodios de amamantamiento al día sobre la anovulación posparto (Carruthers y Hafs, 1980), se encontró que en las vacas sometidas a un sólo amamantamiento al día se redujo el periodo del parto al primer estro, en comparación con aquellas que amamantaron dos veces al día. Así tenemos que un amamantamiento por día durante una hora, no predispone el retraso de la presentación del primer estro posparto (Williams, 1990).

Considerando lo anterior, es de esperarse que en las vacas que amamantan a sus crías dos o más veces al día, la primera ovulación y estro será en un período más alejado del parto, debido a que con esta frecuencia de amamantamiento aún se sigue limitando la secreción de la LH.

#### **Efecto de la presencia del becerro sobre la anovulación.**

Existen estudios que indican que el efecto del amamantamiento en la reanudación de la ciclicidad estral, no es mediado únicamente por los estímulos somatosensoriales ejercidos sobre la ubre (Williams et al., 1984; Williams et al., 1987; Viker et al., 1989; Viker y Kiracofe, 1990). De tal manera, que independientemente del estímulo local causado por el becerro al amamantarse, su presencia es suficiente para prolongar el anestro posparto (Williams et al., 1987; Viker et al., 1989; Viker y Kiracofe, 1990), debido a que en estos experimentos la presencia del becerro fue suficiente para prolongar el período del parto al primer estro y para disminuir la tasa de concepción (Viker et al., 1989; Viker y Kiracofe, 1990).

Sin embargo, en un estudio donde fue medido el efecto del amamantamiento y la presencia del becerro sin amamantamiento, se encontró que las vacas de los grupos donde se excluyó el amamantamiento y se mantuvo la presencia del becerro, exhibieron la típica respuesta del destete que consiste en un incremento de la concentración media de la LH, debida a un aumento de su secreción tónica (Williams et al., 1987). Por lo que existe la necesidad específica del amamantamiento por parte del becerro, para inhibir la liberación de la LH.

De la misma manera, Viker y Kiracofe (1991) evaluando el efecto de la presencia del becerro sobre la anovulación posparto, encontraron que la anovulación posparto es consecuencia del efecto local del amamantamiento (estímulo táctil) proporcionando por el becerro, ya que su presencia sin permitir el amamantamiento (estímulos: olfatorio, auditivo y visual) induce la ciclicidad estral posparto.

Lo anterior nos muestra que aún siguen existiendo discrepancias en cuanto a los estímulos relacionados con la anovulación posparto de vacas que amamantan a sus crías, o bien si el estímulo táctil y los estímulos causados por la presencia del becerro participan conjuntamente pero en diferentes intensidades, ya que los estudios antes mencionados aportan información poco consistente.

### **Evaluación de los estímulos somatosensoriales sobre la anovulación.**

Estudios del efecto de la presencia del becerro sobre la anovulación posparto fueron realizados, para determinar con mayor precisión de que manera los estímulos sensoriales (olfatorio, visual y auditivo), están involucrados en la anovulación posparto en vacas, expuestas a la presencia o ausencia del becerro, con o sin el estímulo localizado del amamantamiento sobre la ubre.

Para evaluar el efecto de los estímulos sensoriales, Viker y Kiracofe (1991) utilizaron vacas mastectomizadas y no mastectomizadas. Las vacas mastectomizadas se dividieron en tres grupos: las que anduvieron permanentemente con su cría, las que se les retiró la cría y las que se les permitió interactuar con su cría únicamente por la parte anterior de sus cuerpos sin tocar la región inguinal. Las vacas no mastectomizadas se dividieron en dos grupos: las que amamantaron a su cría libremente y las que únicamente interactuaron con su cría por la parte anterior de sus cuerpos sin tocar el área inguinal. Los resultados mostraron que en las vacas mastectomizadas o no que se les impidió que su becerro tuviera contacto con la región inguinal, el intervalo del parto a la primera ovulación se redujo marcadamente, en comparación con aquellas vacas que se les permitió que el becerro tuviera dicho contacto, lo que indicó que al suprimir el contacto con la región inguinal, se incrementó la liberación de la LH hasta presentarse la ovulación. Por lo que se puede suponer que los estímulos: auditivo, olfatorio y visual ocasionados por la presencia del becerro, no prolongan la anovulación posparto, y que el

estímulo táctil ocasionado sobre el área inguinal sin ser limitado a la teta o la ubre como ocurre durante el amamantamiento, es suficiente para prolongar la anovulación posparto.

La interpretación de lo anterior es que las terminaciones nerviosas que reciben el estímulo táctil para causar la anovulación posparto durante el amamantamiento no sólo se limitan a la teta o la ubre, sino que también se encuentran distribuidas en el área inguinal de las vacas. Además, la anovulación posparto parece depender del tipo de estímulo táctil, ya que en vacas ordeñadas hasta 8 veces al día tuvieron un anestro posparto prolongado.

### **Posible ruta nerviosa del bloqueo de la secreción de la LH por estímulo del amamantamiento.**

Durante la última década, un considerable número de conocimientos han vinculado a la anovulación posparto de las vacas, a cambios neuroendocrinos asociados al funcionamiento del hipotálamo, que repercuten sobre la pituitaria y los ovarios (McNeilly, 1988). Estos cambios neuroendocrinos parecen ser ocasionados por el estímulo de succión realizado por el becerro al amamantarse (Williams et al., 1987); o por estímulos aplicados por el becerro en la zona inguinal de su madre (Viker y Kiracofe 1991). El estímulo cualquiera que este sea, activa el tracto espinocervical, el cual por transmisión de mensajeros químicos estimula a su vez al cerebro, donde ocurre la liberación de neurotransmisores. Estos actúan sobre las neuronas que eventualmente modulan la función del hipotálamo (McNeilly, 1988).

Con la presencia crónica del estímulo del amamantamiento, se incrementa la actividad de las neuronas hipotalámicas secretoras de los péptidos opioides, los que en turno impiden la liberación espontánea del generador de pulsos de la GnRH (Kalra y Kalra, 1983) cuyos efectos son potencializados por el mecanismo de retroalimentación negativa de los esteroides ováricos (Run et al., 1989).

En este modelo la actividad eléctrica nerviosa es suprimida y la GnRH permanece secuestrada en el hipotálamo con la consiguiente inhibición de la liberación de la LH por la pituitaria (Williams, 1990), ocasionando la anovulación posparto que es característica de las vacas que amamantan a sus crías.

## **LOS PÉPTIDOS OPIOIDES HIPOTALAMICOS Y SU INTERVENCIÓN DURANTE EL ANESTRO POSPARTO.**

### **Origen de los péptidos opioides.**

El cerebro y el sistema gastrointestinal contienen receptores a los que se une la morfina (agonista de péptidos opioides endógenos). La búsqueda de ligandos endógenos para estos receptores llevó al descubrimiento de dos pentapéptidos íntimamente relacionados entre sí, denominados "**encefalinas**" que se unen a estos receptores opiáceos. Estos y otros péptidos que se unen a los receptores opiáceos se llaman "**péptidos opioides endógenos**". Las encefalinas se encuentran en las terminaciones nerviosas del aparato digestivo y en numerosas partes del cerebro y parecen funcionar como transmisores sinápticos (Ganong, 1988).

De los péptidos opioides endógenos, hasta ahora se sabe que son de origen hipotalámico, encontrándose considerables cantidades en el propio hipotálamo y en el área preóptica, así como en la eminencia media del tallo y el lóbulo nervioso intermedio de la pituitaria (Malven, 1986; Malven et al., 1986). Son sintetizados a partir de moléculas precursoras grandes, una tiene la forma prepro y la otra la forma pro. La forma pro es la precursora de las tres familias que dan origen a los péptidos opioides (Malven, 1986; Ganong, 1988). Bioquímicamente pertenecen a tres grandes familias que son las proopiomelanocortinas, las proencefalinas y las prodinorfinas que actúan a través de sitios de unión que son los receptores opioides kappa, delta y mu aunque falta por definir la existencia de otros más. Se ha asociado a los receptores kappa con los péptidos opioides de la familia de las prodinorfinas y a los receptores delta con la familia de las proencefalinas. Los receptores mu no parecen tener asociación selectiva para los péptidos de alguna familia (Malven, 1986). Cualquiera de las tres familias pueden estar involucradas en la mediación de la inhibición de la liberación de la LH, ya que no se ha podido demostrar especificidad por algún péptido opioide responsable del mecanismo fisiológico (Malven, 1986). Lo que se ha podido determinar es que al aplicar la naloxona, que es antagonista de los receptores opioides tipo mu, es que estos receptores junto con sus ligandos fisiológicos podrían ser los mediadores de la inhibición de la liberación tónica de la LHRH, disminuyendo así la liberación pulsátil de la LH. (Stahringer et al., 1990; Moenter et al., 1992).

Los péptidos opioides de las tres familias están presentes en áreas hipotalámicas, donde las neuronas secretoras de la GnRH son encontradas. Sin embargo los péptidos de las tres familias parecen ser secretados por neuronas diferentes a las de la GnRH dentro de la misma región. Una

pequeña proporción de neuronas en la misma región hipotalámica contiene  $\beta$ -endorfinas y dinorfinas así como concentraciones de estradiol, lo que conduce a pensar que las  $\beta$ -endorfinas y las dinorfinas son los péptidos opioides que bloquean la liberación rítmica del GnRH y que el estradiol puede estar potencializando dicho bloqueo (Malven, 1986; Malven et al., 1986).

En un estudio inmunocitoquímico, que fue realizado recientemente con hipotálamos de vacas, se determinó la presencia de la GnRH y de la  $\beta$ -endorfina en neuronas localizadas en la eminencia media y en el área preóptica (Leshin et al., 1991). Además, en este mismo experimento se detectó que la naloxona (antagonista de los péptidos opioides) marcada con tritio, se fijó en la eminencia media y en el área preóptica por un mecanismo mediado por receptores celulares. Además, al aplicar la naloxona en infusión directa en la eminencia media y en el área preóptica, se produjo la liberación del GnRH (Leshin et al., 1991). Por lo anterior, todo parece indicar, que los péptidos opioides se producen y actúan en las neuronas localizadas en el área preóptica y en la eminencia media del hipotálamo, al igual que la GnRH, pero por neuronas diferentes y que actúan en receptores localizados en las terminaciones nerviosas de las neuronas secretoras de la GnRH, bloqueando la liberación de esta última hormona.

### **Mecanismo de acción de los péptidos opioides.**

Los péptidos opioides son parte de un sistema complejo de neurotransmisores que regulan la secreción de gonadotropinas durante el anestro posparto (Short et al., 1986). El conocimiento acerca de la fisiología de estos compuestos es derivado de las investigaciones en las que se emplearon sus agonistas y antagonistas (Whisnant et al., 1986a,b,c,d). Recientemente la inmunoneutralización de los péptidos opioides ha contribuido a enriquecer los conocimientos que se tienen de estas sustancias (Armstrong y Spears, 1991; Allrich et al., 1989).

Debido a la falta de conocimientos sobre la especificidad de cada uno de los péptidos opioides sobre sus receptores implicados en este complejo mecanismo y a la tasa de recambio durante la actividad neuroendocrina, no se ha podido identificar a los péptidos opioides endógenos específicos para cada uno de los receptores, así como los del tipo  $\mu$  (Beattie y Corbin, 1975; Goldstein, 1984; Snyder, 1984), que posiblemente están involucrados en la mediación de la liberación de la GnRH (Pfeffer et al., 1987).

La liberación de la GnRH, inducida por el potasio, depende de la entrada del calcio a las terminales nerviosas por canales dependientes de voltaje (Drouva et al., 1981a) y se ha observado, que la adición de péptidos opioides disminuye la liberación del GnRH inducida por el potasio (Drouva et al., 1980; Kalra et al., 1987), lo que sugiere que este efecto es producido por una disminución en la permeabilidad al calcio en las terminales nerviosas (Drouva et al., 1981b). Por lo que se ha propuesto que la acción de los péptidos opioides es mediada principalmente por sus receptores, al producir un cambio en la permeabilidad de la membrana para el ion calcio (Deborshak-Harvey et al., 1988; Clarke et al., 1979), impidiendo de esta manera que la GnRH sea liberada por las terminaciones nerviosas de las neuronas que la sintetizan.

Aunado a esto, la aplicación de morfina a monas rhesus ovariectomizadas bloquea la manifestación electrofisiológica del pulso generador de la GnRH impidiendo su liberación y su actividad se reestablece con la administración de la naloxona (Kesner et al., 1986). Esto ha permitido suponer que los péptidos opioides producen hiperpolarización en la membrana de las terminaciones nerviosas de las neuronas secretoras de la GnRH, inhibiendo la propagación de los potenciales de acción, impidiendo la secreción de la GnRH en la cercanía de los capilares del sistema porta hipotálamo-hipofisiario (Garai et al., 1989; North, 1979).

### **Los péptidos opioides y su relación con las hormonas ováricas.**

En varias especies animales se ha visto que los cambios en la concentración de esteroides en el plasma sanguíneo ocasionan cambios en el contenido de los péptidos opioides en el hipotálamo y en el sistema portal hipotálamo-hipofisiario (Bhanot y Wilkinson, 1985; Whisnant, 1988; Gabriel et al., 1983; Quikley y Yen, 1980; Wise et al., 1985; Karsch et al., 1987; Parvizi et al., 1976; Petraglia et al., 1985). De tal manera que en las neuronas secretoras de  $\beta$ -endorfinas se han encontrado receptores para la progesterona y el estradiol, por lo que estos esteroides pueden alterar el contenido de los péptidos opioides en el hipotálamo (Whisnant, 1988).

En hembras primates ovariectomizadas o en aquellas durante la menstruación, la concentración de  $\beta$ -endorfinas en la sangre del sistema porta es mínima y la concentración de la LH plasmática está aumentada (Wardlaw et al., 1982); mientras que en las que se encuentran en la fase lútea o en aquellas ovariectomizadas tratadas con esteroides ováricos, se aumenta la concentración de  $\beta$ -endorfinas en la sangre del sistema porta hipotálamo-hipofisiario y se

disminuye la concentración de la LH plasmática (Wardlaw et al., 1982; Wardlaw et al., 1985). Esto nos proporciona evidencias de la intervención de un ambiente esteroide en la supresión de la secreción de la LH, a través de los péptidos opioides, ya que al eliminar los esteroides ováricos por la ovariectomía se disminuye la  $\beta$ -endorfina y se incrementa la LH.

La administración de la naloxona en las hembras primates y en las mujeres durante la fase lútea y la folicular tardía, ha ocasionado un aumento en la liberación de la LH (Van Vugt et al., 1983; Quikley y Yen, 1980). Sin embargo, en las hembras primates ovariectomizadas la administración de la naloxona no altera la actividad electrofisiológica de las neuronas secretoras de la GnRH, lo que sugiere que los péptidos opioides no tienen una intervención significativa en la modulación de la actividad del pulso generador de la GnRH en ausencia de hormonas gonadales (Kesner et al., 1986). De manera similar, lo anterior nos muestra que durante el ambiente ocasionado por la progesterona al inicio y durante la fase lútea, se produce una disminución en la liberación de la LH que puede ser revertida con la inyección de la naloxona.

En las ratas ovariectomizadas, la administración de esteroides ováricos exógenos deprime la concentración de la LH en el plasma y la administración de la naloxona aumenta parcialmente su secreción (Van Vugt et al., 1982). De manera similar, en las ratas ovariectomizadas pretratadas con implantes de progesterona, estrógenos y su combinación, se encontró que al ser tratadas con la naloxona se incrementa la liberación de la LH en comparación a la respuesta de ratas ovariectomizadas no pretratadas con esteroides (Devorshak-Harvey et al., 1988; Malven et al., 1984; Gabriel et al., 1986).

En la misma especie animal pero sin la extirpación de los ovarios, el bloqueo de los efectos inhibitorios de la progesterona sobre la secreción de la LH, mediante el uso de anticuerpos específicos para progesterona, antagonistas de progesterona o el uso de pentobarbital, aumentaron la frecuencia de pulsos de la LH, de manera similar a lo observado con la aplicación de la naloxona (Smith et al., 1990). Lo que sugiere que la progesterona en asociación o a través de los péptidos opioides controla indirectamente la secreción de la LH. Además, se ha observado que la administración de la naloxona a ratas prepúberes, favorece el desarrollo del mecanismo de retroalimentación positivo de las hormonas ováricas sobre la secreción de la LH y potencializa este mecanismo después de su maduración (Faigon et al., 1987).

Estudios realizados en borregos, con material experimental *in vitro* (Wu et al., 1991) e *in vivo* (Moss et al., 1980), han mostrado que la liberación de la GnRH en respuesta a la naloxona es



mayor en la fase lútea que cuando se priva del efecto de los esteroides gonadales a través de la ovariectomía. La infusión de antagonistas de receptores para opioides en borregas ovariectomizadas pretratadas con progesterona, sola o en combinación con estrógenos, aumenta la frecuencia de pulsos en que es liberada la LH (Brooks et al., 1986a; Weesner et al., 1989; Brooks et al., 1986b; Whisnant y Goodman, 1988; Whisnant y Harvern, 1990). Por lo tanto, los péptidos opioides han sido involucrados con el efecto depresor o inductor de los esteroides ováricos sobre la secreción de la LH (Smith et al., 1990).

Como se mencionó anteriormente, la aplicación de progesterona en ratas ovariectomizadas pretratadas con estrógenos, induce un incremento de gran magnitud en la secreción de la LH comparado con el inducido sólo con estrógenos (Masotto et al., 1990). En estos animales, la progesterona ha sido asociada con una disminución en el número de los sitios de unión hipotalámicos para la naloxona marcada con tritio, antes del inicio del pico preovulatorio de la LH (Jacobson y Kalra, 1989). De manera similar, el tratamiento previo con estrógenos disminuye el número de sitios de unión para la naloxona marcada, en diferentes áreas del hipotálamo (Weiland y Wise, 1990).

Al parecer, en las borregas ovariectomizadas el efecto supresor de la progesterona sobre la secreción de la LH no es mediado por variaciones en la concentración de receptores para los péptidos opioides, ya que el tratamiento con la progesterona más los estrógenos, no afecta la concentración de receptores para la naloxona marcada con tritio detectada en diferentes regiones del hipotálamo (Weesner et al., 1989).

En las vacas que se encuentran ciclando, hasta ahora no existen evidencias acerca de alguna intervención de los péptidos opioides en la mediación de la supresión de la secreción de la LH inducida por los esteroides ováricos (Mahmoud et al., 1989). Sin embargo, en las vaquillas de aproximadamente 10 meses de edad, la aplicación de la naloxona o de quadazocina (antagonista para los tres tipos de receptores: mu, kappa, y delta) durante la fase folicular, incrementa la magnitud de los pulsos en que es liberada la LH sin afectar su secreción durante la fase lútea (Short et al., 1987; Mahmoud et al., 1989).

Esto sugiere que a diferencia de las ratas, las monas, las mujeres y las borregas; en las vacas y las vaquillas que se encuentran ciclando, puede no existir un mecanismo opioide que deprima la secreción de la LH inducida por la progesterona. Sin embargo, un mecanismo opioide puede

estar involucrado en el favorecimiento de la secreción de la LH durante la fase folicular (Short et al., 1987).

En vacas gestantes próximas al parto (aproximadamente 9 días antes del parto) y en las vacas ovariectomizadas tratadas con progesterona y estradiol en cantidades similares a las observadas durante la gestación, la aplicación de la naloxona no aumenta la secreción de la LH y la respuesta de la LH a la aplicación de la GnRH exógena fue mínima. Siete días después de terminado el tratamiento con los esteroides exógenos a vacas ovariectomizadas, la aplicación de la naloxona aumentó la secreción de la LH y un mayor número de los animales tratados respondieron a un segundo estímulo de la naloxona cuando ésta fue aplicada 14 días después de terminado el tratamiento con los esteroides exógenos (Run et al., 1990).

De la misma manera, en borregas en anestro posparto tratadas con estrógenos, la liberación de la LH por la aplicación de la naloxona fue mayor a medida que progresó el tiempo posparto en el que fue administrada (Leakatos et al., 1986). Esto sugiere que después del parto la concentración de esteroides producidos durante la gestación ejercen efectos residuales inhibitorios en la liberación de la LH durante las primeras semanas después del parto (Run et al., 1990) y que a medida que progresa el período posparto y que la concentración elevada de los esteroides de la gestación disminuyen de la circulación, el hipotálamo recupera su sensibilidad al estímulo de la naloxona, quizás por un incremento en el número de receptores opiáceos. Además, la falta de efecto de la naloxona posiblemente es debida a una reducción de la sensibilidad de la pituitaria a la GnRH, lo que es comprobado por la liberación reducida de la LH en respuesta a GnRH exógeno en los mismos animales (Run et al., 1990).

Durante el anestro posparto de la borrega, la infusión intracerebral de la naloxona produjo un incremento en la secreción de la LH de mayor magnitud que el observado en la borrega ciclando (Allrich et al., 1989). Este incremento fue mayor cuando fueron tratadas con progesterona (Malven et al., 1987). Por otra parte, la aplicación de naloxona en vacas 6 meses después de ser ovariectomizadas, no indujo incrementos en la secreción de la LH (Run et al., 1988). Sin embargo, en vacas ovariectomizadas al tercer día de paridas y que además amamantaron a sus crías, la aplicación de la naloxona a los 14 y 28 días posparto, indujeron un aumento en la liberación de la LH, que fue mayor al de las vacas con ovarios y con cría (Run et al., 1989).

La interpretación de los párrafos anteriores permite suponer: 1) que la ausencia de los esteroides ováricos por tiempo prolongado, son predisponentes de la falta del tono inhibitor

opioide sobre la liberación de la LH; 2) que durante el posparto temprano persisten efectos residuales de los esteroides ováricos producidos durante la gestación que impiden la secreción de la LH y; 3) que durante el posparto tardío en vacas que amamantan a sus crías, las hormonas ováricas secretadas en mínimas cantidades inducen una inhibición opioide, que reduce la liberación de la LH producida por la aplicación de la naloxona.

### **Los péptidos opioides y su relación con el amamantamiento.**

Son limitados los estudios concernientes al papel de los neurotransmisores sobre el control de la liberación tónica de la LH en animales rumiantes. Sin embargo, los neurotransmisores que han sido implicados como mediadores del efecto del amamantamiento sobre el hipotálamo incluyen a la serotonina, dopamina, catecolaminas y los péptidos opioides endógenos: metionina-enkefalina,  $\beta$ -endorfina, dinorfina A 1-17 y dinorfina A 1-18, que tienen acciones recíprocas en la secreción de la prolactina y la LH (Sirinathsinghji y Martini, 1984; Ben-Jonathan, 1985; Malven et al., 1986; Dailey et al. 1987).

Algunos experimentos muestran que una liberación pulsátil relativamente lenta de la GnRH, determina la baja frecuencia de pulsos en que la LH es liberada durante el anestro (Moss et al., 1985; Gonzáles y Murphy, 1988; Nanda et al., 1990). La reducción en la frecuencia de pulsos de la GnRH, parece ser ocasionada por péptidos opioides que son sintetizados en el hipotálamo (Malven, 1986; Malven et al., 1986). Aparentemente los péptidos opioides actúan como mediadores del efecto del amamantamiento sobre el anestro posparto (Whisnant et al., 1986a,b).

En la vaca, la borrega y la rata, se ha observado que el amamantamiento produce un incremento en la concentración de  $\beta$ -endorfina en el hipotálamo y en el sistema porta hipotálamo-hipofisiario (Gordon et al., 1987; Riskind et al., 1984; Malven et al., 1988). Pero sólo en vacas, se ha observado que después de 48 horas de haberle retirado su cría, la concentración de  $\beta$ -endorfina disminuye en el hipotálamo (Malven et al., 1988).

En diferentes regiones del hipotálamo, el número de sitios de unión para la naloxona marcada con trítio, es mayor en vacas y borregas bajo el estímulo del amamantamiento comparado con aquellas que se encuentran ciclando (Malven, 1986; Malven y Hudgens, 1987; Malven et al., 1987) y en vacas conforme progresa el período posparto, después del día 28 y hasta el día 56, disminuye el número de estos sitios de unión (Malven y Hudgens, 1987). Por lo que se ha

propuesto que es necesaria una disminución en la concentración de los receptores opiáceos para que sea posible el inicio de la ciclicidad estral posparto (Trout y Malven, 1988; Malven et al., 1987).

En varias especies domésticas incluyendo a la vaca que amamanta a su cría, la aplicación de naloxona aumenta la concentración sérica de la LH (Mattioli et al., 1986; Whisnant et al., 1986a,c; Armstrong et al., 1986; Gregg et al., 1986). Al eliminar el estímulo del amamantamiento, la aplicación de la naloxona pierde su capacidad para incrementar la concentración de la LH (Whisnant et al., 1986a,c; Barb et al., 1985). Sin embargo, en las vacas donde el destete no aumenta la secreción de la LH, la aplicación de la naloxona induce un incremento en la concentración sérica (Whisnant et al., 1986a).

Como ya fue mencionado, es conocido que la naloxona incrementa la secreción de la LH en vacas amamantando y en anestro (Whisnant et al., 1986a,b). Sin embargo, la concentración de los péptidos opioides endógenos en el tejido nervioso se incrementa por el efecto del amamantamiento y están implicados en el control de la liberación de la GnRH (Malven et al., 1986). Por lo tanto, los péptidos opioides endógenos están jugando un papel "integral" a nivel hipotalámico en la regulación del anestro posparto de vacas amamantantes.

Con respecto a la naloxona, se sabe que una sola inyección aplicada después del día 14 posparto, es capaz de producir un incremento en la concentración sérica de la LH (Run et al., 1989) semejante a un pulso ocurrido en vacas ciclando cuando se aproxima el momento de la ovulación (Whisnant et al., 1986a,b,d).

El efecto de la naloxona sobre la liberación de la LH, se ha determinado por periodos de muestreo sanguíneo relativamente cortos (menor a 3 horas) y se sabe que la LH aumenta aproximadamente a los 15 minutos, para volver a concentraciones basales a los 60 minutos después de la administración del fármaco (Whisnant et al., 1986 a,b,c,d; Myers et al. 1989). Pero se desconoce qué sucedería con la secreción de la LH por efecto de la naloxona, después de 3, 6 ó 24 horas de su aplicación, considerando que podría haber algún efecto residual o recurrente.

La amplitud de pulsos inducidos por la naloxona han sido en todos los trabajos mencionados, menores a 10 ng/ml. Dicha amplitud también es inferior a la de los pulsos preovulatorios, que es por lo menos de 22 ng/ml (Nanda et al., 1990). Lo que permite suponer que es poco probable que una sola inyección de naloxona inducirá la ovulación, ya que los pulsos que produce son

menores en amplitud y en duración (< 10 ng/ml y 30 min, respectivamente) a los pulsos de LH que preceden a las ovulaciones espontáneas que tienen una amplitud > 22 ng/ml y duración de 60 min que se repiten en el transcurso de 8 a 12 horas. Por lo tanto, es posible que inyecciones frecuentes de naloxona pudieran modificar los patrones de liberación de la LH, observándose esto por períodos de muestreo sanguíneo más prolongados, de tal manera que indujeran la ovulación y acortaran el anestro en vacas.

Con relación a lo anterior, se han probado en vacas de carne diferentes frecuencias de aplicación de la naloxona, induciendo en la mayoría de los casos un aumento en la concentración de la LH (Whisnant et al. 1986a,b,c,d; Myers et al. 1989). Sin embargo, en los casos mencionados las inyecciones fueron repetidas a intervalos demasiado amplios (6 horas) como para poder generar pulsos de la LH con una frecuencia cercana a un pulso por hora, que es la que aparentemente se requiere para inducir la primera ovulación posparto (Carruthers y Hafs, 1980; Peters, 1985; Short et al., 1990). Por ser relativamente recientes los trabajos con naloxona, se ignoran las respuestas a preguntas básicas : a) ¿si la naloxona activa al hipotálamo cuando se aplica en forma repetida a intervalos de una hora induciendo incrementos de la LH sérica de similar magnitud?; b) ¿si la naloxona puede presensibilizar al hipotálamo de tal manera que su respuesta a inyecciones subsecuentes sea aumentada?; c) ¿si una aplicación de naloxona induce o inhibe la respuesta del hipotálamo a aplicaciones subsecuentes del fármaco?, o d) ¿si una o varias inyecciones de naloxona tienen efectos residuales que alteren los patrones de liberación de la GnRH y como consecuencia los de la LH?

Las respuestas a las interrogantes previas, proporcionarán información que puede contribuir a aclarar el modo de acción de la naloxona y en forma indirecta de los péptidos opioides.

La acción de la naloxona antes descrita, no ha sido comprobada en vacas de doble propósito, en las que se combinan los efectos de la ordeña con el estímulo del amamantamiento. En el mismo sentido, en la literatura disponible no se encontró información acerca de los efectos de la naloxona sobre la ovulación en ningún tipo de vacas, ya sean productoras de leche, carne o manejadas bajo el sistema de doble propósito.

Considerando la discusión anterior, en este estudio se emplearon vacas de doble propósito en anestro con 30 días posparto, para probar la validez de las siguientes hipótesis.

## HIPOTESIS.

Usando como modelo experimental vacas de doble propósito sometidas a doble ordeño y control del amamantamiento:

La naloxona aplicada una sola vez el día 30 posparto induce un incremento transitorio en forma de pulso de la hormona luteinizante sérica.

Una sola aplicación de naloxona no tiene efectos residuales y por lo tanto, aparte del pulso transitorio inducido, no altera los patrones pulsátiles de liberación de la hormona luteinizante, típicos de vacas en anestro.

Al no alterar los patrones de liberación de la LH, una inyección de naloxona aplicada el día 30 posparto no acorta el intervalo del parto a la primera ovulación y el primer estro.

La naloxona aplicada en forma repetida a intervalos de una hora el día 30 posparto, induce pulsos de la hormona luteinizante de amplitud y duración similares entre aplicaciones.

La naloxona aplicada en forma repetida acelera la frecuencia de pulsos de liberación de la hormona luteinizante; consecuentemente reduce el intervalo del parto a la primera ovulación y el estro.

## **OBJETIVOS.**

En vacas de doble propósito en anestro posparto y sometidas a doble ordeño y control del amamantamiento:

Determinar si una inyección de naloxona modifica los patrones de secreción de la hormona luteinizante, durante las 6 horas y de 21 a 24 horas después de su aplicación.

Determinar si tres inyecciones consecutivas de naloxona a intervalos de una hora modifican los patrones de secreción de la hormona luteinizante durante la 6 horas y de 21 a 24 horas después de su aplicación.

Determinar si cada una de las tres inyecciones de naloxona a intervalos de una hora inducen un pulso de la hormona luteinizante después de su aplicación.

Determinar si una o tres inyecciones de naloxona reducen el intervalo del parto a la primera ovulación y el primer estro.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales.

Se utilizaron 18 vacas de doble propósito, 3/4 *Bos taurus* x 1/4 *Bos indicus* (Suizo Americano, Holstein o Simmental x Cebú), que tenían al inicio del estudio entre dos y cuatro partos. Las vacas presentaron parto normal, involución uterina antes del día 30 posparto (determinada por palpación rectal) y permanecieron clínicamente sanas durante el estudio. Su condición corporal al momento del parto fluctuó entre 2.5 a 3.5 (1=emaciación, 5=obesidad) y permanecieron en anestro al menos hasta el día 30 posparto (concentración de progesterona sérica < 1 ng/ml).

### Manejo y alimentación.

Las vacas fueron mantenidas en pastoreo rotacional, en praderas de gramas nativas (*Axonopus spp.* y *Paspalum spp.*) y de pasto Estrella de Africa (*Cynodon plectostachyus*), en una carga promedio de 1.4 unidades animal por ha/año (unidad animal = 450 kg). Excepto por dos períodos de amamantamiento de al menos 30 minutos cada uno, las vacas permanecieron separadas de sus crías.

La alimentación complementaria consistió en 2.5 kg de concentrado (16% de proteína cruda y 73% de nutrientes digestibles totales) por vaca en cada ordeño, desde el parto hasta el fin del experimento (día 52 ó 53 posparto). Las vacas recibieron agua y sales minerales (Calcio, Fósforo, Magnesio y microelementos, en mezcla comercial) a libertad. Dentro de las primeras 24 horas posteriores al parto y cada 14 días hasta el fin del estudio, se determinó el peso y la condición corporal de las vacas.

Las vacas fueron ordeñadas en forma mecánica dos veces al día (6:00 y 15:00 h). Antes de cada ordeño se permitió que los becerros estimularan por amamantamiento la eyección de la leche. El ordeño se realizó en tres cuartos de la glándula mamaria en presencia del becerro. Una vez terminado el ordeño, el becerro permaneció con su madre durante al menos 30 minutos, para que ingiriera la leche del cuarto no ordeñado más la leche residual de los cuartos restantes. Al terminar el amamantamiento los becerros fueron separados de las vacas, alojándolos en potreros de crianza donde recibieron 1 kg de concentrado/día (18% de proteína cruda y 73% de nutrientes



digestibles totales), así como agua y sales minerales (Calcio, Fósforo, Magnesio y microelementos, en mezcla comercial) a libertad.

En las vacas, la detección de estros se hizo dos veces al día (de 6:00 a 9:00 y 16:00 a 18:00 h), desde el parto hasta su ocurrencia. Una vaca se consideró en estro cuando aceptó la monta por el toro marcador o por otra vaca.

### **Tratamientos.**

Para controlar el efecto de la época de parto, las 18 vacas fueron distribuidas en cada uno de los tratamientos conforme fueron pariendo:

#### **Tratamiento 1 (1NX).**

Aplicación de 500 mg de naloxona (NX) por vía intramuscular (im) en el día 30 posparto, seguida de 2 inyecciones im de solución salina (SS) a intervalos de una hora.

#### **Tratamiento 2 (3NX).**

Aplicación de tres inyecciones im de NX (500 mg cada una) a intervalos de una hora en el día 30 posparto.

#### **Tratamiento 3 (0NX).**

Aplicación de tres inyecciones im de SS en forma y períodos idénticos a los de NX del tratamiento 2.

### **Toma de muestras de sangre y medición de hormonas.**

El día 29 posparto se insertó un catéter en una de las venas yugulares de cada vaca. A través del catéter, el día 30 posparto se tomaron muestras sanguíneas cada 15 min durante 3 h previas a la primera inyección de NX o SS (período PRENX); durante 3 h a partir de la primera inyección de NX o SS (período INX) y durante las 3 h siguientes a partir de la última inyección de NX o SS (período POSNX). Adicionalmente, para detectar el efecto de la naloxona sobre la permanencia de la liberación de la hormona luteinizante, de las 21 a las 24 horas después de la primera inyección de NX o SS se tomaron muestras de sangre cada 15 min (período POSNX2).

Para estudiar el efecto agudo de la naloxona sobre la liberación de la LH, el período INX, que fue en el que se aplicaron los tratamientos de NX o SS, se dividió en tres nuevos períodos de una hora cada uno que consistieron: en la hora siguiente a la primera inyección de NX o SS (período PNX1), en la hora siguiente a la segunda inyección de NX o SS (período PNX2) y en la hora siguiente a la tercera inyección de NX o SS (PNX3).

En el suero obtenido de todas las muestras se cuantificó la concentración de la LH.

A partir del día siete u ocho y hasta el día 52 ó 53 posparto, se tomaron muestras de sangre cada 48 h por punción de una vena yugular. A estas muestras se les determinó la concentración de progesterona sérica que se usó para: a) confirmar la condición de anestro (muestras tomadas entre los días 7 y 29 posparto), y b) determinar la ocurrencia de ovulaciones (muestras colectadas del día 30 al 53 posparto).

Las concentraciones de LH y progesterona se determinaron por radioinmunoanálisis validados en el laboratorio del Centro Nacional de Investigación en Fisiología y Mejoramiento Animal (INIFAP-SAGARPA).

Los coeficientes de variación de los controles de calidad altos ( $1.30 \pm 0.29$ ) intra ( $n=2$ ) e interensayo ( $n=16$ ) para la progesterona fueron 11.9 y 16.0 %, respectivamente. Los coeficientes de variación de los controles de calidad altos ( $23.25 \pm 1.66$ ) intra ( $n=7$ ) e interensayo ( $n=3$ ) para la LH fueron 5.34 y 6.89 %, respectivamente.

#### **Variables de respuesta.**

1) para estimar los efectos de la naloxona sobre el patrón de liberación de la LH se usaron las variables:

- a) Concentración media, ng / ml.
- b) Concentración basal, ng / ml.
- c) Frecuencia de pulsos, # / 3 h.
- d) Amplitud de los pulsos, ng / ml.
- e) Duración de los pulsos, min.
- f) Concentración de pulso, ng / ml.

2) Para determinar los efectos de la NX sobre la primera ovulación y primer estro posparto, se usaron las siguientes variables:

- a) Intervalo entre el parto y la primera ovulación posparto.
- b) Intervalo entre el parto y el primer estro posparto

Las variables antes descritas fueron determinadas de acuerdo a los siguientes criterios:

- 1) Concentración media de la LH: el promedio de las concentraciones de todas las muestras colectadas por cada vaca dentro de cada tratamiento y período de muestreo.
- 2) Concentración basal de la LH: la concentración más baja (nadir), de las muestras colectadas por cada vaca dentro de cada tratamiento y período de muestreo.
- 3) Pulso de LH: un incremento de la concentración de la LH, igual o mayor a dos desviaciones estándar por arriba del nadir, seguido por cuando menos dos muestras descendentes por cada vaca dentro de tratamiento y período de muestreo.
- 4) Frecuencia de pulsos: el número de pulsos contabilizados en 3 horas por cada vaca dentro de tratamiento y período de muestreo.
- 5) Amplitud de pulso: la diferencia entre la concentración máxima (pico) de un pulso y la concentración nadir de LH por cada vaca dentro de tratamiento y período.
- 6) Duración de pulso: es el tiempo transcurrido en minutos entre el nadir previo y el nadir posterior a un pulso.
- 7) Concentración de pulso: promedio de las concentraciones de todos los picos por vaca dentro de tratamiento y período de muestreo.
- 8) Concentración basal de progesterona: promedio de las muestras colectadas los días 7 u 8 posparto de cada vaca,  $< 1.0 \text{ ng / ml}$ .

- 9) Anestro: definido por concentraciones de progesterona que no difirieron de la basal.
- 10) Ovulación: se determinó indirectamente y considerándose ser cuatro días antes de la primera muestra de progesterona indicadora de un cuerpo lúteo (concentración  $>$  a 1 ng / ml).
- 11) Cuerpo lúteo: indicado por 3 muestras consecutivas de suero con concentraciones de progesterona mayores a 1 ng/ml. En el caso de detectarse una elevación de progesterona en una o dos muestras colectadas al final del estudio ( 4 ó 2 días antes o durante el último día), ésta no deberá diferir ( $P > 0.05$ ) del promedio de progesterona en todas las muestras reconocidas como de un cuerpo lúteo, para ser usado como indicador de ovulación.
- 12) Intervalo del parto a la primera ovulación posparto: tiempo transcurrido en días, entre el parto y la primera ovulación ocurrida dentro de los 56 días posparto.
- 13) Intervalo del parto al primer estro: tiempo transcurrido en días, entre el parto y el primer estro ocurrido dentro de los 56 días posparto.

### **Diseño experimental y análisis estadístico.**

Para examinar los efectos de la NX sobre los patrones de liberación de la LH, se usó un diseño de parcelas divididas. La parcela principal estuvo representada por la vaca dentro de tratamiento: 1NX, 3NX y 0NX; las subparcelas por los periodos de muestreo: PRENX, INX, POSNX y POSNX2. Para examinar el efecto agudo de la NX sobre los patrones de liberación de la LH, también se usó un diseño de parcelas divididas. La parcela principal estuvo representada por la vaca dentro de tratamiento: 1NX, 3NX y 0NX; las subparcelas por los periodos de muestreo: PNX1, PNX2 Y PNX3.

Inicialmente se planeó que los datos fueran sometidos a análisis de covarianza adecuados a los modelos. Para ello, se consideraron como covariables: el cambio de peso y condición corporal del parto al día 14, del día 14 al día 28, del día 28 al día 56 posparto, la producción láctea promedio durante los primeros 30 y de los 30 a los 56 días posparto. Antes de incluir los

efectos anteriores como covariables se hicieron análisis estadísticos a cada uno de ellos considerándolos como variables de respuesta, en un modelo completamente aleatorio, para eliminar como covariables a aquellos que no manifestaran diferencias entre tratamientos. En los análisis estadísticos realizados, no se encontraron diferencias ( $P > .05$ ) entre tratamientos, (ver anexo pág 78), por lo que no se incluyeron como covariables en los modelos de parcelas divididas para analizar el efecto de la NX sobre la liberación de la LH. Consecuentemente, la información relacionada con la LH fue examinada mediante análisis de varianza para diseños de parcelas divididas utilizando el Procedimiento Modelos Lineales Generales del Sistema de Análisis Estadístico (S.A.S., 1989).

Para analizar el efecto de la naloxona sobre el número de pulsos de la LH, donde no se presentó un pulso dentro de tratamiento y período se consideró como cero, para que al realizar el análisis estadístico se hicieran las estimaciones de las medias de cuadrados mínimos por tratamientos, períodos de muestreo y sus interacciones. Para las variables concentración de pulso, amplitud y duración de pulso de la LH solo se consideraron los valores donde si se presentó un pulso de la LH, pero el desbalance en el número de observaciones no permitió la estimación de las medias de cuadrados mínimos, por lo que se estimaron las medias no ajustadas por tratamientos, períodos de muestreo y su interacciones con la finalidad de mostrar los valores de estas variables.

La influencia de la naloxona sobre la ovulación y el estro se estudió por medio un análisis de varianza para un diseño completamente aleatorio (S.A.S., 1989).

Los modelos estadísticos se presentan a continuación.

Parcelas divididas:

$$Y_{ijk} = \mu + V_j + T_i + (TV)_{ij} + P_k + T*P_{ik} + e_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$ , es cada una de las variables de respuesta que describe a cada una de las características de liberación de la LH.

$\mu$ , es la media teórica de una población definida por las condiciones experimentales.

$V_j$ , efecto de la  $j$ -ésima vaca.

$T_i$ , es el efecto del  $i$ -ésimo tratamiento.

$(TV)_{ij}$ , efecto de la  $j$ -ésima vaca anidada en el  $i$ -ésimo tratamiento, usado como término del error para probar las diferencias entre tratamientos.

$P_k$ , es el efecto del  $k$ -ésimo período de muestreo.

$T*P_{ik}$ , es el efecto de interacción entre el  $i$ -ésimo tratamiento y el  $k$ -ésimo período de muestreo.

$e_{ijk}$ , es el error experimental aleatorio.

Completamente al azar para medir efectos de tratamiento y seleccionar covariables:

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

Donde:

$Y_{ij}$ , es el tiempo a primera ovulación o primer estro posparto.

$\mu$ , una constante ya definida.

$T_i$ , es el efecto del  $i$ -ésimo tratamiento.

$e_{ij}$ , es el error experimental aleatorio.

Debido a que los animales no presentaron ovulación y estro dentro de los 56 días de estudio, no fue posible en este período determinar los intervalos del parto a la ovulación y estro. Sin embargo, por observación adicional se detectó la presentación del estro y se diagnosticó la gestación en todos los animales después de los 56 días del estudio, incluyendo en los resultados, los intervalos del parto al primer estro y a la concepción y los servicios por concepción. La información fue analizada por análisis de varianza en un modelo completamente aleatorio.

## RESULTADOS

Los 18 animales experimentales permanecieron en anestro (concentración de progesterona < 1.0 ng/ml), desde el parto hasta el momento de aplicar los tratamientos de naloxona o solución salina fisiológica. La concentración de progesterona fue de  $0.187 \pm 0.096$  ng/ml en los días 7 u 8 y se mantuvo baja desde el día 8 ó 9 hasta el día 30 posparto ( $0.174 \pm 0.127$ ), momento en que se iniciaron los tratamientos experimentales. Del día 30 al 53 posparto, todas las vacas se mantuvieron en anestro con una concentración de progesterona de  $0.146 \pm 0.024$  ng/ml, indicando esto, que en ningún caso las vacas ovularon durante la colección de muestras sanguíneas.

El análisis de varianza (Cuadro 1) y las medias de cuadrados mínimos (Cuadro 2) que definieron los patrones de liberación de la LH en los cuatro períodos de estudio de 3 horas cada uno, indicaron que los tratamientos, períodos y sus interacciones, no afectaron ( $P > .05$ ) el número de pulsos, la concentración promedio y basal de la LH. Debido a que no fue posible realizar el análisis de varianza para la concentración, la amplitud y la duración de pulsos de la LH, por existir períodos de muestreo en los que no hubo pulsos de la LH, solo se presentan las medias aritméticas de estas características (Cuadros 3).

De igual manera el análisis de varianza y las medias de cuadrados mínimos (Cuadros 4 y 5), para examinar el efecto agudo de la naloxona durante el período de 3 horas donde se aplicaron los tratamientos, mostraron que la naloxona no afectó los patrones de liberación de la LH ( $P > .05$ ) para número de pulsos, concentración promedio y basal de la LH; Como no fue posible realizar el análisis de varianza para la concentración, la amplitud y la duración de pulsos de LH, por existir períodos de muestreo en los en los que no hubo pulsos de la LH, solo se presentan las medias aritméticas de estas características.

Una o tres inyecciones de naloxona redujeron ( $P < .01$ ) el período del parto al primer estro con relación al observado en vacas tratadas con solución salina fisiológica, como se demuestra en el análisis de varianza (Cuadro 7) y las medias de cuadrados mínimos correspondientes a cada tratamiento (Cuadro 8). En los animales tratados con 1 ó 3 inyecciones de naloxona, el período del parto al primer estro se redujo ( $P < .01$ ) en un 54 %, al compararse con lo observado en las vacas utilizadas como control.

El número de servicios por concepción no difirió entre tratamientos ( $P > .05$ ). Sin embargo, solo las vacas que recibieron INX presentaron un intervalo a primera concepción más corto ( $P < .05$ ) que las de los otros dos tratamientos (Cuadros 7 y 8).



**CUADRO 1. CUADRADOS MEDIOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA PARA NUMERO DE PULSOS, CONCENTRACIÓN PROMEDIO Y BASAL DE LH, DURANTE LOS CUATRO PERIODOS DE ESTUDIO EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO TRATADAS CON NALOXONA.**

FUENTE DE VARIACIÓN*	gl	CUADRADOS MEDIOS		
		No. PULSOS	CONCENTRACIÓN PROMEDIO	CONCENTRACIÓN BASAL
Vaca(V)	5	0.425	0.300	0.301
Tratamiento (TX)	2	0.125	0.220	0.158
(V TX)	10	1.025	0.866	0.568
Período (PDO)	3	0.458	0.058	0.095
TX*PDO	6	0.569	0.055	0.097
Error	45	0.299	0.040	0.047
<b>TOTAL</b>	<b>71</b>			
<b>R<sup>2</sup></b>		<b>0.56</b>	<b>0.85</b>	<b>0.85</b>
<b>C.V. %</b>		<b>87.50</b>	<b>45.4</b>	<b>45.4</b>

\* No se detectaron diferencias ( $P > 0.05$ ) para ningún efecto.

**CUADRO 2. MEDIAS DE CUADRADOS MÍNIMOS Y ERRORES ESTÁNDAR DEL NUMERO DE PULSOS, CONCENTRACIÓN PROMEDIO Y BASAL DE LH, DURANTE LOS CUATRO PERIODOS DE ESTUDIO EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO TRATADAS CON NALOXONA.**

CARACTERÍSTICA	N	No. PULSOS	CONCENTRACIÓN PROMEDIO	CONCENTRACIÓN BASAL
		#/3 h	ng/ml	ng/ml
<b>Tratamiento<sup>1</sup></b>				
1NX	24	0.70 ± 0.1	0.55 ± 0.04	0.39 ± 0.04
3NX	24	0.58 ± 0.1	0.39 ± 0.04	0.24 ± 0.04
0NX	24	0.58 ± 0.1	0.38 ± 0.04	0.26 ± 0.04
<b>Período<sup>1</sup></b>				
PRENX	18	0.61 ± 0.1	0.44 ± 0.04	0.27 ± 0.05
INX	18	0.83 ± 0.1	0.48 ± 0.04	0.28 ± 0.04
PNX	18	0.44 ± 0.1	0.36 ± 0.04	0.25 ± 0.05
PNX2	18	0.61 ± 0.1	0.48 ± 0.04	0.41 ± 0.05

<sup>1</sup>: 1NX, una inyección de naloxona (nx, 500 mg) + 2 de solución salina fisiológica (sf, 5 ml); 3NX, tres inyecciones de nx; y 0NX, tres inyecciones de sf, en cada caso una inyección cada 60 min. PRENX, tres horas previas a la primera; INX, tres horas durante; PNX, tres horas después de la última inyección; y PNX2, de 21 a 24 horas después de la primera inyección, de nx o sf. No se detectaron diferencias ( $P > .05$ ) para ningún efecto.

**CUADRO 3. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA CONCENTRACIÓN, AMPLITUD Y DURACIÓN DE PULSOS DE LH, DURANTE LOS CUATRO PERIODOS DE ESTUDIO EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO TRATADAS CON NALOXONA.**

CARACTERÍSTICA		CONCENTRACIÓN DE PULSO	AMPLITUD DE PULSO	DURACIÓN DE PULSO
	N	ng/ml	ng/ml	min
<b>Tratamiento<sup>1</sup></b>				
1NX	15	1.11 ± 0.84	0.61 ± 0.37	52.0 ± 14.8
3NX	13	0.85 ± 0.64	0.57 ± 0.46	50.7 ± 16.8
0NX	10	0.54 ± 0.87	0.36 ± 0.48	43.5 ± 14.9
<b>Período<sup>1</sup></b>				
PRENX	9	0.77 ± 0.63	0.49 ± 0.28	48.3 ± 22.2
INX	13	1.06 ± 0.95	0.69 ± 0.59	48.4 ± 10.8
PNX	8	0.76 ± 0.69	0.42 ± 0.32	50.6 ± 17.8
PNX2	8	0.78 ± 0.86	0.43 ± 0.38	50.6 ± 13.7

<sup>1</sup>; 1NX, una inyección de naloxona (nx, 500 mg) + 2 de solución salina fisiológica (sf, 5 ml); 3NX, tres inyecciones de nx; y 0NX, tres inyecciones de sf, en cada caso una inyección cada 60 min. PRENX, tres horas previas a la primera; INX, tres horas durante; PNX, tres horas después de la última; PNX2, 21 a 24 horas después de la primera inyección de nx o sf. No se detectaron diferencias ( $P > .05$ ) para ningún efecto. N, numero de observaciones que corresponden a los pulsos presentados dentro de tratamiento y período.

**CUADRO 4. CUADRADOS MEDIOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA PARA NUMERO DE PULSOS, CONCENTRACIÓN PROMEDIO Y BASAL DE LH DURANTE EL PERÍODO DE TRATAMIENTO CON NALOXONA (3 HORAS), EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO.**

FUENTE DE VARIACIÓN*	gl	CUADRADOS MEDIOS*		
		No. PULSOS	CONCENTRACIÓN PROMEDIO	CONCENTRACIÓN BASAL
Vaca (V)	5	0.196	0.255	0.199
Tratamiento (TX)	2	0.018	0.183	0.142
(V TX)	10	0.129	0.870	0.531
Período (PDO)	2	0.018	0.009	0.033
TX*PDO	4	0.185	0.023	0.033
ERROR	30	0.285	0.044	0.008
TOTAL	53			
R <sup>2</sup>		0.26	0.88	0.96
C.V. %		169.63	43.68	27.59

\* No se detectaron diferencias en ningún efecto ( $P > .05$ ).

**CUADRO 5. MEDIAS DE CUADRADOS MÍNIMOS Y ERRORES ESTÁNDAR PARA NUMERO DE PULSOS, CONCENTRACIÓN PROMEDIO Y BASAL DE LH, DURANTE EL PERÍODO DE TRATAMIENTO CON NALOXONA (3 HORAS), EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO.**

CARACTERÍSTICA	PULSOS		CONCENTRACIÓN PROMEDIO	CONCENTRACIÓN BASAL
	N	#/ 1 h	ng/ml	ng/ml
<b>Tratamiento<sup>1</sup></b>				
1NX	18	0.33 ± 0.12	0.59 ± 0.04	0.43 ± 0.02
3NX	18	0.33 ± 0.12	0.43 ± 0.04	0.28 ± 0.02
0NX	18	0.27 ± 0.12	0.41 ± 0.04	0.28 ± 0.02
<b>Período<sup>1</sup></b>				
PNX1	18	0.33 ± 0.12	0.32 ± 0.04	0.32 ± 0.02
PNX2	18	0.27 ± 0.12	0.35 ± 0.04	0.35 ± 0.02
PNX3	18	0.33 ± 0.12	0.32 ± 0.04	0.33 ± 0.02

<sup>1</sup>: 1NX, una inyección de naloxona (nx, 500 mg) + 2 de solución salina fisiológica (sf, 5 ml); 3NX, tres inyecciones de nx y 0NX, tres inyecciones de sf, en cada caso una inyección cada 60 min PNX1, una hora después de la primera; PNX2, una hora después de la segunda; PNX3, una hora después de la tercera, inyección de nx o sf. No se detectaron diferencias (P>0.05) en ningún efecto.

**CUADRO 6. MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR PARA CONCENTRACIÓN, AMPLITUD Y DURACIÓN DE PULSO DE LH, DURANTE EL PERÍODO DE TRATAMIENTO CON NALOXONA (3 HORAS), EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO.**

CARACTERÍSTICA	N	CONCENTRACIÓN DE PULSO ng/ml	AMPLITUD DE PULSO ng/ml	DURACIÓN DE PULSO Min
<b>Tratamiento<sup>1</sup></b>				
1NX	6	1.13 ± 0.88	0.63 ± 0.48	45.0 ± 0.00
3NX	6	0.92 ± 0.79	0.65 ± 0.65	47.5 ± 11.29
0NX	5	0.83 ± 1.20	0.48 ± 0.68	45.0 ± 0.00
<b>Período<sup>1</sup></b>				
PNX1	6	0.96 ± 1.16	0.69 ± 0.77	47.0 ± 6.12
PNX2	5	0.98 ± 0.93	0.50 ± 0.51	45.0 ± 0.00
PNX3	6	0.97 ± 0.74	0.58 ± 0.47	45.0 ± 9.48

<sup>1</sup> 1NX, una inyección de naloxona (nx, 500 mg) + 2 de solución salina fisiológica (sf, 5 ml); 3NX, tres inyecciones de nx y 0NX, tres inyecciones de sf, en cada caso una inyección cada 60 min PNX1, una hora después de la primera; PNX2, una hora después de la segunda; PNX3, una hora después de la tercera, inyección de nx o sf; C, concentración; PROM., promedio. No se detectaron diferencias (P>.05) para ningún efecto. N, numero de observaciones que corresponden a los pulsos presentados dentro de tratamiento y periodo.

**CUADRO 7. CUADRADOS MEDIOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA PARA DÍAS A PRIMER ESTRO, CONCEPCIÓN POSPARTO Y SERVICIOS POR CONCEPCIÓN, EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO TRATADAS CON NALOXONA.**

FUENTE DE VARIACIÓN	gl	PRIMER ESTRO POSPARTO	CONCEPCIÓN	SERVICIOS POR CONCEPCIÓN
TRATAMIENTO	2	8158.5**	7950.8*	0.72
ERROR	15	1495.1	1915.7	1.2
TOTAL	17			
R <sup>2</sup>		0.44	0.35	0.07
C.V. %		38.4	37.3	72.3

\*\* (P < .01), \* (P < .05).

**CUADRO 8. MEDIAS DE CUADRADOS MÍNIMOS Y ERRORES ESTÁNDAR PARA DÍAS A PRIMER ESTRO Y CONCEPCIÓN POSPARTO EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO TRATADAS CON NALOXONA.**

TRATAMIENTO	PRIMER ESTRO POSPARTO (días)	CONCEPCIÓN (días)	SERVICIOS POR CONCEPCIÓN
1NX	77.0 ± 15.7	83.0 ± 17.0*	1.17 ± 0.45*
3NX	81.0 ± 15.7	112.0 ± 17.0	1.83 ± 0.45
0NX	143.0 ± 15.7**	155.0 ± 17	1.67 ± 0.45

Dentro de columna es diferente a los demás, \*\* (P < .01), \* (P < .05).

## DISCUSIÓN

A través de la concentración sérica de la progesterona, se pudo determinar que las vacas incluidas en el experimento permanecieron en anestro desde el parto hasta el día en que se sometieron a los tratamientos con la naloxona o la solución salina fisiológica. Además, los grupos fueron homogéneos en cuanto a producción láctea, cambio de peso y de condición corporal entre tratamientos. Por lo tanto, fue posible evaluar el efecto de la naloxona sobre el patrón de liberación de la LH, la ovulación y el retorno a la actividad estral de vacas de doble propósito en anestro posparto.

El análisis de la información indicó que durante el período de aplicación de una o tres inyecciones de naloxona no hubo efecto sobre las variables que describieron el patrón de secreción de la LH. Por lo tanto, la naloxona no indujo incremento en la cantidad secretada de LH.

Otros autores encontraron que en vacas productoras de carne, cuyos becerros permanecieron con ellas continuamente, respondieron a una inyección de naloxona con un incremento marcado de la LH sérica que se inició 15 minutos después de la administración del tratamiento y cuya duración fue de aproximadamente 60 minutos (Whisnant et al., 1986a). Aunque dichos investigadores en esos y otros estudios (Whisnant et al., 1986b,c,d) no analizaron el patrón pulsátil de la LH, nuestra interpretación de sus resultados es que la inyección de naloxona indujo en todas o la mayoría de las vacas, según el trabajo, un pulso de LH cuyo pico alcanzó una concentración entre 2.2 y 4.7 ng/ml de suero. Por lo tanto, los resultados obtenidos en la presente tesis, no se ajustan a las expectativas que se tenían en cuanto al tipo de respuesta de la LH a la naloxona.

En contra de lo observado en vacas con cría al pie, la naloxona no fue capaz de inducir aumentos de la concentración de LH sérica cuando se inyectó a vacas Angus cuya cría había sido destetada 48 horas antes (Whisnant et al., 1986a). Los resultados del presente trabajo; indican que las vacas sometidas al control del amamantamiento se comportan de manera semejante a las destetadas con relación a su capacidad de respuesta a la naloxona, por lo menos en términos del comportamiento de la LH sérica, en donde posiblemente el destete por si mismo ocasiona que aumente la secreción de LH y entonces la naloxona no puede aumentar aun más dicha secreción. Esta interpretación es apoyada por lo observado por Arreguín et al. (1992), quien al inyectar naloxona a vacas productoras de carne sometidas a un control del amamantamiento similar al



usado en el presente estudio, sólo fueron capaces de inducir un moderado incremento de la concentración promedio de LH sérica, el cual resultó diferente ( $P < .01$ ) a los valores registrados en las vacas testigo.

La aplicación de 3 inyecciones de naloxona a intervalos de una hora, no ocasionó cambios en el patrón pulsátil de liberación de la LH, ni indujo incrementos semejantes a un pulso durante las primeras 6 ó entre las 21 y 24 horas después de la primera inyección. Los antecedentes existentes indican que inyecciones repetidas a intervalos de 12 horas en vacas productoras de carne sometidas a un control del amamantamiento, no inducen la aparición de pulsos de LH (Arreguín et al., 1992). Por el contrario en vacas productoras de carne con cría al pie, 2 inyecciones de naloxona aplicadas con dos horas de separación, fueron capaces de promover pulsos que alcanzaron picos de 3.6 ng/ml (Whisnant et al., 1986d). También en vacas con cría al pie (Whisnant et al., 1986b) se comprobó que la infusión de naloxona en dosis de 0.8 mg/hora, durante 8 horas, causó un incremento del número de pulsos de LH (5 pulso/8 horas) en comparación con vacas que recibieron solución salina (3 pulsos/8 horas). Considerando lo anterior, se puede sugerir que la falta de efectos a inyecciones repetidas de naloxona observados en la presente tesis, se debió al control del amamantamiento al que se sometieron las vacas. Por otro lado, se determinó que el incremento de la actividad pulsátil resultante de aplicaciones repetidas de naloxona, se produjo solo cuando el tratamiento fue dado a los 42 días pero no si se administraba el día 28 posparto (Whisnant, et al., 1986d). Puesto que en la presente tesis los tratamientos se aplicaron el día 30 posparto, una explicación alternativa a la ausencia de efectos sobre la pulsatilidad de LH, pudo ser el tiempo relativamente temprano con relación al parto en que se inició el tratamiento.

No se ha generado información que permita entender con precisión los mecanismos que podrían mediar los efectos de la naloxona o la ausencia de ellos sobre la LH, dependiendo si se emplea en vacas con cría al pie o en vacas cuyo becerro se amamanta de manera restringida.

En el presente estudio y en el de Arreguín et al (1992), al restringir el amamantamiento o bien eliminando dicho efecto como en los trabajos de Malven, et al. (1986) y Whisnant, et al. (1986a), es posible que otros factores estén involucrados en la falla de la liberación de la LH tales como: a) insuficiente cantidad de LH liberable en la pituitaria, b) insensibilidad de las células de la pituitaria al estímulo de la GnRH y/o c) gran variación temporal en la concentración sérica de la LH, de tal manera que la naloxona no ocasione cambios significativos

en la liberación de la LH (Malven, 1986) en fases tempranas del período posparto. Tal vez, la falta de respuesta a la naloxona en las vacas sometidas a la restricción del amamantamiento, se deba a que el número de receptores para los péptidos opioides, a los cuales se une la naloxona en el hipotálamo se encuentre disminuido, ya que en vacas y borregas se ha observado en diferentes regiones del hipotálamo, que el número de receptores para la naloxona marcada con trítio, es mayor bajo el estímulo crónico del amamantamiento, comparado con aquellas que se encuentra ciclando (Malven, 1986; Malven et al., 1987; Malven y Hundges, 1987). Independientemente de los mecanismos que intervengan en la mediación de los efectos de la naloxona, la información generada en el presente estudio y en otro previo (Arreguín et al. 1992), es la primera en documentar que la naloxona no altera los patrones de liberación pulsátil de la LH, en vacas de doble propósito y carne, respectivamente, bajo condiciones de amamantamiento restringido en el período posparto temprano. Además, ambas investigaciones indican que los opioides endógenos quizás no son el mecanismo principal que gobierna el anestro posparto en vacas bajo el citado esquema de amamantamiento.

Ninguno de los investigadores que han estudiado los efectos de la naloxona en vacas, abordaron la influencia que este fármaco tiene sobre el inicio de la actividad estral posparto. Por lo tanto el presente estudio y el conducido por Arreguín et al. (1992) son los primeros en su género donde se examinan dichos efectos. En este trabajo se encontró, que una o tres aplicaciones de naloxona redujeron marcadamente el intervalo del parto al primer estro, con relación a las vacas que recibieron solución salina fisiológica.

Consecuentemente, se demostró que la naloxona reduce la duración del anestro posparto en vacas de doble propósito. Puesto que la naloxona produjo efectos similares en este trabajo y en vacas productoras de carne (Arreguín et al., 1992), se puede decir que el acortamiento del intervalo al primer estro posparto en vacas, es un efecto consistente de la naloxona.

En ambos estudios en que ocurrieron los efectos mencionados en vacas bajo el control del amamantamiento, el patrón de liberación de la LH no fue afectado, aunque en el trabajo de Arreguín et al. (1992) solo se incrementó ligeramente la concentración media de los pulsos de la LH. Aparentemente la naloxona actúa acelerando los mecanismos que inducen la primera ovulación y estro posparto en las vacas, sin mediación de cambios en el número de pulsos de la LH, por lo menos durante las primeras 24 (en éste estudio) ó 36 horas (Arreguín et al., 1992) posteriores a la aplicación del fármaco.

¿Cuál puede ser el mecanismo mediante el que la naloxona acorta el anestro posparto? Una posibilidad es que los ligeros incrementos en la concentración media de la LH (Arreguín et al., 1992) sean suficientes para desencadenar la cascada de eventos que conducen al primer estro y ovulación posparto. Alternativamente, la naloxona podría incrementar el número de pulsos de la LH después de las 36 horas de su aplicación, por acción indirecta sobre el hipotálamo e hipófisis. Ambos mecanismos propuestos podrían actuar sobre los folículos ováricos ocasionando un aumento en la secreción de estrógenos, los que a su vez actuarían sobre el hipotálamo y la hipófisis anterior logrando el cambio de interpretación que ésta glándula efectúa al recibir la señal estrogénica; es decir, cambiar la retroalimentación negativa de estradiol por positiva, desencadenando la liberación de la LH y la FSH en forma de oleada que conduce a la ovulación. Los mecanismos propuestos, aunque especulativos son posibles ya que se ha demostrado (Ireland y Roche, 1982, 1983; Staigmiller et al., 1982; Walters et al., 1982a,b) que al incrementarse la secreción de la LH, aumenta el número de receptores para ésta hormona en las células de la granulosa de los folículos ováricos, ocasionando con esto un aumento en el desarrollo folicular y la esteroidogénesis. También se sabe que el incremento de la progesterona y los estrógenos en forma secuencial modifican la sensibilidad del hipotálamo y la pituitaria, los cuales dejan de ser inhibidos por las mínimas cantidades de estradiol secretadas por los ovarios y responden a éstas, liberando las gonadotropinas en forma masiva (Clarke et al., 1988b).

Seguramente los esquemas empleados hasta la fecha al aplicar naloxona en forma repetida son inadecuados, ya que en vacas ciclando se requiere un patrón de aproximadamente un pulso de LH por hora durante por lo menos 3 a 5 días para que ocurra la oleada preovulatoria de LH y consecuentemente la ovulación (Carruthers et al., 1980). Por lo tanto, no se puede descartar que aplicaciones repetidas de naloxona por períodos más prolongados al usado en la presente tesis, den origen a pulsos que sean capaces de inducir la oleada preovulatoria de LH y la ovulación en un lapso más breve que el observado aquí.

La información relacionada con el comportamiento reproductivo de las vacas utilizadas en este estudio, contribuyó a proporcionar evidencias de que la naloxona no tiene un efecto detrimental sobre el comportamiento reproductivo de las vacas de doble propósito, ya que ni el número de servicios requeridos para lograr que las vacas resultaran gestantes, ni la tasa de concepción se vieron afectados por una o tres aplicaciones del fármaco. Por el contrario, estos resultados así como los de Arreguín et al. (1992), permiten sugerir que la naloxona, mediante

**mecanismos no explicados, acorta el intervalo del parto a la concepción, al reducir la duración del anestro posparto en vacas.**

## **CONCLUSIONES**

Con relación a lo observado en vacas de doble propósito que recibieron solución salina fisiológica, cuando se aplicó naloxona una o tres veces en el día 30 posparto, no se indujeron aumentos en las concentraciones basal y promedio de la LH sanguínea, ni hubieron cambios en la frecuencia magnitud y duración de sus pulsos de liberación espontáneos. Consecuentemente, se concluye que en vacas de doble propósito sometidas a control del amamantamiento, la naloxona no induce cambios en la secreción de la LH durante el posparto temprano.

Puesto que el intervalo del parto al primer estro fue más corto cuando se aplicó naloxona que cuando se suministró solución salina fisiológica, una última conclusión es que en vacas de doble propósito sometidas al control del amamantamiento, la inyección de naloxona reduce la duración del anestro posparto, mediante un mecanismo no aclarado en la presente tesis.

## LITERATURA CITADA

- Acosta B., Tarnavsky G.K., Platt T.E., Hamernik D.L., Brown J.L., Schoenemann H.M. and Reeves J.J. 1983. Nursing enhances the negative effect of estrogen on LH release in the cow. *J. Anim. Sci.* 57: 1530.
- Allrich R.D. (project leader), Malven P.V., Knutson R.J., Weesner G.D., Stanisiewski E.P., Kyle S.D., Haglof S.A. and Kunch V.P. 1989. Methods for improvement of fertility in cows postpartum. Annual report of regional research project NC-133. Purdue University. Agricultural Experimental Station. October 1, 1988 to September 30, 1989.
- Armstrong J.D., Britt J.H. and Cox N.M. 1986. Seasonal differences in function of the hypothalamic-hypophyseal-ovarian axis in weaned primiparous sows. *J. Reprod. Fertil.* 78: 11.
- Armstrong J.D. and Spears J.W. 1991. Changes in growth hormone following acute or chronic administration of an opioid agonist, FK33-824, in wethers. *J. Anim. Sci.* 96: 774.
- Arreguín A. A., Villa-Godoy A., Montaña-Bermudez M., Villagomez-Amezcuca M. E., Román-Ponce H. y Cárdenas M. 1992. Interacción entre los opioides hipotalámicos, progesterona (P) y estradiol (E) durante el anestro posparto en vacas cebú mantenidas en clima A,w(f). *Mem. Reun. Nal. Invest. Péc. Méx. Chihuahua* 92. p. 255.
- Azzam S.M., Werth L.A., Kinder J.E. and Nielsen M.K. 1991. Distribution of time to first postpartum estrus in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 69: 2563.
- Barb C.R., Kraeling R.R., Rampacek G.B. and Whisnant C.S. 1985. Opioid inhibition stimulates luteinizing hormone and prolactin secretion in the gilt. *Dom. Anim. Endocrinol.* 2 (2): 93.
- Beattie C.W. and Corvin A. 1975. The differential effects of diestrus progesterone administration on proestrus gonadotropin levels. *Endocrinology* 97: 885.
- Bellin M.E., Hinshelwood M.M., Hauser E.R. and Ax R.L. 1984. Influence of suckling and side of corpus luteum of pregnancy on folliculogenesis in postpartum cows. *Biol. Reprod.* 31: 849.
- Ben-Jonathan N. 1985. Dopamine: A prolactin inhibiting hormone. *Endocrinology Review* 6: 564.

- Bhanot R. and Wilkinson M. 1985. The inhibitory effect of opiates on gonadotrophin secretion is dependent upon gonadal steroids. *J. Endocrinol.* 102: 133.
- Brooks A.N., Lamming G.E., Lee P.D. and Haynes N.B. 1986a. Opioid modulation of LH secretion in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 76: 693.
- Brooks A.N., Haynes N.B., Yang K. and Lamming G.E. 1986b. Ovarian steroid involvement in endogenous opioid modulation of LH secretion in seasonally anestrus mature ewes. *J. Reprod. Fert.* 76: 709.
- Carruthers T.D. and Hafs H.D. 1980. Suckling at four-times daily milking: Influence on ovulation, estrus and serum luteinizing hormone, glucocorticoids and prolactin in postpartum Holsteins. *J. Anim. Sci.* 50:919.
- Carruthers T.D., Convey E.M., Kesner J.S., Hafs H.D. and Cheng K.W. 1980. The hypothalamo-pituitary gonadotrophic axis of suckled and nonsuckled daily cows postpartum. *J. Anim. Sci.* 51: 949.
- Casida L.E. 1971. The postpartum interval and its relation to fertility in the cow, sow and ewe. *J. Anim. Sci.* 1:66.
- Cermak D.L., Braden T., Manns J., Niswender T.D. and Nett T.M. 1983. Components of hypothalamic GnRH, pituitary FSH and LH, and pituitary receptors for GnRH and estradiol in postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 50: 496.
- Clarke G., Wood P., Merrick L. and Lincoln D.W. 1979. Opiate inhibition of peptides release from the neurohumoral terminals of hypothalamic neurons. *Nature* 282: 746.
- Clarke I.J., Cummins J.T., Crowder M.E. And Nett T.M. 1988a. Pituitary receptor for GnRH in relation to changes in pituitary and plasma gonadotropins in ovariectomized hypothalamo-pituitary disconnected ewes I. Effect of changing pulse frequency. *Biol. Reprod.* 37: 748.
- Clarke I.J., Cummins J.T., Crowder M.E. and Nett T.M. 1988b. Pituitary receptor for gonadotropin-releasing hormone in relation to changes in pituitary and plasma gonadotropin in ovariectomized hypothalamus/pituitary-disconnected ewes. II. A marked rise in receptor number during the acute feedback effect of estradiol. *Biol. Reprod.* 39:349.

- Custer E. E., Berardinelli J. G., Short R. E., Wehrman M. y Adair R. 1990. Postpartum interval to estrus and patterns of the LH and progesterone in first-calf suckled beef cows exposed to mature bulls. *J. Anim. Sci.* 68: 1370.
- Dailey R.A., Deaver D.R. and Goodman R.L. 1987. Neurotransmitter regulation of luteinizing hormone and prolactin secretion. In: G.D. Niswender (editor). *Reproduction in Domestic Ruminants*. The Dorset Press. Dorchester, UK.
- Devorshak-Harvey E., Bona-Gallo A. and Gallo R.V. 1988. Declining plasma progesterone levels eliminate endogenous opioid peptides suppression of LH pulse frequency on day 22 of gestation in the rat. *Neuroendocrinol.* 48: 584.
- D'Occhio M.J., Gifford D.R., Earl C.R., Weatherly T. and Von Renchenberg W. 1989. Pituitary and ovarian response of postpartum acyclic beef cows to continuous long-term GnRH and GnRH agonist treatment. *J. Reprod. Fertil.* 85: 495.
- Drouva S.V., Epelbaum J., Tapia-Arancibia L., Lapante E. and Kordon C. 1980. Met-enkephalin inhibition of K-induced LHRH and SRIF release from rat mediobasal hypothalamic slices. *Eur. J. Pharm.* 61: 411.
- Drouva S.V., Epelbaum J., Tapia-Arancibia L., Lapante E. and Kordon C. 1981a. Ionic channels involved in the LHRH and SRIF release from rat mediobasal hypothalamic. *Neuroendocrinology* 32: 155.
- Drouva S.V., Epelbaum J., Tapia-Arancibia L., Lapante E. and Kordon C. 1981b. Opiate receptors modulate LHRH and SRIF release from mediobasal hypothalamic neurons. *Neuroendocrinology* 32: 163.
- Eger S., Shemesh, M., Schindler, H., Amir, S. and Foote, R. H. 1988. Characterization of short luteal cycles in the early postpartum period and their relation to reproductive performance of dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 16: 215.
- Endergton L.A. 1980. Effect of lactation upon the postpartum interval. *J. Anim. Sci.* 51 (2): 40.
- Faigon M.R., Szwarcfarb B., Scacchi P. and Moguilevski J.A. 1987. Effect of naloxone of the development of the positive feedback action on oestrogen-progesterone on LH secretion in rats. *Acta Endocrinol. (Copenh.)* 115: 16.



- Gabriel S.M., Simpkins J.W. and Kalra S.P. 1983. Modulation of endogenous opioid influence on luteinizing hormone secretion by progesterone and estrogen. *Endocrinol.* 113: 1806.
- Gabriel S.M., Berglund R.A. and Simpkins J.W. 1986. A decline in endogenous opioid influence during the steroid-induced hypersecretion of luteinizing hormone in the rat. *Endocrinol.* 118: 558.
- Ganong W.F. 1988. Péptidos opioides en: Transmisión en las sinápsis y en las uniones mioneurales. *Fisiología Médica*. 11a. Edición. Editorial Manual Moderno. México. p. 86.
- Garai J., Vertes M. and Kovacs S. 1989. In vitro effects of cytosolic inhibitor and opiates on the binding of [<sup>3</sup>H] oestradiol to nuclear type II binding sites of rats uterus and hypothalamus. *J. Steroid Biochem.* 32: 433.
- Goldstein A. 1984. Opioid peptides: function and significance. In: Hughes J. et. al. (eds). *Opioids. Past, present and future*. Taylor and Francis, London. p. 127.
- González R.A. and Murphy, B.D. 1988. Effects of GnRH on luteinizing hormone release and onset of cyclic ovarian activity postpartum in pelibuey ewes. *Can. J. Anim. Sci.* 68:359.
- Gordon K., Renfree M.B., Short R.V., Clarke I.J. 1987. Hypothalamo-pituitary portal blood concentrations of  $\beta$ -endorphin during suckling in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 79: 397.
- Gregg D.W., Moss G.E., Hudgens R.E. and Malven P.V. 1986. Endogenous opioid modulation of luteinizing hormone secretion in the postpartum lactating sow. *J. Anim. Sci.* 63: 838.
- Hansen P.J. 1992a. Seasonal modulation of puberty and the postpartum anestrus in cattle: A review. IV Curso Internacional de Reproducción Bovina. Academia de Investigación en Biología de la Reproducción A.C. U.N.A.M. México D.F. p.67.
- Hansen P.J. 1992b. The relationship between energy status and the resumption of estrus cycles in cattle. IV Curso Internacional de Reproducción Bovina. Academia de Investigación en Biología de la Reproducción A.C. U.N.A.M. México D.F. p. 57.
- Hinshelwood M.M., Diershke D.J. and Hawer E.R. 1986. Effect of suckling on the hypothalamic-pituitary axis in postpartum beef cows, independent of ovarian secretion. *Biol. Reprod.* 32: 290.

- Humphrey W.D., Kaltenback C.C., Dunn T.G., Koritnik D.R. and Niswender G.D. 1983. Characterization of hormonal patterns in the beef cow during postpartum anestrus. *J. Anim. Sci.* 56:445.
- Ireland J.J. and Roche, J.F. 1982. Development of antral follicles in cattle after prostaglandin-induced luteolysis: Changes in serum hormones, steroids in follicular fluid, and gonadotropins receptors. *Endocrinol.* 111: 2077.
- Ireland J.J. and Roche, J.F. 1983. Growth and differentiation of large antral follicles after spontaneous luteolysis in heifers: Changes in concentration of hormone in follicular fluid and specific binding of gonadotropins to follicles. *J. Anim. Sci.* 57:157.
- Jacobson W. and Kalra S.P. 1989. Decreases in medio-basal hypothalamic and preoptic area opioid ( $[^3]$  naloxone) binding are associated with the progesterone-induced luteinizing hormone surge. *Endocrinol.* 124: 199.
- Kalra S. P. and Kalra, P.S. 1983. Neural regulation of luteinizing hormone secretion in the rat. *Endocrinol. Rev.* 4: 311.
- Kalra P.S., Crowley W.R. and Kalra S.P. 1987. Differential in vitro stimulation by naloxone and K of luteinizing hormone releasing hormone and catecholamines release from the hypothalamus of intact and castrated rats. *Endocrinol.* 120: 178.
- Karsch F.J., Cummins J.T., Thomas G.B. and Clarke I.J. 1987. Steroid feedback inhibition of pulsatile secretion of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. *Biol. Reprod.* 36: 1207.
- Kesner J.S., Kaufman J.M., Wilson R.C., Kuroda G. and Knovil E. 1986. The effect of morphine on the electrophysiological activity of the hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone pulse generator in the rhesus monkey. *Neuroendocrinol.* 43: 686.
- Kotwica J. and Williams G.L. 1982. Relationship of plasma testosterone concentration to pituitary-ovarian hormone secretion during the bovine estrous cycle and the effects of testosterone propionate administered during luteal regression. *Biol. Reprod.* 27: 790.
- Leakatos T., Moss G.E., Diekman M.A. and Hudgens R.E. 1986. Effects of estradiol-17 $\beta$  and endogenous opioids on LH secretion in fall lambing ewes. *J. Anim. Sci.* 63 (suppl. 1): 339.

- Leshin L.S., Rund L.A., Kraeling R.R. and Kiser T.E. 1991. The bovine preoptic area and median eminence: Sites of opioid inhibition of luteinizing hormone-releasing hormone secretion. *J. Anim. Sci.* 69: 3733.
- Levin J.E., Pau, K.F., Ramirez, B.D. and Jackson, J.L. 1982. Simultaneous measurement of luteinizing hormone-releasing hormone and luteinizing hormone release in anesthetized, ovariectomized sheep. *Endocrinol.* 111: 1449.
- Little D.E., Rahe, C.H., Fleeger, J.L. and Harms, P.G. 1982. Episodic release of LH during gestation in the cow. *J. Reprod. Fertil.* 66:687.
- Mahmoud A.I., Thompson F.N., Peck D.D., Mizinga K.M., Leshin L.S., Rund L.A., Stuedemann J.A. and Kiser T.E. 1989. Difference in luteinizing hormone response to an opioid antagonist in beef heifers and cows. *Biol. Reprod.* 41: 431.
- Malven P.V., Bossut D.R.B. and Diekman M.A. 1984. Effects of naloxone and electroacupuncture treatment on plasma concentration of LH in sheep. *J. Endocrinol.* 107: 341.
- Malven, P.V., Parfet J.R., Greg D.W., Allrich R.D. and Moss G.E. 1986. Relationships among concentrations of four opioid neuropeptides and luteinizing hormone releasing hormone in neural tissue of beef cows following early weaning. *J. Anim.Sci.* 62: 723.
- Malven P.V. 1986. Inhibition of pituitary LH release resulting from endogenous opioid peptides. *Dom. Anim. Endocrinol.* 3: 135.
- Malven P.V. and Hundgens R.E. 1987. Naloxone-reversible inhibition of luteinizing hormone in postpartum ewes: Effects of suckling and season. *J. Anim. Sci.* 65: 196.
- Malven P.V. (Project Leader), Allrich R.D., Hudgens R.D., Trout W.E., Weesner G.D., Haglof S.A., Roberson T.L., Knutson R.J., Berghorn R.J. and Seevers D.B. 1987. Methods for improvement of fertility in cows postpartum. Annual report of research project NC-113. Purdue University Agricultural Experiment Station. October 1, 1986 to September 30, 1987.
- Malven P.V. (Project Leader), Allrich R.D., Trout W.E., Weesner G.d., Berhorn R.J., Knutson R.J., Stanisiewski E.P., Haglof S.A. and Seevers D.B. 1988. Methods for improvement of

fertility in cows postpartum. Annual report of regional research project NC-113. Purdue University Agricultural Experiment Station. October 1, 1987 to September 30, 1988.

- Masotto C., Sahu A., Dube M.G. and Kalra S.P. 1990. A decrease in opioid tone amplifies the luteinizing hormone surge in estrogen-treated ovariectomized rats: comparison with progesterone effects. *Endocrinol.* 124: 199.
- Mattioli M., Conte F., Galeati N. and Seren E. 1986. Effect of naloxone on plasma concentration of prolactin and LH in lactating sows. *J. Reprod. Fertil.* 76: 167.
- McIntush E.W., Forest, D.W. and Cartens G.E. 1991. Bioactive LH release in response to bovine somatotropine (somatotribove) administration and nutritional manipulation in heifers. *J. Anim. Sci.* 69 (suppl. 1): 420.
- McNeilly A. S. 1988. Suckling and the control of gonadotropin secretion in: *The Physiology of Reproduction*. E. Knobil and J. Neill et. al. (Editors). Raven Press. Ltd., New York. Chapter 59. pp. 2323-2349.
- Menéndez T., M. 1992. Estrategias de manejo reproductivo para enfrentar las necesidades de comercialización de carne de bovino en México. *Simposium Ganadería Tropical. Producción de becerros para engorda. Memoria 10 años de investigación pecuaria CIPEPAC.* 43.
- Moenter S.M., Brand R.M., Midgley A.R. and Karsh F.K. 1992. Dynamics of gonadotropin-releasing hormone release during a pulse. *Endocrinol.* 130: 503.
- Moss G.E., Adams T.E., Niswender G.D. and Nett T.M. 1980. Effect of parturition and suckling on concentration of pituitary gonadotropins, hypothalamic GnRH and pituitary responsiveness to GnRH in ewes. *J. Anim. Sci.* 50: 496.
- Moss G.E., Parfet J.R., Marvin C.A. Allrich R.D. and Dickman R.A. 1985. Pituitary concentration of gonadotropins and receptors for GnRH in suckled beef cows at various intervals after calving. *J. Anim. Sci.* 60: 85.
- Myers T.R., Myers D.A., Gregg D.W. and Moss G.E. 1989. Endogenous opioid suppression on release of luteinizing hormone during the suckling and postpartum anestrus beef cows. *Dom. Anim. Endocrinol.* 6: 183.

- Nanda A.S., Ward W.R. and Dobson H. 1990. Naloxone antagonizes the morphine suppression of the oestradiol induced surge of luteinizing hormone in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 22: 289.
- Nett T.M., Cermak D., Braden T., Manns J. and Niswender G. 1988. Pituitary receptors for GnRH and estradiol and pituitary content of gonadotropins in beef cows. II. Changes during the postpartum period. *Dom Anim. Endocrinol.* 5: 81.
- North R.A. 1979. Opiates: opioid peptides and single neurons. *Life Sci.* 24: 1527.
- Parvizi N., Elsaesser F., Smidt D. and Ellendorf T. 1976. Plasma luteinizing hormone and progesterone in the adult female pig during the oestrus cycle, late pregnancy and lactation and after ovariectomy and pentobarbital treatment. *J. Endocrinol.* 69: 193.
- Petraglia F. Baraldi M., Giarre G., Faccinetti F., Santi M., Volpe A. and Genazzani A.R. 1985. Opioid peptides of the pituitary and hypothalamus: changes in pregnant and lactating rats. *J. Endocrinol.* 105: 239.
- Pfeiffer D.G., Pfeiffer A., Almeida O.F.X. and Herz A. 1987. Opiate suppression of LH secretion involves central receptors different from those mediating opiate effects on prolactin secretion. *J. Endocrinol.* 114: 469.
- Peters, A.R., Lamming, G.E. and Fisher, M.W. 1981. A comparison of plasma LH concentration in milking and suckling postpartum cows. *J. Reprod. Fertil.* 62:567.
- Peters A.R. 1985. Hormonal control of the bovine oestrus cycle. I. The neural cycle. *British Vet. J.* 141: 564.
- Quickley M.E. and Yen S.S.C. 1980. Role of endogenous opiates on LH secretion during menstrual cycle. *J. Clinical Endocrinol. Metab.* 51: 179.
- Rahe, C. H., Owens, R.E., Fleege, J.E. Newton, H.J. and Arms P.G. 1980. Patterns of plasma luteinizing hormone in the cyclic cows: dependence upon to period of the cycle. *Endocrinol.* 107:498.
- Rebolledo A., M, Sánchez R., S., Castillo R., H., Vásquez P., C. y Román P., H. 1990. Comportamiento reproductivo en cuatro grupos genéticos bovinos de doble propósito en sistema de pastoreo rotacional en clima tropical. *Mem. Reun. Invest. Péc. Méx.* p. 477.

- Richards, M.W., Wettemann, R.P. and Schoenemann, H.M. 1989a. Nutritional anestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarian activity. *J. Anim. Sci.* 67: 1520.
- Richards, M.W., Wettemann, R.P. and Schoenemann, H.M. 1989b. Nutritional anestrus in beef cows: concentration of glucose and nonesterified fatty acids in plasma and insulin in serum. *J. Anim. Sci.* 67: 2354.
- Riskind P.N., Millard W.J. and Martin J.D. 1984. Opiated modulation of the anterior pituitary hormone response during suckling in the rat. *Endocrinol.* 114: 1232.
- Rueda M., B.L. y González D., J.J. 1990. Análisis productivo y económico de la aplicación de un paquete tecnológico con ganado de doble propósito en clima tropical húmedo. *Mem. Reun. Invest. Péc. Méx.* p. 546.
- Rund L.A., Leshin L.S., Thompson F.N. and Kiser T.E. 1988. Effect on suckling and long term ovariectomy on hypothalamo-hypophyseal responsiveness to an opioid agonist and antagonist. *J. Anim. Sci.* 66 (suppl. 1): 409.
- Rund L.A., Leshin L.S., Thompson F.N., Rampacek G.B. and Kiser T.E. 1989. Influence of the ovary and suckling on luteinizing hormone response to naloxone in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 67: 1527.
- Rund L.A., Thompson F.N., Byerley D.J. and Kiser T.E. 1990. Failure of naloxone to stimulate luteinizing hormone secretion during pregnancy and steroid treatment of ovariectomized beef cows. *Biol. Reprod.* 42: 619.
- Sarkar, D.K. and Fink, G. 1979. Effect of gonadal steroids on output of luteinizing hormone releasing factor into pituitary stalk blood of the female rat. *J. Endocrinol.* 80: 303.
- Schallenberger E., Schondorfer A.M. and Walters D.L. 1985. Gonadotrophins and ovarian steroids in cattle. I. Pulsatile changes of concentrations in the jugular vein throughout the oestrus cycle. *Acta endocrinol.* 108: 312.
- Schams D., Schallenberger E., Menzer C.H., Staugl J., Zottmeier K., Hoffman B. and Karg H. 1978. Profiles of LH, FSH and progesterone in postpartum dairy cows and the relationship to commencement to cyclic function. *Theriogenology* 10: 453.

- Short R.E., Peters A.R., Easdon M.P. and Lamming G.E. 1986. The effect on an opiate antagonist on LH secretion in beef cows. Papers presented at the annual conference of The Society for Study of Fertility.
- Short R.E., Brooks A.N., Peters A.R. and Lamming G.E. 1987. Opioid modulation of LH secretion during the oestrus cycle of heifers. *Reprod. Fertil.* 80: 213.
- Short R.E. and Adams D.C. 1988. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. *Can. J. Sci.* 68: 29.
- Short R.E., Bellows R.A., Staigmiller R.E., Berardinelli J.G. and Custer, E.E. 1990. Physiological mechanisms controlling anestrus and fertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.* 68: 799.
- Sirinathsingji, D.J.S. and Martini L. 1984. Effects of bromocriptine and naloxone on plasma levels of prolactin, LH and FSH during suckling in the female rat: Responses to gonadotrophin releasing hormone. *J. Endocrinol.* 100:175.
- Smith M.S., Fox S.R. and Chatterton R.T. 1990. Role of proestrus secretion in suppressing basal pulsatile secretion during estrus of the oestrus cycle. *Neuroendocrinol.* 50: 308.
- Snyder S.H. 1984. Drugs and neurotransmitters receptors in the brain. *Science* 224: 22.
- Spicer L.J., Convey E.M., Tucker H. A. and Echterkamp S.E. 1984. Effect on LHRH on gonadotrophin secretion, steroid concentration in follicular fluid and gonadotrophin binding in large antral follicles of anestrus beef cattle. *J. Anim. Sci.* 59 (suppl. 1): 365.
- Spicer L.J. and Echterkamp S.E. 1986. Ovarian follicular growth, function and turnover in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 62: 428.
- Staigmiller, R.B., England, B.G. Weeb, R., Short, R.E. and Bellows, R.A. 1982. Estrogen secretion and gonadotropins binding by individual bovine follicles during estrus. *J. Anim. Sci.* 55:1473.
- Stahring R.C., Randel R.D. and Neuendorff D.A. 1990. Effects of naloxone and animal temperament on serum luteinizing hormone and cortisol concentrations in seasonally anestrus brahman heifers. *Theriogenol.* 34: 393.

- Trout W.E. and Malven P.V. 1988. Quantification of naloxone binding sites in brain from suckled beef cows during the postpartum anestrous and resumption of estrous cycles. *J. Anim. Sci.* 66: 561.
- Van Vugt D.A., Sylvester P.W., Aylsworth C.A. and Meites J. 1982. Counteraction of gonadal steroid inhibition of luteinizing hormone release by naloxone. *Neuroendocrinol.* 34: 274.
- Van Vugt D.A., Bakst G., Dyrenfurth I., Ferin M. 1983. Naloxone stimulation of LH secretion in the female monkey: influence of endocrine and experimental conditions. *Endocrinol.* 113: 1858.
- Viker S.D., Mc Guire W.J., Wright J.M., Beeman K.B. and Kiracofe G.H. 1989. Cow-calf association delays postpartum ovulation in mastectomized cows. *Theriogenol.* 32: 467.
- Viker S.D. and Kiracofe G.H. 1990. The effect of naloxone in mastectomized cows with calf-induced postpartum anestrus. *J. Anim. Sci.* 68 (suppl. 1): 468.
- Viker S.D. and Kiracofe G.H. 1991. Calf olfactory, visual and auditory cues do not block ovulation in the postpartum mastectomized cows. *J. Anim. Sci.* 69 (suppl. 1): 132.
- Villafuerte S.D. 1990. En: *Diagnóstico Integral de la Ganadería Bovina en el Trópico Mexicano.* CONACyT Y PAIEPEME (ed.). p. 143.
- Villa-Godoy A., Hughes T.L., Emery R.S., Enright W.J., Ealy A.D., Zinn S.A. and Fogwell R.L. 1990. Energy balance and body condition influence luteal function in Holstein heifers. *Dom. Anim. Endocrinol.* 7:148.
- Walters D.L., Kaltenbach C.C., Dunn T.G. and Short R.E. 1982a. Pituitary and ovarian function in postpartum beef cows. I. Effect of suckling on serum and follicular fluid hormones and follicular gonadotrophins receptors. *Biol. Reprod.* 26: 640.
- Walters D.L., Short R.E., Convey E.M., Staigmiller R.B., Dunn T.G. and Kaltenbach C.C. 1982b. Pituitary and ovarian function in postpartum beef cows. II. Endocrine change prior to ovulation in suckled and nonsuckled postpartum cows compared to cycling cows. *Biol. Reprod.* 26: 647.
- Wardlaw D.L., Wehrenberg W.B., Ferin M., Antunes J.L. and Frantz A.G. 1982. Effect of sex-steroids on  $\beta$ -endorphin in hypophyseal portal blood. *J. clinical Endocrinol. Metab.* 55: 887.



- Wardlaw D.L., Wany P.J. and Frantz A.G. 1985. Regulation of  $\beta$ -endorphin and ACTH in brain by estradiol. *Life Sci.* 37: 1941.
- Weesner G.D., Trout W.E. and Malven P.V. 1989. Specific binding of naloxone to ovine brain tissue: comparison of brain regions and endocrine states. *J. Anim. Sci.* 67: 1532.
- Weiland N.G. and Wise P.H. 1990. Estrogen and progesterone regulate opiate receptor densities in multiple brain regions. *Endocrinol.* 126: 804.
- Wettemann R.P., Turman E.J., Wyatt R.D. and Totusek R. 1978. Influence of suckling intensity on reproductive performance of range cows. *J. Anim. Sci.* 47: 347.
- Wettemann R.P. 1980. Postpartum endocrine function of cattle, sheep and swine. *J. Anim. Sci.* 51 (suppl. 2): 2.
- Whisnant C.S., Kiser T.E., Thompson F.N. and Barb C.R. 1986a. Influence of calf removal on the serum luteinizing hormone response to naloxone in the postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 63: 561.
- Whisnant C.S., Kiser T.E., Thompson F.N. and Barb C.R. 1986b. Naloxone infusion increases pulsatile luteinizing hormone release in postpartum beef cows. *Dom. Anim. endocrinol.* 3: 49.
- Whisnant C.S., Kiser T.E., Thompson F.N. and Barb C.R. 1986c. Opioid inhibition on luteinizing hormone secretion during the postpartum period in suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 63: 1445.
- Whisnant C.S., Thompson F.N., Kiser T.E. And Barb C.R. 1986d. Effect of the naloxone on serum luteinizing hormone, cortisol and prolactin concentration in anestrus beef cows. *J. Anim. Sci.* 62: 1340.
- Whisnant C.S. 1988. Endogenous opioids: A 1988 perspective. *J. Anim. Sci.* 66: 72.
- Whisnant C.S. and Goodman R.L. 1988. Effects of opioid antagonist on pulsatile luteinizing hormone secretion in the ewe varying with changes in steroid negative feedback. *Biol. Reprod.* 39: 1032.
- Whisnant S.C. and Harvern L.R. 1990. Endogenous opioid suppresser LH pulse amplitude in the medial-basal hypothalamus during the follicular phase in ewes. *Society for The Study of*

- Reproduction. Biol. Reprod. 42 (1): 15-18. 23 rd. Annual meeting The University of Tennessee, Knoxville. p. 68.
- Williams G.E., Kotwica J., Slager W.D., Olson D.K., Tilton J.E. and Johanson L.J. 1982. Effect of suckling on pituitary responsiveness to gonadotropin-releasing hormone throughout the early postpartum period of beef cows. J. Anim. Sci. 54: 594.
- Williams G.L., Kirsch J.D., Post G.R., Tilton J.E. and Slanger. 1984. Evidence against chronic teat stimulation as an autonomous effector of diminished gonadotropin release in beef cow. J. Anim. Sci. 59: 1060.
- Williams G.L., Kirsch J.D., Post G.R., Tilton J.E. and Slanger. 1987. Postweaning rise of tonic luteinizing hormone secretion in anestrus cows is not prevented by chronic milking or the physical presence of the calf. Biol. Reprod. 36: 1079.
- Williams G.L. 1990. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A review. J. Anim. Sci. 68: 831.
- Wise M.E., Nilson J.H., Nejedlik M.T. and Nett T.M. 1985. Measurement of messenger RNA for Luteinizing hormone  $\beta$ -subunit and  $\alpha$ -subunit during gestation and the postpartum period in ewes. Biol. Reprod. 33: 1009.
- Wu T.J., Morris D.L., McArthur N.H. and Harms P.G. 1991. A priming effect of naloxone on in vitro LHRH release from the hypothalamus of mid-luteal ewes. Biol. Reprod. 44: 546.

ANEXOS

**CUADRO 9. CUADRADOS MEDIOS DE CAMBIOS DE PESO, CONDICIÓN CORPORAL Y PROMEDIO DE PRODUCCIÓN DE LECHE HASTA LOS 30 DÍAS POSPARTO EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO TRATADAS CON NALOXONA.**

FUENTE DE VARIACIÓN	gl*	CM
<b>CAMBIO DE PESO A 14 DÍAS POSPARTO</b>		
TRATAMIENTO	2	115.16
ERROR	15	75.71
TOTAL	17	
R <sup>2</sup> (%)		16.8
CV		118.6
<b>CAMBIO DE PESO A 28 DÍAS POSPARTO</b>		
TRATAMIENTO	2	220.5
ERROR	15	62.73
TOTAL	17	
R <sup>2</sup> (%)		31.9
CV		475.2
<b>CAMBIO DE CONDICIÓN CORPORAL A 14 DÍAS POSPARTO</b>		
TRATAMIENTO	2	0.263
ERROR	15	0.424
TOTAL	17	
R <sup>2</sup> (%)		16.3
CV		80.5
<b>CAMBIO DE CONDICIÓN CORPORAL A 28 DÍAS POSPARTO</b>		
TRATAMIENTO	2	0.055
ERROR	15	0.052
TOTAL	17	
R <sup>2</sup>		12.3
CV		165.4
<b>PRODUCCIÓN DIARIA DE LECHE A 30 DÍAS POSPARTO</b>		
TRATAMIENTO	2	1.431
ERROR	15	4.677
TOTAL	17	
R <sup>2</sup>		3.9
CV		24.2

\*: gl, grados de libertad; CM, cuadrados medios; R<sup>2</sup>, coeficiente de determinación; CV, coeficiente de variación. No se detectaron efectos (P>.05)

**CUADRO 10. MEDIAS DE CUADRADOS MÍNIMOS Y ERRORES ESTÁNDAR PARA CAMBIOS DE PESO, CONDICIÓN CORPORAL Y PRODUCCIÓN DE LECHE HASTA LOS 30 DÍAS POSPARTO DE VACAS DE DOBLE PROPÓSITO TRATADAS CON NALOXONA.**

CARACTERÍSTICA <sup>1</sup>	TRATAMIENTO*		
	1NX	3NX	0NX
OBSERVACIONES	6	6	6
CAMBIO DE PESO DEL PARTO A LOS 14 DÍAS POSPARTO (KG)	-12.3 ± 3.5	-5.5 ± 3.5	-4.1 ± 3.5
CAMBIO DE PESO DE LOS 14 A LOS 28 DÍAS POSPARTO (KG)	0.0 ± 3.2	3.8 ± 3.2	-8.1 ± 3.2
CAMBIO DE CONDICIÓN CORPORAL DEL PARTO A LOS 14 DÍAS POSPARTO	-0.7 ± 0.1	-0.3 ± 0.1	-0.5 ± 0.1
CAMBIO DE CONDICIÓN CORPORAL DE LOS 14 A 28 DÍAS POSPARTO	-0.2 ± 0.0	0.0 ± 0.1	0.0 ± 0.1
PRODUCCIÓN DIARIA DE LECHE A 30 DÍAS POSPARTO (kg)	8.7 ± 0.8	8.5 ± 0.8	9.4 ± 0.8

<sup>1</sup> los cambios de peso y condición corporal se refieren a la diferencia entre los registros tomados al parto y el día 14 posparto y la diferencia entre los días 14 y 28 posparto. \* 1NX, una inyección; 3NX, tres inyecciones; 0NX, cero inyecciones de naloxona, respectivamente. No se detectaron diferencias (P>.05).

**CUADRO 11. CUADRADOS MEDIOS DE CAMBIOS DE PESO, CONDICIÓN CORPORAL Y PROMEDIO DE PRODUCCIÓN DE LECHE DE LOS 30 A LOS 56 DÍAS POSPARTO DE VACAS DE DOBLE PROPÓSITO TRATADAS CON NALOXONA.**

<b>FUENTE DE VARIACION</b>	<b>gl*</b>	<b>CM</b>
<b>CAMBIO DE PESO DE 30 A 56 DÍAS POSPARTO</b>		
TRATAMIENTO	2	177.3
ERROR	15	117.8
TOTAL	17	
R <sup>2</sup> (%)		16.7
CV		83.7
<b>CAMBIO DE CONDICIÓN CORPORAL DE 30 A 56 DÍAS POSPARTO</b>		
TRATAMIENTO	2	0.013
ERROR	15	0.013
TOTAL	17	
R <sup>2</sup> (%)		11.7
CV		424.2
<b>PRODUCCIÓN DIARIA DE LECHE DE 30 A 56 DÍAS POSPARTO</b>		
TRATAMIENTO	2	11.2
ERROR	15	7.8
TOTAL	17	
R <sup>2</sup> (%)		15.9
CV		28.1

\*: gl, grados de libertad; CM, cuadrados medios; R<sup>2</sup>, coeficiente de determinación; CV, coeficiente de variación. No se detectaron efectos (P>.05).

**CUADRO 12. MEDIAS DE CUADRADOS MÍNIMOS Y ERRORES ESTÁNDAR PARA CAMBIOS DE PESO, CONDICIÓN CORPORAL Y PROMEDIO DE PRODUCCIÓN DE LECHE DE LOS 30 A LOS 56 DÍAS POSPARTO EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO TRATADAS CON NALOXONA.**

CARACTERÍSTICA	TRATAMIENTO*		
	1NX	3NX	0NX
OBSERVACIONES	6	6	6
CAMBIO DE PESO DE 30 A 56 DÍAS POSPARTO (kg)	16.0 ± 4.4	16.1 ± 4.4	6.6 ± 4.4
CAMBIO DE CONDICIÓN CORPORAL DE 30 A 56 DÍAS POSPARTO (kg)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0
PRODUCCIÓN DIARIA DE LECHE DE 30 A 56 DÍAS POSPARTO (kg)	9.4 ± 1.1	8.9 ± 1.1	11.5 ± 1.1

\* 1NX, una inyección; 3NX, tres inyecciones; 0NX, cero inyecciones de naloxona, respectivamente; no hubo diferencias ( $P > .05$ ) estadísticas.

**CUADRO 13. CUADRADOS MEDIOS DE CAMBIO DE PESO DE LOS 56 DIAS POSPARTO AL DIA DEL ESTRO Y PROMEDIO DE PRODUCCION DE LECHE DEL PARTO AL DIA DEL ESTRO EN VACAS DE DOBLE PROPOSITO TRATADAS CON NALOXONA.**

<b>FUENTE DE VARIACIÓN</b>	<b>gl*</b>	<b>CM</b>
<b>CAMBIO DE PESO DEL DIA 56 POSPARTO AL DIA DEL ESTRO</b>		
TRATAMIENTO	2	84.5
ERROR	15	109.4
TOTAL	17	
R <sup>2</sup> (%)		0.9
CV		67.4
<b>PRODUCCIÓN DIARIA DE LECHE DEL PARTO AL DIA DEL ESTRO</b>		
TRATAMIENTO	2	3.5
ERROR	15	4.3
TOTAL	17	
R <sup>2</sup> (%)		9.7
CV		22.0

gl, grados de libertad; CM, cuadrados medios; R<sup>2</sup>, coeficiente de determinación; CV, coeficiente de variación; no se detectaron efectos (P>.05).

**CUADRO 14. MEDIAS DE CUADRADOS MÍNIMOS Y ERRORES ESTÁNDAR PARA CAMBIOS DE PESO DEL DÍA 56 POSPARTO AL DÍA DEL ESTRO Y PROMEDIO DE PRODUCCIÓN DE LECHE DEL PARTO AL DÍA DEL ESTRO EN VACAS DE DOBLE PROPÓSITO TRATADAS CON NALOXONA.**

CARACTERÍSTICA	TRATAMIENTO*		
	1NX	3NX	0NX
OBSERVACIONES	6	6	6
CAMBIO DE PESO DEL DIA 56 POSPARTO AL DIA DEL ESTRO (kg)	11.5 ± 11.8	7.8 ± 11.8	5.0 ± 11.8
PRODUCCIÓN DIARIA DE LECHE DEL PARTO AL DÍA DEL ESTRO (kg)	9.4 ± 0.8	8.6 ± 0.8	10.2 ± 1.1

\* 1NX, una inyección; 3NX, tres inyecciones; 0NX, cero inyecciones de naloxona, respectivamente; no se detectaron diferencias ( $P > .05$ ).