

01674



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION Y DE LA
SALUD ANIMAL

EFECTO DE UN TRATAMIENTO DE SOMATOTROPINA BOVINA AL
MOMENTO DE LA INSEMINACION EN LA FERTILIDAD DE VACAS
HOLSTEIN DE PRIMER SERVICIO SINCRONIZADAS CON
PROSTAGLANDINA F_{2a}

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
P R E S E N T A :
RAMIRO FERNANDO DIAZ BOLAÑOS

COMITE TUTORAL : JOEL HERNANDEZ CERON
ALEJANDRO VILLA GODOY
TERESA SANCHEZ TORRES

MEXICO, D.F.

2004



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.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

DECLARACIÓN

El autor da consentimiento a la división de Estudios de Postgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que esta tesis este disponible para cualquier tipo de intercambio bibliotecario

MVZ Ramiro Fernando Díaz Bolaños

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Ramiro Díaz

FECHA: 5/04/2009

FIRMA: [Firma manuscrita]

DEDICATORIAS

A mis padres, que a la distancia sentí su cariño y apoyo como si estuvieran a mi lado.

A mis hermanos, porque en los momentos de gran depresión hicieron lo imposible por alegrarme.

A Luz, compañera inseparable, por todo el cariño y paciencia.

Al resto de mi familia, por ser tan unidos y ser parte de ellos.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por todo.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme acogido como un alumno más.

A mi tutor Dr. Joel Hernández C. por su paciencia.

Al MVZ. EPA. Carlos García Ortiz, por compartir conmigo muchos momentos en Tizayuca.

Al MVZ Marco Antonio Oropeza, por su apoyo en la realización práctica en esta tesis.

Al Dr. Hugo Montaldo V. por su invaluable apoyo en la realización de los análisis estadísticos en esta tesis.

A Luz Ma. por tener fé.

A todos y cada uno de los integrantes del departamento de reproducción animal de la FMVZ-UNAM. por ser como son.

*“La Ciencia hay que escribirla de
manera sencilla, la elegancia
déjensela a los sastres”*
Albert Einstein

LISTA DE CONTENIDO

RESUMEN	VII
ABSTRACT	VIII
I. INTRODUCCIÓN.	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.	6
2.1. Fisiología del período posparto.	6
2.1.1. Involución uterina.	6
2.1.2. Reinicio de la actividad ovárica .	7
2.2. Luteólisis.	9
2.2.1. Biosíntesis de la $PGF_{2\alpha}$.	9
2.2.2. Control de la secreción de la $PGF_{2\alpha}$.	10
2.2.3. Mecanismo de acción de $PGF_{2\alpha}$.	12
2.3. Utilización de la $PGF_{2\alpha}$ en el manejo reproductivo de los bovinos durante el período posparto.	14
2.3.1. Sincronización del estro con $PGF_{2\alpha}$.	15
2.3.2. Sincronización de la ovulación.	16
2.3.2.1 Presincronización	18
2.4. Secreción y regulación de Hormona del crecimiento (GH).	19
2.5. La hormona de crecimiento en la regulación de la reproducción.	21
2.5.1. Desarrollo folicular.	21
2.5.2. Función del cuerpo lúteo.	22
2.5.3. Desarrollo embrionario.	24

2.6. Hipótesis	25
2.7. Objetivos.	25
III. MATERIALES Y METODOS.	26
IV. RESULTADOS.	29
V. DISCUSIÓN.	32
VI. LITERATURA CITADA.	37

Resumen

DÍAZ BOLAÑOS RAMIRO FERNANDO. **Efecto del tratamiento con somatotropina bovina al momento de la inseminación en la fertilidad de vacas holstein de primer servicio sincronizadas con PGF_{2α}.** (bajo la dirección del Dr. Joel Hernández Cerón.)

En experimentos previos se ha observado que la administración de somatotropina bovina (bST) el día del estro mejora la fertilidad en vacas repetidoras, pero no en vacas de primer servicio. Sin embargo, cuando la bST se administró en vacas de primer servicio después de un protocolo de presincronización e inseminación a tiempo fijo, sí mejoró la fertilidad. El presente estudio se realizó para probar la hipótesis que la inyección de bST al momento de la inseminación mejoraría el porcentaje de concepción (PC) en vacas de primer servicio sincronizadas con inyecciones múltiples de prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) cada 14 días a partir del día 30 posparto. Para tal fin, se utilizaron 435 vacas, las cuales fueron agrupadas de la siguiente forma: Grupo I (n=125), sincronizado con al menos 3 inyecciones de PGF_{2α} cada 14 días a partir del día 30 posparto. Las vacas se inseminaron en el estro sincronizado después del día 60 posparto, y en ese momento recibieron 500 mg de bST sc; Grupo II (n=91), igual que el grupo I, pero no recibieron bST. Grupo III (n=60), estas vacas no fueron sincronizadas con PGF_{2α} y se inseminaron en el estro detectado después del día 60, en ese momento recibieron 500 mg de bST sc; Grupo IV (n=159), igual que el grupo III, pero no recibieron bST. El diagnóstico de gestación se realizó por palpación rectal a los 45 días de inseminación. El porcentaje de concepción entre grupos se comparó mediante una prueba de Ji-cuadrada. El efecto del hato, época del año y número de parto en el porcentaje de concepción se evaluó a través de una prueba de regresión logística para variables binarias. El PC no fue afectado por el hato, la época del año ni el número de partos (P>0.05). El PC fue similar (P>0.05) entre grupos [I (34.4%), II (41.7%), III (40%), IV (30.8%)]. Se concluye que una dosis de 500 mg. de bST al momento de la inseminación, no mejora los niveles de concepción en vacas Holstein de primer servicio sincronizadas con PGF_{2α}.

Palabras clave: Somatotropina bovina, PGF_{2α}, sincronización, primer servicio.

Abstract

DIAZ BOLAÑOS RAMIRO FERNANDO. **Effect of bST treatment at the time of artificial insemination on fertility of first service holstein cows synchronized with PGF_{2α}** (under direction of Dr. Joel Hernández Cerón.).

Previous studies have demonstrated that a 500 mg of bovine somatotropin (bST) injection at the time of artificial insemination (AI) improves fertility in repeat-breeding cows, but not first service. Nevertheless, when bST is administered at timed insemination after a presynchronization protocol fertility was improved in the first insemination postpartum. The present study test the hypothesis that the injection of bST at the time of the AI would improve the conception rate (CR) in first service Holstein cows synchronized with multiple injections PGF_{2α}. A total of 435 cows were used. Cows in Group I (n=125), were treated with 3 PGF_α injections 14 days apart beginning at day 30 postpartum. After day 60 postpartum cows were inseminated at the synchronized estrus and received 500 mg of bST sc; Group II (n=91), cows were treated as for Group I but did not receive bST. Group III (n=60), after day 60 postpartum cows received 500 mg of bST sc at the time of AI of a non-synchronized estrus. Group IV (n=159), after day 60 postpartum cows were inseminated at spontaneous estrus. Pregnancy diagnosis was performed 45 days after AI by rectal palpation. The CR was compared by chi-squared test. The effect of the farm, month of the year and number of calvings on the percentage of conception was evaluated through a logistic regression procedure for binary variables. The CR was not affected by the farm, the month of the year nor the number of calving (P>0.05). The CR was similar (P>0.05) among groups I (34.4%), II (41.7%), III (40%) and IV (30.8%)]. It is concluded that a 500 mg bST injection at the time of AI did not improve CR in first service Holstein cows synchronized with PGF_{2α}.

Key Words: Bovine somatotropin, PGF_{2α}, synchronization, first service.

I. INTRODUCCIÓN

La infertilidad es actualmente el problema reproductivo más importante en los hatos lecheros, y se considera que es el que más afecta la productividad de la empresa lechera. Además, la baja fertilidad es la principal causa de desecho en explotaciones intensivas (Granados *et al.*, 2001). En los últimos 40 años se ha observado una disminución significativa de la fertilidad que ha coincidido con un incremento en la producción de leche. En 1951 se lograba gestar el 65 % de animales inseminados; en 1996 solo un 40 % quedaban gestantes (Butler, 1998). Hace 30 años en México, el porcentaje de concepción era no menor al 50 %, sin embargo en la actualidad es difícil lograr una tasa de concepción del 35% (Fernández, 2003).

La baja fertilidad esta asociada directamente con una alta incidencia de mortalidad temprana del embrión. La mayoría de las pérdidas embrionarias ocurren antes del día 14 después de la Inseminación Artificial (IA; Dunne *et al.*, 2000). La etiología de la muerte embrionaria es de naturaleza diversa, pero puede resumirse en factores genéticos y ambientales (Ayalon *et al.*, 1978). Dentro de los factores genéticos están consideradas las anomalías cromosómicas, las cuales pueden producirse espontáneamente durante la gametogénesis, fertilización o embriogénesis (Wilmot *et al.*, 1986; Zavy, 1994). Se estima que las anomalías cromosómicas ocurren aproximadamente en 7.5% de los embriones (Wilmot *et al.*, 1986). Los factores ambientales son los responsables de la mayor parte de las muertes embrionarias tempranas. Aquí están considerados los factores de naturaleza hormonal, climática, infecciosa y nutricional, (Ayalon, 1978; Thatcher *et al.*, 1994; Zavy, 1994).

El cuerpo lúteo es la fuente principal de progesterona (P_4) al inicio de la gestación y su mantenimiento es primordial en la supervivencia del embrión. Durante las fases tempranas de la gestación, la progesterona estimula la producción de secreciones endometriales necesarias para el desarrollo embrionario (Geisert *et al.*, 1992). Sin embargo, el período crítico en la fase temprana de la gestación se encuentra en los días 15 a 17 después del estro (Binelli *et al.*, 2001). El embrión secreta interferón τ (IFN τ) lo que resulta en la inhibición de la secreción de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$). La inhabilidad del embrión para secretar el IFN τ está asociada con bajos niveles plasmáticos de progesterona (Mann *et al.*, 1999), lo cual ocasiona la liberación de $PGF_{2\alpha}$ y la subsiguiente luteólisis y muerte del embrión (Kerbler *et al.*, 1997).

Dentro de las estrategias para evitar la muerte embrionaria se encuentra la aplicación de hormona de crecimiento. Los efectos de la hormona de crecimiento (GH) sobre la función reproductiva de los bovinos pueden explicarse debido a que los folículos y el cuerpo lúteo son sitios potenciales para la acción de esta hormona. Los receptores de la GH se ubican en células de la granulosa (CG) y de la teca interna en folículos (Spicer y Echterkamp, 1995), en células del cúmulo y oocitos (Izadyar *et al.*, 1997) y en células lúteas (Lucy *et al.*, 1993; Lucy *et al.*, 1995; Kirby *et al.*, 1996). Así mismo, el efecto de la somatotropina bovina (bST) es mediado por el incremento en concentraciones circulantes de factores de crecimiento parecido a la insulina tipo I (IGF-I; Buratini *et al.*, 2000). El IGF-I regula la foliculogénesis (Echterkamp *et al.*, 1990) estimulando el crecimiento folicular (Ui *et al.*, 1989; Perks *et al.*, 1999). Igualmente, el CL posee receptores para IGF-I y se ha observado que esta hormona incrementa los niveles de progesterona (P_4) *in vitro* (Einspanier *et al.*,

1990; Sauerwein *et al.*, 1992; Lucy *et al.*, 1995). También se han observado receptores para IGF-I en el epitelio glandular y luminal del útero, en donde regula la actividad glandular y el desarrollo caruncular (Heap *et al.*, 1996; Robinson *et al.*, 2000). Adicionalmente, el embrión bovino es un sitio de acción para el IGF-I. Matsui *et al.*, (1997) observaron que el IGF-I estimula el desarrollo del embrión bovino en estado de mórula, 5 días después de la fertilización *in vitro*.

Los efectos de la bST en la fertilidad permanecen en controversia. Esto se debe a que el mayor uso que se le ha dado a esta hormona es para incrementar la producción de leche gracias a su efecto galactopoyético (Dahl *et al.*, 1993; Stanisiewski *et al.*, 1994). Los tratamientos crónicos con bST cada 14 días se han asociado con disminución de la eficiencia reproductiva (Burton *et al.*, 1990; Brozos *et al.*, 1999; Jimenez-Krassel *et al.*, 1999). Se ha observado que la bST afecta la manifestación del estro disminuyendo la eficiencia de su detección (Morbeck *et al.*, 1991; Kirby *et al.*, 1997).

Sin embargo, Morales-Roura *et al.* (2001) encontraron que un tratamiento corto con bST al momento del estro mejoró el índice de concepción en vacas repetidoras (29.3 ± 3.7 vs. 16.9 ± 3.4 para repetidoras y testigo respectivamente). Estos resultados fueron corroborados en otro estudio realizado por Mendoza (2000), en donde se encontró que el tratamiento con una sola inyección de bST al momento de la inseminación artificial (IA), incrementó la fertilidad en vacas repetidoras. A su vez, Morales (2000) comprobó el efecto benéfico de la bST en la fertilidad de las vacas repetidoras al aplicar 500 mg. de somatotropina al momento de la inseminación en vacas repetidoras superovuladas. En este estudio el porcentaje de embriones transferibles en las vacas tratadas con bST fue mayor que en las testigo (84.38 % vs 54.5 % para tratadas y testigo respectivamente). Sin embargo, no hubo

efecto en animales de primer servicio (88.9 % vs.100 %). En otro estudio, Moreira *et al.* (2002a) encontraron que un tratamiento con bST a vacas superovuladas también incrementó la proporción de embriones transferibles. Así mismo, la bST y el IGF-I incrementan la proporción de embriones en estado de blastocisto *in vitro* (Moreira *et al.*, 2002b).

Rodríguez (1999), realizó un esquema diferente a los anteriores y aplicó bST en el día 3 posinseminación en vacas de primer servicio y repetidoras. Este tratamiento no tuvo efecto sobre el porcentaje de concepción tanto en las vacas de primer servicio como en las repetidoras. En este caso, posiblemente el efecto de la bST ocurre demasiado tarde ya que los niveles plasmáticos de IGF-I son máximos 48 horas después del tratamiento. Es decir que, la actividad de la bST sobre el crecimiento y la diferenciación embrionaria no pudo haber alcanzado si no hasta el día 5 post-inseminación.

Por otro lado, Mendoza (2000) evaluó el efecto de un tratamiento de bST al momento de la inseminación sobre el porcentaje de concepción en vacas de primer servicio y no encontró diferencia entre los animales tratados y testigos (39 % vs. 35 % respectivamente). Por el contrario, Moreira *et al.* (2000a) encontraron un incremento en el índice de concepción al primer servicio (37.7 ± 5.8 % vs. 22.1 ± 4.2 % para tratadas y testigo respectivamente) usando bST en protocolos de IA a tiempo fijo. En un estudio similar, los mismos autores (2001) demostraron que el tratamiento con bST en un programa de presincronización con prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) previo a la sincronización de la ovulación (Ovsynch), mejoran el porcentaje de concepción al primer servicio; mientras que el mismo tratamiento no mejora la fertilidad en vacas no presincronizadas.

El efecto positivo de la sincronización del estro previo al tratamiento con bST, probablemente es a través del mejoramiento del estado saludable del aparato reproductor (Chavatte *et al.*, 1993; Pancarci *et al.*, 2002; Lopez-Gatius *et al.*, 2003) y/o mediante el incremento del número de ciclos estrales previos a la inseminación (Thatcher y Wilcox, 1973).

II Revisión de Literatura

2.1 Fisiología del período posparto

El Periodo posparto es uno de los factores más importantes dentro del desarrollo reproductivo de un hato productor de leche. Esto se debe a que un retraso en la involución uterina y una tardía recuperación del eje hipotálamo-hipófisis prolongan el intervalo parto-concepción y limitan la eficiencia reproductiva (Williams, 2002).

2.1.2 Involución uterina.

Después del parto y de la expulsión de las membranas fetales, el útero comienza el proceso de involución o regresión; el cual se caracteriza por una reducción en tamaño. El intervalo desde el parto a la completa involución del útero es alrededor de 18-22 días en vacas primíparas y 25 a 35 días en vacas múltiparas (Risco, 1997). Las contracciones del miometrio disminuyen el volumen y peso del útero hasta un 70% durante los primeros 4 a 10 días posparto (Morrow *et al.*, 1969, citado por Risco, 1997).

Se ha sugerido una relación entre la completa involución uterina y el retorno a la ciclicidad ovárica (Young y Anderson, 1986). El tiempo de duración de altas concentraciones de $PGF_{2\alpha}$ en el período posparto, está directamente relacionado con el rápido progreso en la involución uterina y con el regreso de la actividad ovárica. En ganado de carne, la $PGF_{2\alpha}$ es secretada por el endometrio en respuesta a la oxitocina liberada por el estímulo del amamantamiento (Del Vecchio *et al.*, 1990, Yavas y Walton, 2000a). La $PGF_{2\alpha}$ incrementa al máximo su concentración en la circulación periférica entre los días 1 y 4 posparto, y declina a niveles basales por el día 17 posparto (Risco *et al.*, 1997). En animales con

descargas uterinas o vacas con retención de placenta se presenta una correlación positiva entre la duración de la liberación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ y la involución uterina. Bosu y Peter (1987) encontraron que vacas con infecciones uterinas pueden provocar un incremento en la secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Por el contrario, en vacas con un periodo posparto sin complicaciones, se presenta una correlación negativa significativa entre el tiempo necesario para la completa involución uterina y la duración de elevados niveles de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Young *et al.*, 1984).

2.1.2 Reinicio de la actividad ovárica.

Después del parto, de 2 a 4 días antes de cada oleada folicular, hay una elevación de la hormona folículo estimulante (FSH; Crowe *et al.*, 1998). Este incremento en FSH es esencial para el inicio de la oleada folicular. Posteriormente, los folículos seguirán creciendo y las concentraciones de FSH circulantes empezarán a declinar hasta el tiempo de desviación folicular (Wiltbank *et al.*, 2002). En la vaca, el primer folículo dominante (FD) posparto, se presenta entre los días 14 y 28 posparto (Sheldon *et al.*, 2002). La presencia de este folículo en el ovario del mismo lado en que ocurrió la gestación, se asocia con un corto intervalo parto-concepción comparado con animales que no presentan un folículo en ese período (Sheldon *et al.*, 2000). El promedio del intervalo parto a la aparición del primer folículo dominante (FD; 1.5 a 2.0 cm) es de alrededor de 16 días, no obstante, la ovulación se detectó en el posparto temprano en un rango de 18.4 ± 1.7 días (Kesler *et al.*, 1979), 28.6 ± 1.54 días (Crowe *et al.*, 1998) y actualmente 43 ± 5 días (Lucy, 2001). Durante el período posparto, es común observar el crecimiento folicular hasta la desviación del FD (8mm), pero sin llegar al tamaño ovulatorio (Beam y Butler, 1997, Wiltbank *et al.*, 2002).

Durante el período posparto temprano, los patrones de secreción de LH son detectables en la primera y segunda semana posparto y la frecuencia de pulsos se desarrollan de 2 a 3 cada 6 horas (Savio *et al.*, 1990). La falla para ovular del FD, se debe a la disminución en la frecuencia de pulsos de la hormona luteinizante (LH; Roche *et al.*, 2000) durante los primeros 10 días, lo cual es un prerrequisito para la maduración folicular final antes de la ovulación (Duffy *et al.*, 2000). Esta reducción de pulsos, se debe principalmente al agotamiento de los almacenes de LH en la pituitaria, lo cual es consecuencia de las altas concentraciones de estrógenos y progesterona derivados de la placenta en el último período de gestación (Williams, 2002).

En la vaca, la primera ovulación que se presenta después del parto produce ciclos estrales de corta duración (Garverick *et al.*, 1992). Este puede ser resultado de un inadecuado desarrollo del folículo preovulatorio ya que las concentraciones de 17β estradiol y androstenediona en fluido folicular (FF) así como receptores para LH, FSH y P_4 son menores en folículos de vacas con ciclos estrales cortos que en vacas cíclicas normales (Braden *et al.*, 1989; Zollers *et al.*, 1993). Igualmente, se ha postulado que el ciclo corto se debe a una prematura liberación de $PGF_{2\alpha}$ desde el endometrio uterino (Copelin *et al.*, 1989; Yavas y Walton, 2000b). La liberación prematura de $PGF_{2\alpha}$ se explica por la baja producción de estradiol del folículo ovulatorio, interviniendo en las bajas concentraciones del receptor para P_4 en el endometrio (Zollers *et al.*, 1993). Esto permite que los receptores para 17β estradiol y el incremento de los receptores para oxitocina (OT) en el endometrio provoquen la liberación temprana de $PGF_{2\alpha}$ (Zollers *et al.*, 1989; Zollers *et al.*, 1993; Mann *et al.*, 2001).

2.2. Luteólisis.

La luteólisis se define como la destrucción estructural del cuerpo lúteo (CL). Durante la luteólisis normal, el CL pierde la capacidad de sintetizar y secretar progesterona (McGuire *et al.*, 1994), y sus células son destruidas como resultado de los diferentes efectos que ejerce las prostaglandina $F_{2\alpha}$ sobre ellas (Niswender *et al.*, 2000).

Las prostaglandinas son derivados de los ácidos grasos que se generan de manera endógena y que tienen profundos efectos fisiológicos tanto en el hombre como en los animales. Pertenecen a su vez, a un grupo de mediadores lípidos conocidos como eicosanoides (*eico*= veinte, *enoico*= dobles ligaduras o enlaces en su estructura) conjuntamente con los leucotrienos, tromboxanos, ácidos hidropoxieicosatetraenoicos (HPETE), y los ácidos hidroxieicosatetraenoicos (HETE; Goldyne, 1987; Funk, 2001).

2.2.1 Biosíntesis de la $PGF_{2\alpha}$.

La oxitocina estimula la secreción de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) en el útero del bovino (Burns *et al.*, 2000; Mann, 2001; Mann *et al.*, 2001). La unión de la oxitocina con su receptor activa a la fosfolipasa C; esta enzima divide al fosfatidilinositol en dos segundos mensajeros: inositol trifosfato y diacilglicerol (Burns *et al.*, 1998). Este último activa a la proteína cinasa C, que a su vez moviliza a la fosfolipasa A2 (Goldyne, 1987; Funk, 2001). Esta enzima cataliza la separación del ácido araquidónico de la posición 2 de los fosfolípidos que constituyen parte de la membrana celular (Goldyne, 1987; Burns *et al.*, 1997). De esta manera, inicia el primer paso para la formación de las prostaglandinas. El ácido araquidónico liberado, pasa al retículo endoplasmático, donde es metabolizado por la

enzima sintetasa de prostaglandina, también conocida como cicloxigenasa (Cox, Funk 2001). Esta enzima convierte al ácido araquidónico en dos endoperóxidos, la PGG₂ que es convertida en PGH₂ por una peroxidasa (Okuda *et al.*, 2002).

Existen dos isoformas de Cox (Cox-1 y Cox-2) que catalizan la conversión del ácido araquidónico a PGH₂ a través de un mecanismo similar. El Cox-1 se expresa en muchos tejidos y está implicado en la regulación homeostática de la presión arterial y de la función del epitelio gástrico. El Cox-2 actúa en varios tejidos y regula la producción de prostaglandinas en respuestas agudas como en una inflamación. Esta última es la principal isoforma de Cox que participa en la biosíntesis de PGF_{2α} (Díaz *et al.*, 2002).

Una vez que el ácido araquidónico es convertido a PGH₂, actúa una enzima de la familia de las endoperóxido isomerasas (sintetasa de la prostaglandina F) la cual transforma la PGH₂ en PGF_{2α} (Funk, 2001).

2.2.2 Control de la secreción de PGF_{2α}.

La liberación pulsátil de oxitocina por la neurohipófisis estimula la producción de PGF_{2α} en la superficie del epitelio del útero. La prostaglandina F_{2α}, a su vez, estimula la liberación de oxitocina adicional por el cuerpo lúteo (Kotwica *et al.*, 1999).

Burns *et al.* (2000) y Okuda *et al.* (2002), coinciden que el efecto de la oxitocina en la secreción de PGF_{2α} en vacas, puede estar asociado con su actividad sobre la proteína cinasa C, fosfolipasa A, cicloxigenasa, y sintetasa de la prostaglandina F. Esta actividad de la oxitocina se ha observado en la fase folicular, y fase lútea temprana del ciclo estral; pero no en la fase lútea media (Okuda *et al.*, 2002).

Del mismo modo, los esteroides sexuales están envueltos en la regulación de la producción de las $\text{PGF}_{2\alpha}$ en el ganado. El estradiol (E_2) incrementa las concentraciones de receptores para oxitocina en el útero (Asselin *et al.*, 1996). Igualmente, se ha demostrado que el E_2 incrementa la actividad de la fosfolipasa A en el tejido endometrial (Silvia *et al.*, 1991). Es así que al retirar la fuente de E_2 , por destrucción de los folículos o por la utilización de un antagonista de estrógenos, es posible retardar la luteólisis (Villa-Godoy *et al.*, 1985; Jacobs *et al.*, 1988).

La progesterona (P_4) bloquea la formación de receptores de oxitocina en la fase lútea media del ciclo estral (Asselin *et al.*, 1996). Este efecto podría deberse a la desensibilización de los receptores uterinos para E_2 ; esto es si consideramos que, como se indicó anteriormente, la oxitocina es dependiente de la actividad del E_2 .

El útero se vuelve refractario a la acción de la P_4 después de una exposición mayor a los 10 días; este período es suficiente para desensibilizar sus receptores. Por lo tanto, la P_4 no podrá inhibir la formación de receptores para E_2 , el cual, va a estimular la formación de receptores para oxitocina. (Silvia *et al.*, 1991; Okuda *et al.*, 2002). De igual manera, Carnahan *et al.* (2002), demostraron que la progesterona es capaz de modular la secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ en los tres principales tipos de células endometriales; las células epiteliales del lumen fueron insensibles a la oxitocina en ausencia de la progesterona, pero presentaron respuesta a la oxitocina después de la aplicación de P_4 . Por el contrario, en células del epitelio glandular y del estroma, la progesterona estimuló la secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pero no se encontró una influencia perceptible en la oxitocina.

Recientes investigaciones, han demostrado la participación de la hormona de crecimiento (GH) conjuntamente con el factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF-I) en el testigo de la secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Sirotkin *et al.* (2003), demostraron que la GH es un potente regulador de la expresión de una variedad de proteína cinasa (MAP-cinasa) en el ovario de la cerda. Este mecanismo está implicado en la acción de la GH sobre la secreción ovárica de las prostaglandinas $\text{F}_{2\alpha}$ y E_2 . Igualmente, Kobayashi *et al.* (2001), señalan que la GH estimula la producción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ en el cuerpo lúteo temprano del bovino; y sugieren que tanto GH como IGF-I contribuyen al mantenimiento de la producción elevada de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ en el CL. El mecanismo por el cual la GH estimula a la $\text{PGF}_{2\alpha}$ es desconocido.

2.2.3. Mecanismo de acción de la $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Dentro del mecanismo de acción de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ se considera que ocasiona una disminución del flujo sanguíneo hacia CL. Como un posible mediador de este efecto se ha involucrado a un péptido de 21 aminoácidos (endotelina-1), el cual es la sustancia de mayor efecto vasoconstrictor conocido (Meidan y Levy, 2002). La $\text{PGF}_{2\alpha}$ estimula a la endotelina-1 desencadenando así su potente actividad vasoconstrictora (Niswender *et al.*, 2000; Meidan y Levy, 2002).

Las prostaglandinas son transportadas por un polipéptido conocido como transportador de prostaglandinas (PGT; Funk, 2001). El PGT lleva a la prostaglandina desde el lugar de su síntesis hasta el ovario por mecanismos locales, sin pasar por la circulación general (Schuster, 2002). La $\text{PGF}_{2\alpha}$ actúa al unirse a sus receptores ubicados principalmente en las células grandes, aun cuando existe evidencia de la presencia de receptores en las células

pequeñas del CL (Alila *et al.*, 1988; Mamluk *et al.*, 1998). Sin embargo, las células lúteas grandes responden primero a la señal luteolítica de la $\text{PGF}_{2\alpha}$; mientras que, las pequeñas sufren regresión por el paso de sustancias citotóxicas a través de la comunicación intercelular con las células lúteas grandes (Pate, 1994). Los receptores para las prostaglandinas (rPG) son de alta afinidad y especificidad. Pertenecen, a su vez, a la familia de receptores acoplados a la proteína G con siete dominios transmembranales (McCracken *et al.*, 1999).

Niswender *et al.* (2000), reportan que, al unirse la $\text{PGF}_{2\alpha}$ a sus receptores en las células lúteas, provoca una activación de la fosfolipasa C. Esta enzima cataliza la hidrólisis del fosfatidilinositol bifosfato a inositol trifosfato y diacilglicerol. Esta serie de eventos resultan en un incremento del Calcio (Ca^{2+}) libre desde el retículo endoplasmático al citoplasma. Este aumento del Ca^{2+} libre y del diacilglicerol estimulan la actividad catalítica de la proteína cinasa C, la cual induce la expresión y activación de proteínas involucradas en el proceso de apoptosis.

Igualmente, la $\text{PGF}_{2\alpha}$ media acciones anti-esteroidogénicas provocando una disminución de la síntesis de P_4 (Niswender *et al.*, 2000). A este respecto, Díaz y colaboradores (2002) mencionan que la $\text{PGF}_{2\alpha}$ disminuye la expresión de la proteína reguladora esteroidogénica (StAR). Este efecto puede estar mediado por un receptor nuclear de origen desconocido, DAX-1, posiblemente por la unión a la estructura de horquilla de ADN presente en el promotor de StAR, provocando una disminución del ARNm de StAR y de la producción de P_4 .

2.3 Utilización de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ en el manejo reproductivo de los bovinos durante el período posparto.

Las infecciones uterinas durante las primeras semanas posparto afectan el retorno a la ciclicidad reproductiva y se asocian con el desarrollo de metritis, lo que se traduce en el retraso de la involución uterina y del reinicio de la actividad ovárica. Adicionalmente, se asocia con un aumento de la formación de quistes ováricos, sobre todo si la infección evoluciona en piometra (Benmrad y Stevenson, 1986; Opsomer *et al.*, 2000). En el período posparto, las vacas que no presentan retención de la placenta, infecciones uterinas ni desarrollo de quistes ováricos, el retorno a la actividad ovárica normal está afectado tanto por el momento en que ocurre la primera ovulación, como por el tiempo que tarda la involución uterina (Duvy y Prange, 1992; Weaver, 1992). En hatos lecheros de niveles de tecnificación medio y alto localizados en el altiplano y zona norte de México, la práctica más común en el manejo reproductivo posparto, es la utilización de antibióticos para el tratamiento de infecciones uterinas; así como, la utilización de hormonas como la $\text{PGF}_{2\alpha}$ para acelerar el regreso a la actividad cíclica regular posparto.

El efecto principal de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ es mediado a través de la eliminación de un cuerpo lúteo y del incremento de las contracciones uterinas (Hemeida *et al.*, 1986). Así, facilita el desarrollo de un nuevo folículo, incrementando los niveles de estradiol; a su vez que induce la expulsión del contenido uterino.

Por otro lado, la eficiencia en la detección del estro al final del período de espera voluntario, tiene un gran impacto en el desarrollo reproductivo en vacas lecheras durante el posparto. En México, la eficiencia promedio de la detección de estros es de alrededor del

56% (Zarco, 2003). Por esta razón, se han desarrollado varios protocolos de sincronización de estros, utilizando principalmente prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) o sus análogos, igualmente progesterona y combinaciones de progesterona con cipionato de estradiol y/o con prostaglandinas (Benmrad y Stevenson, 1986; Orozco *et al.*, 1991; Canizal *et al.*, 1993). Igualmente, la ovulación se ha sincronizado con $PGF_{2\alpha}$ y la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH).

2.3.1 Sincronización del estro con $PGF_{2\alpha}$.

En los programas de manejo reproductivo, la $PGF_{2\alpha}$ se utiliza sola o en combinación con otras hormonas para la sincronización del estro en vacas lecheras. La inyección de la $PGF_{2\alpha}$ o uno de sus análogos durante la fase lútea media del ciclo estral resulta en una luteólisis prematura y una disminución en las concentraciones periféricas de progesterona. A esto le sigue una elevación en la secreción de gonadotropinas y eventualmente la ovulación. Normalmente se sincroniza el estro con dos tratamientos de $PGF_{2\alpha}$ cada 14 días. Folman *et al.* (1990), demostraron que los índices de preñez fueron mayores utilizando este intervalo de tiempo. Este tratamiento de 14 días tiene la ventaja de ser fácil de aplicar para los productores y se utiliza regularmente en esquemas reproductivos (Whisnant *et al.*, 1999). Igualmente, Tenhagen *et al.* (2000), realizaron un experimento en el que inseminaron a los animales 66 y 90 horas después de la sincronización con dos dosis de $PGF_{2\alpha}$, comparándola con estro observado. Ellos encontraron que en animales inseminados a tiempo fijo después de un protocolo de IA con $PGF_{2\alpha}$, disminuyen los días abiertos. En teoría, los animales presentarían estro dentro de 3.8 días después del tratamiento de $PGF_{2\alpha}$ (Taponen *et al.*,

2002). La ovulación ocurre, en los animales tratados con $\text{PGF}_{2\alpha}$, de 72 a 96 horas después del tratamiento y los niveles de progesterona en plasma son significativamente más altos en los días 3 y 4 después de la ovulación (Peters *et al.*, 1999). Kristula *et al.* (1992), encontraron que en las vacas que reciben dosis semanales de $\text{PGF}_{2\alpha}$, disminuyen los días a la primera inseminación e incrementa el índice de preñez por arriba de un 30% en los primeros 90 días posparto; comparado con vacas que recibieron una dosis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ basándose en la palpación rectal de un cuerpo lúteo. El porcentaje de vacas que ovulan después de la segunda inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ fue del 60% (Borman *et al.*, 2003).

2.3.2 Sincronización de la ovulación.

Las diferencias en el desarrollo folicular al momento de la regresión del CL después de un tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$, se debe a la etapa en que se encuentra la oleada folicular; resultando en tiempos variados de estro y ovulación (Thatcher *et al.*, 1996). Esta variación dificulta la detección de estro (Macmillan y Day, 1982; Armstrong *et al.*, 1989; Morton *et al.*, 1992). Debido a esto, en los programas de sincronización con $\text{PGF}_{2\alpha}$ no se puede eliminar completamente la necesidad de detección de estro, por lo que se ha implementado la IA a tiempo fijo. La IA a tiempo fijo no solo requiere el control de la fase lútea de la vaca sino también de la sincronización del desarrollo folicular. La habilidad de controlar el tiempo de ovulación con precisión, seguido por un período en el que se ha programado el desarrollo folicular y la regresión del CL, permite una inseminación a tiempo fijo. Un tratamiento con GnRH induce a la ovulación de un folículo en el ovario y provee de un CL al tiempo de la administración de $\text{PGF}_{2\alpha}$ 7 días después. La lisis del CL provocará el

desarrollo de un nuevo folículo dominante. Así, una segunda inyección de GnRH dada 48 h. después de la PGF_{2α}, resulta en una ovulación en aproximadamente 24 a 32 h. (procedimiento Ovsynch; Pursley *et al.*, 1995). En vacas multíparas la PGF_{2α} aplicada antes del protocolo de Ovsynch incrementa los índices de gestación (Cartmill *et al.*, 2001). Es importante tomar en cuenta el día del inicio del protocolo de sincronización. Datos recientes indican que la etapa del ciclo estral en el cual se inicia el protocolo de ovsynch afecta los niveles de gestación (Vasconcelos *et al.*, 1999). El inicio del protocolo de ovsynch en la fase lútea tardía (es decir, día 13 a 17 del ciclo estral) puede conducir a la regresión prematura del cuerpo lúteo, y las vacas se presentarán en estro antes de la segunda inyección de GnRH del programa de ovsynch (Moreira *et al.*, 2000b). La regresión prematura del CL puede causar la ovulación antes de la época de la AI, lo cual puede reducir los niveles de concepción al servicio sincronizado (Moreira *et al.*, 2000a).

Por otra parte, iniciar del protocolo de sincronización durante la fase del metaestro (es decir, día 1 a 4 del ciclo estral) puede conducir a la falla en la sincronización de una onda folicular nueva por la primera inyección de GnRH (Moreira *et al.*, 2000b). Tal falla puede afectar el folículo ovulatorio y resultar en un CL que produzca menos progesterona en la ovulación inducida por la segunda inyección de GnRH (Moreira *et al.*, 2000b) y puede comprometer los niveles de gestación subsecuentes (Moreira *et al.*, 2000a). Además, la iniciación del protocolo de sincronización durante la fase proestro (es decir, día 18 a 21 del ciclo) puede dar lugar a una falla de la inyección de PGF_{2α} para destruir completamente el CL (Moreira *et al.*, 2000b) y un nivel de gestación mas bajo (Moreira *et al.*, 2000a). De esta manera, estas observaciones sugieren que la etapa óptima del ciclo estral en el cual el

protocolo de sincronización debe iniciarse correspondiendo a la fase lútea temprana, es decir, entre el día 5 y 12 del ciclo estral.

Por lo anterior, es necesario presincronizar a los animales para obtener un mejor provecho del protocolo de sincronización de la ovulación.

2.3.2.1. Presincronización.

Se ha manejado el término “Presincronización” para indicar la preparación de los animales a una fase lútea temprana, previa a la aplicación de un protocolo de sincronización de la ovulación (Moreira, *et al.*, 2001; Peters y Pursley, 2002; DeJarnette y Marshall, 2003). No obstante, recientes investigaciones utilizan el mismo término para identificar la aplicación de un protocolo de varias aplicaciones (dos o tres) de PGF_{2α} (López-Gatiús *et al.*, 2003).

Las ventajas de aplicar un protocolo de presincronización, han sido investigadas en varios trabajos. Pursley *et al.* (1997), utilizaron tres aplicaciones de PGF_{2α} (presincronización) en vacas y novillas testigo, y las compararon con vacas y novillas sincronizadas con un protocolo de Ovsynch. Ellos obtuvieron resultados que indican que la presincronización mejora los niveles de gestación en novillas (74,4% presincronizadas vs. 35,1% Ovsynch). Mientras que en vacas el porcentaje de concepción no presentó significancia (38,9 % presincronizadas vs. 37,8 % Ovsynch). DeJarnette y Marshall (2003) indican que la presincronización con dos aplicaciones de PGF_{2α}, antes de un protocolo de Ovsynch, incrementa los niveles de concepción en vacas multíparas al compararlas con vacas primíparas.

El propósito del protocolo de presincronización con PGF_{2α} es, como se indicó anteriormente, lograr que un alto porcentaje de vacas, se encuentren en un estado más

favorable del ciclo estral antes de iniciar un protocolo de ovsynch (Moreira *et al.*, 2001). Así mismo, la aplicación de PGF_{2α}, ayuda a mejorar el estado saludable del aparato reproductivo, facilitando la evacuación del contenido uterino (Pancarci *et al.*, 2002; Lopez-Gatius *et al.*, 2003). A su vez, varias aplicaciones de PGF_{2α} incrementa el número de ciclos estrales antes de la inseminación; lo cual está relacionado con el incremento en los niveles de concepción al primer servicio (Thatcher y Wilcox., 1973).

2.4. Secreción y regulación de la Hormona del crecimiento (GH).

La somatotropina es sintetizada en las células somatotropas de la pituitaria anterior y tiene cuatro variantes en su síntesis, es decir, puede tener 190 o 191 aminoácidos y leucina o valina en la posición 126 (Etherton y Bauman., 1998). La secreción de la GH desde los somatotropos es episódica o pulsátil. En ausencia de factores externos, la secreción pulsátil es característica inherente de estas células (McMahon *et al.*, 2001). Sin embargo, esta propiedad no es suficiente para alcanzar los niveles de GH necesarios para su actividad metabólica; por tal razón, se requiere la acción de factores liberadores. Así, la secreción de GH es más elevada cuando se tiene la actividad liberadora de factores hipotalámicos que con solo la actividad de los somatotropos (McMahon *et al.*, 2001).

Dos neurohormonas hipotalámicas, hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH) y la somatostatina (SS) son las más importantes hormonas reguladoras de la secreción de GH. La hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH) tiene un efecto estimulador sobre los somatotropos, mientras que, la SS es inhibitoria. Estas hormonas estimulan o inhiben, según sea el caso, la activación de la adenil ciclasa en los

somatotropos; la enzima que cataliza la producción de adenosina monofosfato cíclico (AMPC), el cual es el punto limitante en la cascada de eventos que involucran a la proteína cinasa A (McMahon *et al.*, 2001).

La hormona liberadora de la hormona de crecimiento es sintetizada predominantemente como un péptido de 44 aminoácidos en neuronas localizadas en el núcleo arcuato del hipotálamo. Los axones del núcleo arcuato proyectan terminaciones hasta la capa externa de la eminencia media, donde es secretada al sistema portal hipofisiario-hipotalámico y es transportada a la glándula pituitaria anterior (Leshin *et al.*, 1994). Por otro lado, la SS es sintetizada como un péptido de 14 aminoácidos predominantemente en los núcleos paraventricular y arcuato del hipotálamo, sin embargo, la mayoría de terminales nerviosas (70 a 80 %) para SS se encuentran en el núcleo paraventricular (Pierotti y Harmer, 1985).

La medición de los pulsos de GHRH y SS a nivel del sistema portal hipotalámico – hipofisiario no explican todos los pulsos de secreción de GH. Además, la actividad de las neuronas de GHRH y de SS, disminuye después de que los animales se han alimentado por 2 horas; esto coincide con la reducida secreción de GH. Así, estos datos sugieren que otros factores también regulan la secreción de la GH. Varios neurotransmisores han estado implicados a este respecto. La hormona liberadora de tirotropina, serotonina y el ácido aminobutírico estimula la secreción de GH por los somatotropos (Convey *et al.*, 1973). La norepinefrina reduce la actividad de las neuronas que secretan SS y estimula la secreción de GHRH vía receptores α_2 adrenérgicos (Thomas *et al.*, 1994). El l-aspartato y la leptina estimulan la secreción de GHRH; el neuropéptido Y estimula la secreción de GHRH y de SS. La activación de receptores muscarínicos disminuye la secreción de SS. La dopamina

estimula la secreción de SS vía receptores D1 (McMahon *et al.*, 1998) e inhibe la secreción de GH desde los somatotropos vía receptores D2 (Law *et al.*, 1984). Así, varios factores neuroendocrinos regulan la secreción de GH estimulando o inhibiendo la secreción de GHRH o SS, o actuando independientemente en los somatotropos para coordinar la secreción de GH (McMahon *et al.*, 2001).

2.5. La hormona del crecimiento en la regulación de la reproducción.

2.5.1. Desarrollo Folicular

El crecimiento folicular es un proceso bien definido. En el ganado, dos o tres oleadas de crecimiento folicular ocurren en un solo ciclo estral (Ginther *et al.*, 1989). Estas oleadas foliculares están orientadas al desarrollo de un folículo preovulatorio al final del ciclo. Los folículos presentan receptores para GH tanto en células de la teca como de la granulosa (Spicer y Echterkamp, 1995; Izadyar *et al.*, 1997). Así, la bST actúa incrementando el número de folículos que entran a la fase de reclutamiento de la oleada folicular (DeLaSota *et al.*, 1993). Esta respuesta es observada tanto en la primera como en la segunda oleada folicular y es asociada con el incremento, local y sistémico, de los niveles sanguíneos del factor de crecimiento parecido a la insulina-I (IGF-I). El IGF-I actúa conjuntamente con las gonadotropinas (LH y FSH) para estimular el desarrollo folicular (Hammond *et al.*, 1991). Un estudio en ratones manejados genéticamente (knockout: KO) demostró que se requiere IGF-I para la obtención de la respuesta a la FSH para el desarrollo folicular después de la etapa antral, y para la terminación del crecimiento y maduración del ovocito (Zhou *et al.*, 1997). En la misma especie, la inhibición del gen de IGF-I conduce a la falta de folículos ováricos debido a un bloqueo en la foliculogénesis al final de la etapa preantral o al inicio

de la etapa antral (Baker *et al.*, 1996). Por otra parte, los estudios *in vitro* han demostrado que el IGF-I puede aumentar la acción de FSH en las células de la granulosa (Giudice, 1992). Todas estas observaciones sugieren que la última etapa del folículo, es decir, crecimiento o atresia, depende de la capacidad del IGF-I de unirse con su receptor en el folículo [receptor de IGF tipo I (IGF-IR)]. Así mismo, en vacas tratadas con bST se ha observado un incremento en el número de folículos de 6 a 15 mm de diámetro y un aumento en el diámetro de folículos subordinados (De la Sota *et al.*, 1993). A su vez, algunos datos *in vitro* sugieren que la GH desempeña un papel en la etapa temprana del crecimiento folicular independiente a gonadotropinas, y podría tener una acción inhibitoria directa en la apoptosis del folículo (Chun y Hsueh, 1998; Sirotkin y Makarevich, 1999).

2.5.2. Función del cuerpo Lúteo.

Después de la ovulación, el folículo se transforma en una glándula altamente secretora, produciendo progesterona, que es la hormona que sostiene la gestación. Histológicamente el cuerpo lúteo esta conformado por varios tipos de células: 52.3% de células endoteliales y pericitos, 26.7% de células lúteas pequeñas, 10% fibrocitos, 3.5% células lúteas grandes y 7.5% otras células (células plasmáticas, linfocitos, leucocitos y otras células no identificadas; O'Shea *et al.*, 1989).

La GH estimula la liberación de P₄ en el cuerpo lúteo (CL) del bovino *in vitro* (Liebermann y Schams, 1994). El IGF-I e IGF-II están implicados en la proliferación, mitogénesis y angiogénesis celular. Los IGFs protegen diversos tipos de células contra la apoptosis, incluyendo las células ováricas (Chun *et al.*, 1994). En el tejido lúteo el IGF-I e IGF-II

tienen efectos estimulantes en la secreción de la progesterona en las ratas (Talavera y Menon, 1991), las ovejas (Khan-Dawood, 1994), los cerdos (Pescador *et al.*, 1999) y en los bovinos (McArdle y Holtorf, 1989; Sauerwein *et al.*, 1992). El IGF-I se encuentra casi exclusivamente en las células luteal grandes (LLC), las células luteal pequeñas (SLC) y en un número limitado de células endoteliales. Mientras que, el IGF-II no se puede identificar en estas células, pero sí en los fibroblastos perivasculares de los vasos sanguíneos grandes y en los pericitos de los capilares, así como también, en los fibroblastos del tejido conectivo interlobular (Amselgruber *et al.*, 1994). La expresión del RNAm de receptores para GH (GHR), IGF-I e IGF-II fue demostrada durante ciclo estral y gestación en el ovario del bovino (Schams *et al.*, 1999; Schams *et al.*, 2002).

Las proteínas ligadoras de IGF (IGFBP) regulan la concentración de IGFs libre y afectan la interacción entre IGFs y sus receptores. Estas proteínas pueden estimular e inhibir las funciones de los IGFs. Igualmente pueden actuar como depósitos de almacenamiento para IGFs (Ferry *et al.*, 1999; Baxter, 2000). Por ejemplo, en las células lúteas de los bóvidos, el IGFBP-2 y -3 inhiben la unión del IGF a su receptor y bloquean el efecto estimulante de IGF I en la secreción de la progesterona (Brown y Braden, 2001).

2.5.3. Desarrollo Embrionario

La mortalidad embrionaria temprana es una de las principales causas de baja fertilidad en la vaca lechera. Sin embargo, la etiología de la muerte del embrión es de naturaleza diversa, pero puede resumirse en factores genéticos y ambientales. Dentro de los factores genéticos están consideradas las anomalías cromosómicas, las cuales pueden producirse espontáneamente durante la gametogénesis, fertilización o embriogénesis (Wilmot *et al.*,

1986; Sreenan *et al.*, 2001). Los factores ambientales son los responsables de la mayor parte de las muertes embrionarias tempranas. Aquí están considerados los factores de naturaleza hormonal, climática, infecciosa y nutricional (Thatcher *et al.*, 1994; Zavy, 1994; Sreenan *et al.*, 2001). La importancia relativa de cada uno de estos factores ha cambiado en los últimos años y esta relacionada con los cambios inherentes al manejo moderno de los hatos lecheros.

Actualmente, se han evaluado nuevas terapias hormonales para mejorar la supervivencia del embrión y por consiguiente incrementar la fertilidad en la vaca (Hernández y Morales, 2001). Es así que, se han investigado los efectos de la bST en el desarrollo del embrión. La GH posee receptores (GHR) tanto en la membrana plasmática de las células trofoblásticas como en la masa celular interna de los blastocistos implantados (Izadyar *et al.*, 2000). La funcionalidad de los GHR es claramente demostrada por la acción de la GH sobre la división y formación de blastocistos así como también su implantación (Izadyar *et al.*, 2000).

Es probable que el principal efecto de la bST en la fertilidad ocurra durante los primeros días post-servicio, período en el cual el embrión es más susceptible a cualquier deficiencia en el ambiente oviductal y uterino que conducen posteriormente a su muerte (Linares, 1982; Gustafsson, 1985; Thatcher *et al.*, 1994). La acción de la GH sobre el desarrollo embrionario se ha demostrado en varios trabajos de investigación. La adición de bST o IGF-I al medio de cultivo incrementó la proporción de embriones que llegaron a la etapa de blastocisto y por otra parte un tratamiento con bST a vacas superovuladas incrementó la proporción de embriones transferibles (Moreira *et al.*, 2002a; Moreira *et al.*, 2002b). Otro estudio (Morales, 2000) demostró que la bST incrementa la proporción de embriones

transferibles en vacas repetidoras ($P < 0.05$; 84.38 % y 54.55 %, grupos tratado y testigo respectivamente).

Aunque el mecanismo por el cual la bST mejora la supervivencia del embrión no está totalmente establecido, debe estar relacionado con los efectos que tiene esta hormona en el aparato reproductor así como también en el mismo embrión.

2.6. Hipótesis

- a) El tratamiento con bST al momento de la inseminación artificial, después de un protocolo de sincronización de estros con $\text{PGF}_{2\alpha}$, incrementará los índices de concepción de vacas Holstein de primer servicio.
- b) La aplicación de un protocolo de sincronización de estros con $\text{PGF}_{2\alpha}$, mejora la fertilidad en vacas Holstein inseminadas al primer servicio.

2.7. Objetivos

- a) Evaluar el efecto del tratamiento con 500mg de bST al momento de la inseminación, después de un tratamiento de sincronización con $\text{PGF}_{2\alpha}$ en el índice de concepción en vacas Holstein de primer servicio.
- b) Evaluar el efecto de la aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ cada 14 días a partir del día 30 posparto, sobre la fertilidad en vacas Holstein inseminadas al primer servicio.

III. Materiales y Métodos

3.1 Animales.

Esta investigación se llevó a cabo en 15 hatos comerciales de ganado lechero pertenecientes al Complejo Industrial Agropecuario de Tizayuca Hgo. Localizado en las coordenadas de latitud 19°50', de longitud 98°59' y una altura de 2260 msnm. La región tiene una temperatura media de 16°C y precipitación anual 500mm. Se utilizaron 435 vacas Holstein distribuidas en 4 grupos:

Grupo I: (n = 125) las vacas de este grupo recibieron una dosis luteolítica de PGF_{2α} (Celosil, Schering Plough SA. de CV. México) IM, cada 14 días a partir del día 30 posparto. Los animales fueron inseminados en el estro sincronizado después del día 60 pp y en ese momento recibieron 500mg de somatotropina bovina recombinante (Boostin, Schering-Plough SA. de CV. México) S.C.

Grupo II: (n = 91) Se manejó de la misma forma que el grupo I sin la aplicación de bST.

Grupo III: (n = 60) Estas vacas se inseminaron en el estro natural detectado después del día 60 pp y recibieron en ese momento 500 mg de bST.

Grupo IV: (n = 159) las vacas se manejaron igual que el grupo III pero sin la aplicación de bST (Fig. 1).

La detección de estros se realizó por observación directa y mediante la colocación de dispositivos auxiliares para el registro de montas (Kamar Heatmount, Kamar Inc. USA).

La gestación fue diagnosticada por palpación rectal a los 45 días después de la inseminación. El índice de concepción se definió como el porcentaje de vacas gestantes del número total de vacas inseminadas.

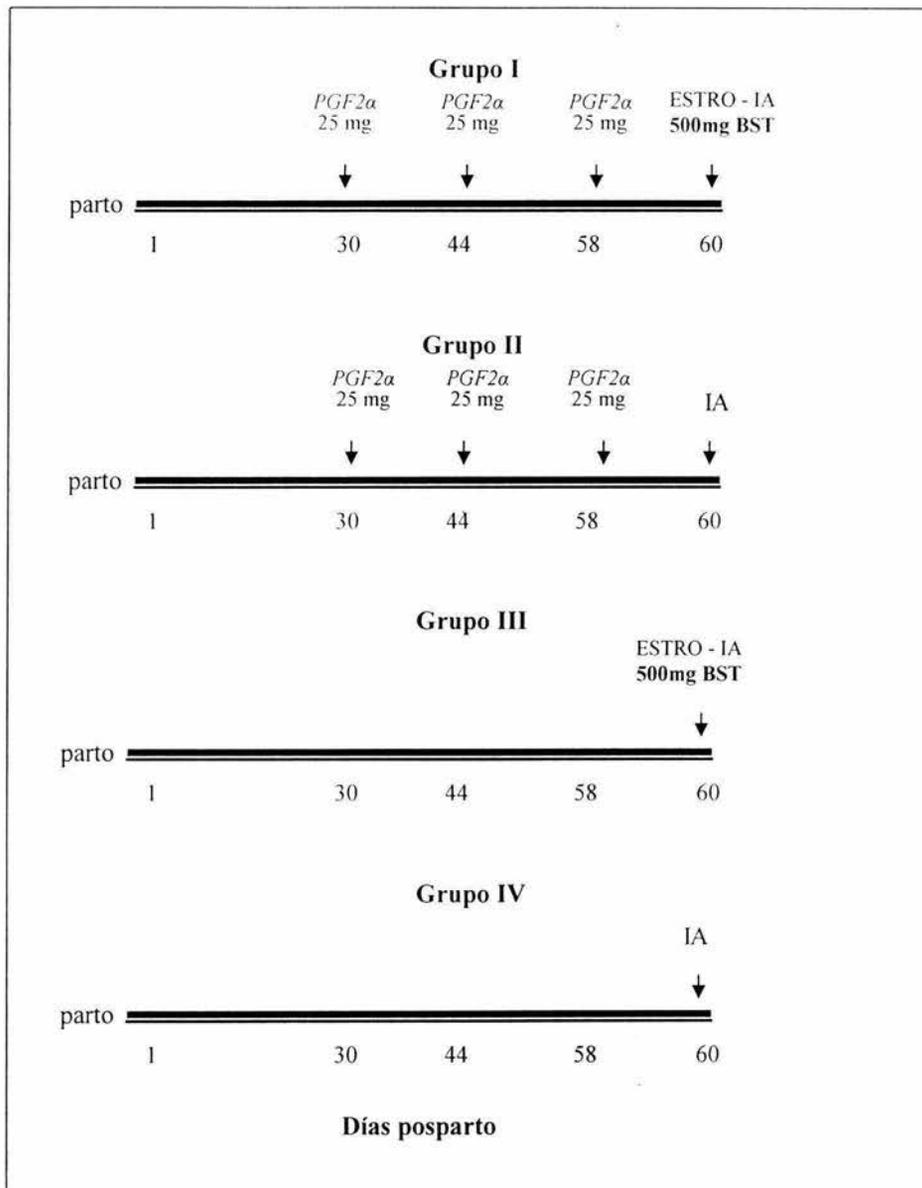


Figura 1. Diseño experimental

Con la finalidad de medir el efecto de los tratamientos (bST y PGF_{2α}) de manera independiente, los animales se reagruparon bajo dos criterios de clasificación:

Sincronizados (n=216) y no sincronizados (n=219) o Tratamiento con bST (n=185) y no tratados con bST (n=250).

Con el propósito de estimar la proporción de animales ciclando en el día 30 posparto (inicio del tratamiento con PGF_{2α}) se tomaron muestras de sangre de 150 animales (75 sincronizados y 75 no sincronizados). Las muestras se realizaron por punción de la arteria o vena coccígea en tubos con anticoagulante (EDTA). Se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona mediante radioinmunoensayo (RIA) con un Kit comercial (Coat-A-Count Progesterona, DPC; Pulido *et al.*, 1991). El ensayo presentó una sensibilidad de 0.1 ng/ml y un Coeficiente de Variación intraensayo del 4.41 %.

3.2 Análisis estadísticos

El porcentaje de concepción entre grupos se comparó mediante una prueba de Ji-cuadrada (Steel y Torrie, 1980). El efecto del hato, época del año y número de partos en el porcentaje de concepción se evaluó a través de una prueba de regresión logística para variables binarias utilizando el procedimiento de PROC LOG del paquete estadístico SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC).

IV. RESULTADOS.

El número total de los animales, su distribución en los diferentes grupos y el porcentaje de concepción al primer servicio se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1: Número y porcentaje de concepción en vacas Holstein tratadas con 500 mg de bST al momento de IA sincronizadas con PGF_{2α} cada 14 días a partir del día 30pp.

Grupo	n	Vacas Gestantes	Porcentaje de concepción*
Grupo I*	125	43	34.4
Grupo II**	91	38	41.7
Grupo III***	60	24	40.0
Grupo IV****	159	49	30.8
Total	435	154	35.4

* No se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$)

* Tres aplicaciones de PGF_{2α} cada 14 días desde el día 30 pp y una dosis de 500 mg. de bST al inseminar en estro observado

** Igual al grupo anterior sin la aplicación de bST.

*** Inseminadas al primer estro observado después del día 60 pp y aplicado en ese momento una dosis de 500 mg de bST.

**** Igual al grupo anterior sin la aplicación de bST.

La figura 2 muestra los niveles de concepción que presentaron los diferentes grupos al finalizar el trabajo.

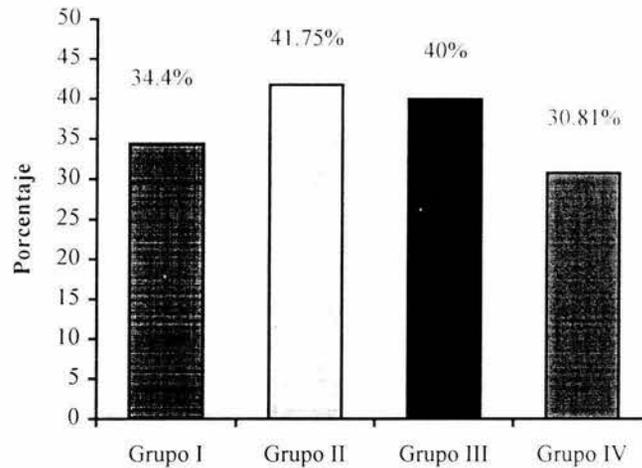


Figura 2. Porcentaje de concepción de vacas Holstein tratadas con bST al momento de IA después de ser sincronizadas con PGF_{2α} cada 14 días a partir del día 30 pp.

El porcentaje de concepción no fue afectado por el hato, la época del año ni el número de partos ($P > 0.05$).

Al reagrupar los animales según el tratamiento con bST y no tratados con bST, los niveles de concepción no variaron estadísticamente de 36.2% y 34.8% ($P > 0.05$).

Igualmente, al clasificar a los animales en sincronizados con PGF_{2α} y no sincronizados, los niveles de concepción fueron de 37.5 % y de 33.33 % respectivamente ($P > 0.05$).

De acuerdo a las concentraciones séricas de P₄ en el día 30 días posparto, 44 % de las vacas sincronizadas y 51.28 % de las no sincronizadas ($P > 0.05$) presentan niveles mayores a un 1 ng/ml.

V. DISCUSION.

La administración de una dosis de 500 mg de bST al momento de la inseminación, no mejoró la fertilidad de vacas Holstein de primer servicio sincronizadas con PGF_{2α}. Bajo condiciones similares, Mendoza (2000) tampoco encontró una mejora en la fertilidad de vacas Holstein de primer servicio tratadas con una inyección de bST en el momento de inseminación. Estos resultados contrastan con lo observado en vacas repetidoras en donde el tratamiento con bST (Morales-Roura *et al.*, 2001; Mendoza, 2000), mejoró el índice de concepción. La causa de la falla en la respuesta al tratamiento con bST en las vacas de primer servicio se desconoce. Sin embargo, se puede especular que podría estar relacionada con diferencias etiológicas de la falla en la concepción que tienen estos dos grupos de vacas. Así, las vacas de primer servicio tenían al momento del tratamiento entre 60 y 70 días posparto y las repetidoras alrededor de 200. Mientras las vacas de primer servicio estaban expuestas a más factores que pueden ocasionar falla en la concepción, tales como el balance energético negativo (Staples *et al.*, 1990) o de cualquier problema relacionado con el parto (Senatore *et al.*, 1996), las vacas repetidoras estaban alejadas de estas condiciones. Las afecciones que puede sufrir un animal en el periodo posparto temprano afectan el desarrollo reproductivo del mismo. En un estudio al respecto (Lewis, 1997), se observó que la presencia de la bacteria *Actinomyces pyogenes* en los primeros 21 días posparto, se asoció con una severa endometritis y las vacas fueron infértiles en el primer servicio. De esta forma, es posible que el efecto positivo de la GH y del IGF-I en el embrión haya sido insuficiente para evitar los efectos negativos de esas condiciones. En contraste, al estar mas alejados de los problemas relacionados con el período posparto,

como sucede en el caso de las vacas repetidoras, es posible que la actividad de la bST mejore el desarrollo del embrión y se refleje en un mejoramiento de la fertilidad.

El efecto de la bST en el desarrollo embrionario puede ser ejercido en forma directa o a través del IGF-I. La administración subcutánea de bST ocasiona un incremento de las concentraciones sanguíneas de IGF-I (Gong *et al.*, 1993). En el estudio de Mendoza (2000) se observó un incremento de los niveles séricos de esta hormona desde el día 2 después del tratamiento con bST. Las concentraciones sanguíneas altas de IGF-I podrían promover un incremento de su concentración en el oviducto y útero, ya que este factor está presente en estos órganos (Makarevich y Sirotkin, 1997). Es posible que el aumento de las concentraciones de IGF-I en las secreciones oviductales y uterinas, estimule a los embriones que intenten desarrollarse en un ambiente desfavorable. Se conoce que el IGF-I actúa como un factor de supervivencia evitando la apoptosis durante el desarrollo embrionario temprano (Byrne *et al.*, 2002; Augustin *et al.*, 2003). Además, en el endometrio están presentes receptores para la GH y el IGF-I, por lo cual en los animales tratados con bST se podría estimular la actividad secretora de las glándulas endometriales mejorando el ambiente uterino para el desarrollo del embrión (Heap *et al.*, 1996; Robinson *et al.*, 2000). Aunque no se determinó el balance energético en este estudio, es posible que las vacas se encontraban cerca del pico de lactación y del periodo de balance energético negativo.

Bajo estas condiciones es probable que la respuesta a la bST se haya afectado ya que las vacas en balance negativo de energía tienen niveles bajos de IGF-I (McGuire *et al.*, 1992) y responden pobremente a los tratamientos con bST (Yung *et al.*, 1996). Sin embargo, en el

trabajo de Mendoza (2000) las concentraciones de IGF-I fueron similares entre las vacas de primer servicio y repetidoras tratadas con bST, lo cual no podría sostener esta posibilidad. Los resultados de esta investigación contrastan a su vez, con los resultados de Moreira *et al.* (2000), quienes hallaron una mejoría en la fertilidad de vacas al primer servicio tratadas con bST después de un protocolo de sincronización de la ovulación e inseminación a tiempo fijo (37.7 ± 5.8 % vs. 22.1 ± 4.2 %; para animales tratados y testigo respectivamente). Se puede especular que parte de esta diferencia puede ser explicada por la naturaleza de este protocolo, así, al sincronizar la ovulación e inseminar 16 h después se elimina la probabilidad de practicar la inseminación tardía, lo cual, por si solo, estaría disminuyendo las muertes embrionarias debidas a anomalías genéticas provocadas por la fertilización de un ovocito viejo. Bajo estas condiciones, es posible que los efectos positivos de la bST en el desarrollo y supervivencia del embrión se haya ejercido reflejándose en el porcentaje de concepción.

En este trabajo se hipotetizó que el tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$ cada 14 días comenzando el día 30 posparto, mejoraría la fertilidad. Lo anterior se propuso dado que el acortamiento de las fases lúteas y la presentación de fases foliculares tendría un efecto favorable en las condiciones del aparato reproductor (Steffan *et al.*, 1984; Chavatte *et al.*, 1993). Además, el incremento en el número de ciclos estrales previos a la inseminación se ha asociado con un mejoramiento de la fertilidad a primer servicio (Thatcher y Wilcox, 1973). Sin embargo, la hipótesis planteada fue rechazada al no encontrarse diferencia en el porcentaje de concepción entre vacas tratadas con $\text{PGF}_{2\alpha}$ (37.5 %) y testigos (33.3 %).

Estos resultados son similares a lo observado por otros autores. Armstrong *et al.* (1989), no encontraron un efecto sobre la fertilidad tanto en vacas tratadas entre los días 14 y 21 posparto como en vacas tratadas una vez a la semana desde el día 45 posparto con $\text{PGF}_{2\alpha}$. En el trabajo de Moreira *et al.* (2001), los porcentajes de preñez del total de animales del grupo presincronizado ($\text{PGF}_{2\alpha}$) sin la aplicación de bST, no presentó diferencia significativa ($P > 0.01$) en comparación con el grupo control (presincronizado $36.9 \pm 6.0\%$ vs. testigo $36.0 \pm 5.7\%$). Sin embargo, cuando tomaron en cuenta a los animales de estaban ciclando ($P_4 \geq 1 \text{ ng/ml}$ al momento de la segunda aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$) en los mismos grupos, observan un efecto de la presincronización sobre los niveles de gestación a primer servicio (presincronizado 46.9% vs. control 34.4%).

Contrario a los resultados de esta investigación, diversos autores han observado efectos favorables sobre la fertilidad con el tratamiento de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Schofield *et al.* (1999), indican que la administración de $\text{PGF}_{2\alpha}$ en vacas al día 21 posparto aumenta la tasa de preñez al primer servicio (tratadas 80%; testigo 60%). Este resultado se debe posiblemente al efecto en el aumento del número de vacas inseminadas; ya que se ha observado que vacas tratadas con $\text{PGF}_{2\alpha}$ incrementa la eficiencia en la detección de estros (López-Gatius *et al.*, 2003). Igualmente, McIntosh *et al.* (1984), reportan que la aplicación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ puede elevar los niveles de concepción en animales tratados cuando se compara con vacas no sincronizadas; no obstante, en el presente estudio no se observó un efecto en el porcentaje de concepción a primer servicio.

Por otro lado, existen evidencias que indican otros beneficios con el tratamiento de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Etherington *et al.* (1994), encontraron que la administración en vacas de un análogo de

PGF_{2α} entre los días 24 y 31 posparto disminuye el intervalo parto-concepción. en tanto que, McClary *et al.* (1989) observaron que la aplicación de PGF_{2α} en el posparto temprano disminuye el número de servicios por concepción (tratadas 1.64 ± 0.86 vs. testigo 2.33 ± 1.51).

Los porcentajes de vacas ciclando a los 30 días posparto tanto del grupo sincronizado (44 %) como del no sincronizado (51.28 %), fueron similares ($P > 0.05$). Con base en esto, se puede especular que la sincronización con la administración de PGF_{2α} cada 14 días desde el día 30 posparto, posiblemente provoque un mayor número de ciclos previos al servicio, debido al acortamiento del ciclo estral. Esto se ha relacionado con un incremento en la fertilidad (Thatcher y Wilcox, 1973). Sin embargo este efecto no fue observado en la presente investigación.

Aunque en el presente trabajo no se observó un efecto al primer servicio, y con base a lo anteriormente descrito, se puede pensar que posiblemente el efecto de la PGF_{2α} se manifieste sobre otras variables: tasa de gestación, intervalo parto-primer servicio, intervalo parto-concepción; estos parámetros no fueron analizados en esta investigación.

En resumen, la administración de un tratamiento con 500 mg. de bST en vacas Holstein de primer servicio no mejoró su porcentaje de concepción. Igualmente, la aplicación de un protocolo de sincronización con PGF_{2α} no influye en la fertilidad de vacas Holstein de primer servicio. De esta manera se concluye que el tratamiento con un a dosis de 500 mg. de bST en vacas de primer servicio sincronizadas con PGF_{2α} no mejora el porcentaje de concepción.

VI. LITERATURA CITADA

1. Alila HW, Corradino RA, Hansel W. A comparison of the effects of cyclooxygenase prostanoids on progesterone production by small and large bovine luteal cells. *Prostaglandins*. 1988;36:259-270.
2. Amselgruber W, Sinowatz F, Schams D, Skottner A. Immunohistochemical aspects of insulin-like growth factors I and II in the bovine corpus luteum. *J Reprod Fertil* 1994;101:445-451.
3. Armstrong JD, O'Gorman J, Roche JF. Effects of prostaglandin on the reproductive performance of dairy cows. *Vet Rec*. 1989;125:597-600.
4. Asselin E, Goff AK, Bergeron H, Fortier MA. Influence of sex steroids on the production of prostaglandins F₂ alpha and E₂ and response to oxytocin in cultured epithelial and stromal cells of the bovine endometrium. *Biol Reprod*. 1996;54:371-379.
5. Augustin R, Pocar P, Wrenzycki C, Niemann H, Fischer B. Mitogenic and anti-apoptotic activity of insulin on bovine embryos produced in vitro. *Reproduction*. 2003;126: 91-99
6. Ayalon N. A review of embryonic mortality in cattle. *J Reprod Fert*.1978;54:483-493.
7. Baker J, Hardy MP, Zhou J, Bondy C, Lupu F, Bellve AR, Efstratiadis A. Effects of an Igf1 gene null mutation on mouse reproduction. *Mol Endocrinol* 1996;10:903-918.
8. Baxter RC. Insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins: Interactions with IGFs and intrinsic bioactivities. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000;278:E967-976.
9. Beam SW, Butler WR. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol Reprod*. 1997;56:133-142.
10. Benmrad M, Stevenson JS. Gonadotropin releasing hormone and prostaglandin F_{2α} for postpartum dairy cows: Estrous, ovulation and fertility traits. *J Dairy Sci* 1986;69:800-811.

11. Binelli M, Thatcher WW, Mattos R, Baruselli PS. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology* 2001;56:1451-1463.
12. Borman JM, Radcliff RP, McCormack BL, Kojima FN, Patterson DJ, Macmillan KL, Lucy MC. Synchronisation of oestrus in dairy cows using prostaglandin F₂ alpha, gonadotrophin-releasing hormone, and oestradiol cypionate. *Anim Reprod Sci.* 2003;76:163-176.
13. Bosu, WTK, Peter AT. Evidence for a role of intrauterine infections in the pathogenesis of cystic ovaries in postpartum dairy cows. *Theriogenology.* 1987;28:725-736.
14. Braden TD, Sawyer HR, Niswender GD. Functional and morphological characteristics of the first corpus luteum formed after parturition in ewes. *J Reprod Fertil* 1989;86:525-533.
15. Brown TA, Braden TD. Expression of insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-3, and the effects of IGFBP-2 and -3 in the bovine corpus luteum. *Domest Anim Endocrinol* 2001;20:203-316.
16. Brozos CN, Saratsis PH, Boscós C, Kyriakis SC, Alexopoulos C. The effect of bovine somatotropin (bST) administration on reproduction, progesterone concentration during lactation and LH secretion during estrus, in dairy ewes. *Anim Reprod Sci* 1999;56:177-187.
17. Buratini Jr J, Price CA, Visintin JA, Bó GA. Effects of Dominant Follicle Aspiration and Treatment with Recombinant Bovine Somatotropin (bST) on Ovarian Follicular Development in Nelore (*Bos indicus*) Heifers. *Theriogenology* 2000;54:421-431.
18. Burns PD, Graf GA, Hayes SH, Silvia WJ. Cellular mechanisms by which oxytocin stimulates uterine PGF₂ alpha synthesis in bovine endometrium: Roles of phospholipases C and A2. *Domest Anim Endocrinol.* 1997;14:181-191.
19. Burns PD, Graf GA, Hayes SH, Silvia WJ. Effect of oxytocin on expression of cytosolic phospholipase A2 mRNA and protein in ovine endometrial tissue in vivo. *Domest Anim Endocrinol.* 2000;19:237-246.

20. Burns PD, Hayes SH, Silvia WJ. Cellular mechanisms by which oxytocin mediates uterine prostaglandin F₂ alpha synthesis in bovine endometrium: Role of calcium. *Domest Anim Endocrinol.* 1998;15:477-487.
21. Burton JL, McBride BW, Burton JH, Eggert RG. Health and reproductive performance of dairy cows treated for up to two consecutive lactations with bovine somatotropin. *J Dairy Sci* 1990;73:3258-3265.
22. Butler WR. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1998;81:2533–2539.
23. Byrne AT, Southgate J, Brison DR, Leese HJ. Regulation of apoptosis in the bovine blastocyst by insulin and the insulin-like growth factor (IGF) superfamily. *Mol Reprod Dev.* 2002;62:489-495.
24. Canizal JE, Posadas ME, Avila GJ. Efecto de tres tratamientos con la hormona liberadora de gonadotropinas y prostaglandina F_{2α} en los días 12 y 14 posparto sobre días a primer estro y primer servicio en vacas Holstein. XVIII Congreso Nacional de Buiatría. México, DF, 1993 Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC., 1993:219 (Abstract).
25. Carnahan KG, Uzumcu M, Hu J, Sample GL, Braileanu GT, Mirando MA. Oxytocin stimulates secretion of prostaglandin F(2alpha) from endometrial cells of swine in the presence of progesterone. *Domest Anim Endocrinol.* 2002;23:435-445.
26. Cartmill JA, El-Zarkouny SZ, Hensley BA, Lamb GC, Stevenson JS. Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. *J Dairy Sci.* 2001;84:1051-1059.
27. Chavatte PM, Archbald LF, Risco C, Tran T, Sumrall D. Effectiveness of prostaglandin F_{2α} in the initial treatment of bovine ovarian cysts. *Theriogenology* 1993;40:745–755.
28. Chun S-Y, Billig H, Tilly JL, Furuta I, Tsafiriri A, Hsueh AJW. Gonadotropin suppression of apoptosis in cultured preovulatory follicles: Mediator role of endogenous insulin-like growth factor I. *Endocrinology* 1994;135:1845–1853.
29. Chun SY, Hsueh AJ. Paracrine mechanisms of ovarian follicle apoptosis. *J Reprod Immunol* 1998;39:63–75.

30. Convey EM, Tucker HA, Smith VG, Zolman J. Bovine prolactin, growth hormone, thyroxine, and corticoid response to thyrotropin-releasing hormone. *Endocrinology* 1973;92:471-476.
31. Copelin JP, Smith MF, Garverick HA, Youngquist RS. Effect of termination of pregnancy or long-term progestogen exposure on subsequent estrous cycle length and concentration of progesterone in plasma of heifers. *J Anim Sci.* 1989;67:1552-1558.
32. Crowe MA, Padmanabhan V, Mihm M, Beitins IZ, Roche JF. Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentrations. *Biol Reprod.* 1998;58:1445-1450.
33. Dahl GE, Chapin LT, Moseley WM, Tucker HA. Galactopoietic effects of recombinant somatotropin and Growth hormone-releasing factor in dairy cows. *J Dairy Sci* 1993;76:1550-1557.
34. De La Sota RL, Lucy MC, Staples CR, Thatcher WW. Effects of recombinant bovine somatotropin (Sometribove) on ovarian function in lactating and non lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1993;76:1002-1013
35. DeJarnette JM, Marshall CE. Effects of pre-synchronization using combinations PGF(2alpha) and (or) GnRH on pregnancy rates of Ovsynch- and Cosynch-treated lactating Holstein cows. *Anim Reprod Sci.* 2003;77:51-60.
36. Del Vecchio RP, Chase, Jr CC, Bastidas P, Randel R. D. Oxytocin-induced changes in plasma 13,14 dihydro-15-keto prostaglandin F_{2α} concentrations on days 10, 20 and 30 postpartum in the bovine. *J Anim Sci.* 1990;68:4261-4266.
37. Díaz FJ, Anderson LE, Wu YL, Rabot A, Tsai SJ, Wiltbank MC. Regulation of progesterone and prostaglandin F₂ alpha production in the CL. *Mol Cell Endocrinol.* 2002;191:65-80.
38. Duffy P, Crowe MA, Boland MP, Roche JF. Effect of exogenous LH pulses on the fate of the first dominant follicle in postpartum beef cows nursing calves. *J Reprod Fertil.* 2000;118:9-17.
39. Dunne LD, Diskin MG, Sreenan JM. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *Anim Reprod Sci* 2000;58:39-44.

40. Duvy RT, Prange RW. Physiology and endocrinology of the estrous cycle. Northeast IRM Manual. The national dairy data base, West Virginia USA. 1992.
41. Echtenkamp SE, Spicer LJ, Gregory KE, Canning SF, Hammond JM. Concentrations of insulin-like factor-I in blood and ovarian follicular fluid of cattle selected for twins. *Biol Reprod* 1990;43:8-14.
42. Einspanier R, Miyamoto A, Schams D, Müller M, Brem G. Tissue concentration, mRNA expression and stimulation of IGF-I in luteal tissue during the oestrous cycle and pregnancy of cows. *J Reprod Fert* 1990;90:439-445.
43. Etherington WG, Kelton DF, Adams JE. Reproductive performance of dairy cows following treatment with fenprostalene, dinoprost, or cloprostenol between 24 and 31 Days post partum: A field trial. *Theriogenology* 1994;42:739-752.
44. Etherton TD, Bauman DE. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiol Rev.* 1998;78:745-761.
45. Fernández DJ. Análisis del comportamiento reproductivo en vacas de la comarca lagunera. Memorias del II simposio nacional de infertilidad en vaca lechera y III congreso internacional de médicos veterinarios zootecnistas especialistas en bovinos de la comarca lagunera. (Coahuila) México; Facultad de Medicina veterinaria y zootecnia – UNAM, Asociación de médicos veterinarios zootecnistas especialistas en bovinos de la comarca lagunera, AC. 2003:19-23.
46. Ferry Jr RJ, Cerri RW, Cohen P. Insulin-like growth factor binding proteins: New proteins, new functions. *Horm Res* 1999;51:53–67.
47. Folman Y, Kaim M, Herz Z, Rosenberg M. Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. 2. Effects of progesterone and parity on conception. *J Dairy Sci.* 1990;73:2817-2825.
48. Funk CD. Prostaglandins and leukotrienes: Advances in eicosanoid biology. *Science.* 2001;294:1871-1875.
49. Gallo GF, Block E. Effects of recombinant bovine somatotropin on hypophyseal and ovarian function of lactating dairy cows. *Can J Anim Sci* 1991;71:343-353.

50. Garverick HA, Zollers WG Jr., Smith MF. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim Reprod Sci* 1992;28:111-124.
51. Geisert R.D., Everett C.S., Zavy M.T. Maternal recognition of pregnancy. *Anim Reprod Sci* 1992;28:287-298.
52. Ginther OJ, Kastelic JP, Knop L. Composition and characteristic of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim Reprod Sci* 1989;20:187-200
53. Giudice LC. Insulin-like growth factors and ovarian follicular development. *Endocr Rev* 1992;13:641-669.
54. Goldyne EM. Prostaglandinas y otros eicosanoides. En: Katzung BG. *Farmacología Básica y Clínica*. México D.F., Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V., 1987:219-229.
55. Gong JG, Bramley TA, Webb R. The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian follicular growth and development in heifers. *J Reprod Fertil*. 1993;97:247-254.
56. Granados VLM, Márquez HO, Arias SDA, Espinosa CR, Sánchez GFF. Predicción de desecho de vacas lecheras por problemas de salud. *Memorias del XXV congreso nacional de Buiatría*; 2001 agosto 16-18; Veracruz (Veracruz) México; Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2001:211 (Abstrac).
57. Gustafsson H. Characteristics of embryos from repeat-breeder and virgin heifers. *Theriogenology* 1985;23:487-498.
58. Hammond JM, Mondschein JS, Samaras SE, Canning SF. The ovarian insulin-like growth factors, a local amplification mechanism for steroidogenesis and hormone action. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991;40:411-416.
59. Heap D, Collier RJ, Boyd CK, Lucy MC. Expression of alternate growth hormone receptor messenger RNA in ovary and uterus of cattle. *Dom Anim Endocrinol* 1996;13:421-430.
60. Hemeida NA, Gustafsson BJ, Whitmore HL. Principles of antibiotic therapy. Morrow W. editor. *Current Therapy in Theriogenology*. Diagnosis, treatment and prevention

- of reproductive diseases in small and large animals. USA: W.B. Saunders Co; 1986:45-47.
61. Hernández CJ, Morales RS. Falla en la concepción en el ganado lechero: Evaluación de terapias hormonales. *Vet Mex* 2001;32:279-287.
 62. Izadyar F, Van Tol HTA, Colenbrander B, Bevers MM. Stimulatory effect of Growth Hormone on *in vitro* maturation of bovine oocytes is exerted through cumulus cells and not mediated by IGF-I. *Mol Reprod Dev* 1997;47:175-180.
 63. Izadyar F., Van Tol., H.T.A., Hage W.G., Bevers M.M. Preimplantation bovine embryos express mRNA of growth hormone receptor and respond to growth hormone addition during *in vitro* development. *Mol Reprod Develop* 2000;57:247-255.
 64. Jacobs AL, Edgerton LA, Silvia WJ, Schillo KK. Effect of an estrogen antagonist (tamoxifen) on cloprostenol-induced luteolysis in heifers. *J Anim Sci.* 1988;66:735-742.
 65. Jimenez-Krassel F, Binelli M, Tucker H A, Ireland J J. Effect of long-term infusion with recombinant growth hormone-releasing factor and recombinant bovine somatotropin on development and function of dominant follicles and corpora lutea in Holstein cows *J. Dairy Sci.* 1999;82:1917-1926.
 66. Kerbler TL, Burh MM, Jordan LT, Leslie KE, Walton JS. Relationships between maternal plasma progesterone concentration and interferon tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology* 1997;47:703-714.
 67. Kesler DJ, Garverick HA, Bierschwal CJ, Elmore RG, Youngquist RS. Reproductive hormones associated with normal and abnormal changes in ovarian follicles in postpartum dairy cows. *J Dairy Sci.* 1979;62:1290-1296.
 68. Khan-Dawood FS, Gargiulo AR, DawoodMY. *In vitro* microdialysis of the ovine corpus luteum of pregnancy: Effects of insulin-like growth factor on progesterone secretion. *Biol Reprod* 1994;51:1299-1306.
 69. Kirby CJ, Smith MF, Keisler DH, Lucy MC. Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained-release bovine somatotropin. *J Dairy Sci* 1997;80:273-285.

70. Kirby CJ, Thatcher WW, Collier RJ, Simmen FA, Lucy MC. Effects of Growth hormone and pregnancy on expression of growth hormone receptor, insuline-like growth factor-I, and insuline- like growth factor binding protein-2 and -3 genes in bovine uterus, ovary, and oviduct. *Biol Reprod* 1996;55:996-1002.
71. Kobayashi S, Miyamoto A, Berisha B, Schams D. Growth hormone, but not luteinizing hormone, acts with luteal peptides on prostaglandin F₂ alpha and progesterone secretion by bovine corpora lutea in vitro. *Prostaglandins*. 2001;63:79-92.
72. Kotwica J, Skarzynski D, Miszkiew G, Melin P, Okuda K. Oxytocin modulates the pulsatile secretion of prostaglandin F₂ alpha in initiated luteolysis in cattle. *Res Vet Sci*. 1999;66:1-5.
73. Kristula M, Bartholomew R, Galligan D, Uhlinger C. Effects of a prostaglandin F₂ alpha synchronization program in lactating dairy cattle. *J Dairy Sci*. 1992;75:2713-2718.
74. Law GJ, Ray KP, Wallis M. Effect of growth hormone-releasing factor, somatostatin and dopamine on growth hormone and prolactine secretion from cultured ovine pituitary cells. *FEBS Lett* 1984;166:189-193.
75. LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, Keefe GP, Walton JS, Johnson WH. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci*. 2002;85:2223-2236.
76. Leshin LS, Barb CR, Kiser TE, Rampacek GB, Kraeling RR. Growth hormone-releasing hormone and somatostatin neurons within the porcine and bovine hypothalamus. *Neuroendocrinology* 1994;59:251-64.
77. Lewis GS. Uterine health and disorders. *J Dairy Sci*. 1997;80:984-994.
78. Liebermann J, Schams D. Actions of somatotrophin on oxytocin and progesterone release from the microdialysed bovine corpus luteum in vitro. *J Endocrinol* 1994;143:243-50.
79. Linares T. Embryonic development in repeat breeder and virgin heifers seven days after insemination. *Anim Reprod Sci* 1982;4:189-198.

80. Lopez-Gatius F, Murugavel K, Santolaria P, Yaniz J, Lopez-Bejar M. Effects of presynchronization during the preservice period on subsequent ovarian activity in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 2003;60:545-552.
81. Lucy MC, Collier RJ, Kitchell MI, Dibner JJ, Hauser SD, Krivi GG. Immunohistochemical and nucleic acid analysis of somatotropin receptor populations in the bovine ovary. *Biol Reprod* 1993;48:1219-1227.
82. Lucy MC, Thatcher WW, Collier RJ, Simmen FA, Ko Y, Savio JD, Badinga L. Effects of somatotropin on the conceptus, uterus, and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. *Dom Anim Endocrinol* 1995;12:73-82.
83. Lucy MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end? *J Dairy Sci*. 2001;84:1277-1293.
84. Macmillan KL, Day AM. Prostaglandin F_{2α} – A fertility drug in dairy cattle?. *Theriogenology* 1982;18:245-253.
85. Makarevich A.V. Sirotkin A.V. The involvement of the GH/IGF-I axis in the regulation of secretory activity by bovine oviduct epithelial cells. 1997;48:197-207
86. Mamluk R, Chen D, Greber Y, Davis JS, Meidan R. Characterization of messenger ribonucleic acid expression for prostaglandin F₂ alpha and luteinizing hormone receptors in various bovine luteal cell types. *Biol Reprod*. 1998 Mar;58(3):849-56.
87. Mann GE, Lamming GE, Robinson RS, Wathes DC. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J Reprod Fertil* 1999;54(Suppl):317-28.
88. Mann GE, Payne JH, Lamming GE. Hormonal regulation of oxytocin-induced prostaglandin F(2alpha) secretion by the bovine and ovine uterus in vivo. *Domest Anim Endocrinol*. 2001;21:127-141.
89. Mann GE. Hormone control of prostaglandin F(2 alpha) production and oxytocin receptor concentrations in bovine endometrium in explant culture. *Domest Anim Endocrinol*. 2001;20:217-226.
90. Matsui M, Takahashi Y, Hishiunuma M, Kanagawa H. Stimulation of the development of bovine embryos by insulin and insulin-like growth factor (IGF-I) is mediated through the IGF-I receptor. *Theriogenology* 1997;48:605-616.

91. McArdle CA, Holtorf AP. Oxytocin and progesterone release from bovine corpus luteal cells in culture: Effects of insulin-like growth factor I, insulin, and prostaglandins. *Endocrinology* 1989;124:1278–1286.
92. McClary DG, Putnam MR, Wright JC, Sartin Jr. JL. Effect of early postpartum treatment with prostaglandin F_{2α} on subsequent fertility in the dairy cow. *Theriogenology* 1989;31:565-570.
93. McCracken JA, Custer EE, Lamsa JC. Luteolysis: A neuroendocrine-mediated event. *Physiol Rev.* 1999;79:263-323.
94. McGuire MA, Vicini JL, Bauman DE, Veenhuizen JJ. Insulin-like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation. *J. Anim Sci.* 1992;70:2901-2910.
95. McGuire, WJ, Juengel JL, Niswender GD. Protein kinase C second messenger system mediates the antisteroidogenic effects of prostaglandin F₂ alpha in the ovine corpus luteum in vivo. *Biol Reprod* 1994;51:800–806.
96. McIntosh DA, Lewis JA, Hammond D. Conception rates in dairy cattle treated with cloprostenol and inseminated at observed oestrus. *Vet Rec.* 1984;115:129-130.
97. McMahan CD, Chapin LT, Lookingland KJ, Tucker HA. Stimulation of dopamine D₁ receptors increases activity of periventricular somatostatin neurons and suppresses concentrations of growth hormone. *Domest Anim Endocrinol* 1998;15:257-265.
98. McMahan CD, Radcliff RP, Lookingland KJ, Tucker HA. Neuroregulation of growth hormone secretion in domestic animals. *Domest Anim Endocrinol.* 2001;20:65-87.
99. Meidan R, Levy N. Endothelin-1 receptors and biosynthesis in the corpus luteum: Molecular and physiological implications. *Domest Anim Endocrinol.* 2002;23:287-298.
100. Mendoza MG. Efecto de una dosis de 500 mg de somatotropina bovina recombinante (rbST) en la fertilidad de vacas Holstein al primer servicio y repetidoras. (Tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2000.
101. Morales RS. Efecto de un tratamiento corto de somatotropina bovina sobre niveles hormonales, actividad ovárica y desarrollo embrionario en hembras Holstein. (Tesis

- de doctorado). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2000.
102. Morales-Roura JS, Zarco L, Hernández-Cerón J, Rodríguez G. Effect of short-term treatment with bovine somatotropin at estrus on conception rate and luteal function of repeat-breeding dairy cows. *Theriogenology* 2001;55:1831-1841.
 103. Morbeck DE, Britt JH, McDaniel BT. Relationships among milk yield metabolism and reproductive performance of primiparous Holstein cows treated with somatotropin. *J Dairy Sci* 1991;74:2153-2164.
 104. Moreira F, Bandinga L, Burnley C, Thatcher WW. Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. *Theriogenology* 2002a;57:1371-1387.
 105. Moreira F, Paula-Lopes FF, Hansen PJ, Bandinga L, Thatcher WW. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor on development of *in vitro* derived bovine embryos. *Theriogenology* 2002b;57:895-907.
 106. Moreira F, Orlandi C, Risco CA, Mattos R, Lopes F, Thatcher WW. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2001;84:1646-1659.
 107. Moreira F, Risco CA, Pirest MFA, Ambrose JD, Drost M, Thatcher WW. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *J Dairy Sci* 2000a;83:1237-1247.
 108. Moreira F, De la Sota RL, Díaz T, Thatcher WW. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 2000b;78:1568–1576.
 109. Morrow DA, Roberts SJ, McEntee K. Postpartum ovarian activity and involution of the uterus and cervix in dairy cattle. I. Ovarian activity. *Cornell Vet.* 1969;59:173.
 110. Morton JM, Allen JD, Harris DJ, Miller GT. Failure of a single postpartum prostaglandin treatment to improve the reproductive performance of dairy cows. *Aust Vet J.* 1992;69:158-160.

111. Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson VM, McIntush EW. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiological Reviews* 2000;80:1-29.
112. O'Shea JD, Rodgers RJ, D'Occhio MJ. Cellular composition of the cyclic corpus luteum of the cow. *J Reprod Fertil* 1989;85:483-487.
113. Okuda K, Miyamoto Y, Skarzynski DJ. Regulation of endometrial prostaglandin F(2alpha) synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. *Domest Anim Endocrinol.* 2002;23:255-264.
114. Opsomer G, Gröhn YT, Hertl J, Coryn M, Deluyker H, Dekruft A. Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: A field study. *Theriogenology* 2000;53:841-857.
115. Orozco L, Velázquez M, García A. Disminución de los días abiertos en el ganado lechero que presenta metritis mediante la aplicación de estrógenos o prostaglandinas a los 30 días posparto. XVI Congreso nacional de Buiatría. Veracruz (Veracruz) México, Asociación de médicos veterinarios especialistas en bovinos, AC., 1991:21-25.
116. Pancarci SM, Jordan ER, Risco CA, Schouten MJ, Lopes FL, Moreira F, Thatcher WW. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2002;85:122-131.
117. Pate JL. Cellular components involved in luteolysis. *J Anim Sci.* 1994;72:1884-1890.
118. Perks CM, Peters AR, Wathes DC. Follicular and luteal expression of insulin-like growth factor I and II and the type IIGF receptor in the bovine ovary. *J Reprod Fert* 1999;116:157-165.
119. Pescador N, Stocco DM, Murphy BD. Growth factor modulation of steroidogenic acute regulatory protein and luteinization in the pig ovary. *Biol Reprod* 1999;60:1453-1461.
120. Peters AR, Ward SJ, Warren MJ, Gordon PJ, Mann GE, Webb R. Ovarian and hormonal responses of cows to treatment with an analogue of gonadotrophin releasing hormone and prostaglandin F₂ alpha. *Vet Rec.* 1999;144:343-346.

121. Peters MW, Pursley JR. Fertility of lactating dairy cows treated with Ovsynch after presynchronization injections of PGF₂ alpha and GnRH. *J Dairy Sci.* 2002;85:2403-2406.
122. Pierotti AR, Harmer AJ. Multiple forms of somatostatin-like immunoreactivity in the hypothalamus and amygdala of the rat: Selective localization of somatostatin-28 in the median eminence. *J Endocrinol* 1985;105:383-389.
123. Pulido A, Zarco L, Galina CS, Murcia C, Flores G, Posadas E. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology* 1991;35:965-975.
124. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH *Theriogenology* 1995;44:915-923 .
125. Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Garverick HA, Anderson LL. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci.* 1997;80:295-300.
126. Risco CA. Postpartum use of PGF_{2α} and GnRH in dairy cattle. *Memorias del séptimo curso internacional de reproducción bovina, DF (México) México, 1997 mayo 19-22, Academia de investigación en biología de la Reproducción.* 1997;18-27.
127. Robinson RS, Mann GE, Gadd TS, Lamming GE, Wathes JC. The expression of the IGF system in the bovine uterus throughout the oestrous cycle and early pregnancy. *J Endocrinol* 2000;165:231-243.
128. Roche JF, Mackey D, Diskin MD. Reproductive management of postpartum cows. *Anim Reprod Sci.* 2000;60-61:703-712.
129. Rodríguez TGR. Efecto de la administración de somatotropina bovina recombinante (rbST) los días 3 y 17 postinseminación sobre la fertilidad y la función del cuerpo lúteo en vacas Holstein de primer servicio y repetidoras. (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1999.
130. SAS[®] User's Guide: Statistics, Version 5 Edition. SAS Inst., Inc. Cary, NC. 1985.
131. Sauerwein H, Miyamoto A, Günther J, Meyer HHD, Schams D. Binding and action of insulin-like growth factors and insulin in bovine luteal tissue during the oestrous cycle. *J Reprod Fert* 1992;96:103-115.

132. Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF. Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *J Reprod Fertil.* 1990;88:569-579.
133. Schams D, Berisha B, Kosmann MR, Amselgruber W. Expression and localization of IGF family members in bovine antral follicles during final growth and in luteal tissue during different stages of estrous cycle and pregnancy. *Domest Anim Endocrinol* 2002;22:51-72.
134. Schams D, Berisha B, Kosmann MR, Einspanier R, Amselgruber W. Possible role of growth hormone, IGFs, and IGF-binding proteins in the regulation of ovarian function in large farm animals. *Domest Anim Endocrinol* 1999;17:279-85.
135. Schuster VL. Prostaglandin transport. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2002;68-69:633-647.
136. Senatore EM, Butler WR, Oltenacu PA. Relationships between energy balance and post-partum ovarian activity and fertility in first lactation dairy cows. *Animal Science.* 1996;62:17-23.
137. Sheldon IM, Noakes DE, Dobson H. Effect of the regressing corpus luteum of pregnancy on ovarian folliculogenesis after parturition in cattle. *Biol Reprod.* 2002;66:266-271.
138. Sheldon IM, Noakes DE, Dobson H. The influence of ovarian activity and uterine involution determined by ultrasonography on subsequent reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology.* 2000;54:409-419.
139. Silvia WJ, Lewis GS, McCracken JA, Thatcher WW, Wilson L Jr. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F₂ alpha during luteolysis in ruminants. *Biol Reprod.* 1991;45:655-663.
140. Sirotkin AV, Makarevich AV, Kwon HB, Kotwica J. Involvement of MAP kinase in the mediation of GH action on ovarian granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol.* 2003;205:193-199.
141. Schofield SA, Kitwood SE, Phillips CJC. The Effects of a post partum injection of prostaglandin F₂ alpha on return to oestrus and pregnancy rates in dairy cows. *The Veterinary Journal* 1999;157:172-177.

142. Spicer LJ, Echternkamp SE. The ovarian Insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Dom Anim Endocrinol* 1995;12:223-245.
143. Sreenan JM, Diskin MG, Morris DG. Embryo survival rate in cattle: A major limitation to the achievement of high fertility. In Diskin MG editor. *Fertility in the high-producing dairy cows*. Edinburgh: British Society of Animal Science. Occasional Publication, 2001;No 26 Vol 1 :93-104.
144. Stanisiewski EP, McAllister JF, Ash KA, Taylor VN, Kratzer DD, Lauderdale JW. Production performance of dairy cattle administered recombinantly derived bovine somatotropin (USAN, Somavubove) daily: a dose range study. *Domest Anim Endocrinol* 1994;3:239-260.
145. Staples CR, Thatcher WW, Clark JH. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *J Dairy Sci*. 1990;73:938-947.
146. Steel RG, Torrie JH. *Principles and procedures of statistics. A biometrical approach*. 2da Edición, Edit. McGraw-Hill, New York,USA, 1980.
147. Steffan J, Adriamanga S, Thibier M. Treatment of metritis with antibiotics or prostaglandin F_{2α} and influence of ovarian cyclicity in dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 1984;45:1091–1094.
148. Talavera F, Menon KM. Studies on rat luteal cell response to insulin-like growth factor I (IGF-I): Identification of a specific cell membrane receptor for IGF-I in the luteinized rat ovary. *Endocrinology* 1991;129:1340–1346.
149. Taponen J, Kulcsar M, Katila T, Katai L, Huszenicza G, Rodriguez-Martinez H. Short estrous cycles and estrous signs after premature ovulations induced with cloprostenol and gonadotropin-releasing hormone in cyclic dairy cows. *Theriogenology*. 2002;58:1291-1302.
150. Tenhagen BA, Drillich M, Heuwieser W. Synchronization of lactating dairy cows with prostaglandin F₂ alpha: Insemination on observed oestrus versus timed artificial insemination. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*. 2000;47:577-584.

151. Thatcher WW, de la Sota RL, Schmitt EJ, Diaz TC, Badinga L, Simmen FA, Staples CR, Drost M. Control and management of ovarian follicles in cattle to optimize fertility. *Reprod Fertil Dev.* 1996;8:203-217.
152. Thatcher WW, Staples CR, Danet-Desnoyers G, Oldick B, Schmitt EP. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *J Anim Sci* 1994;72(Suppl 3):16-30.
153. Thatcher WW, Wilcox CJ. Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. *J Dairy Sci.* 1973;56:608-610.
154. Thomas GB, Scott CJ, Cummins JT, Clarke IJ. Adrenergic regulation of growth hormone secretion in the ewe. *Domest Anim Endocrinol* 1994;11:187-195.
155. Ui M, Shimonaka M, Shimasaki S, Ling N. An Insulin-like growth factor-binding protein in ovarian follicular fluid blocks follicle-stimulating hormone-stimulated steroid production by ovarian granulosa cells. *Endocrinol* 1989;125:912-916.
156. Vasconcelos JL, Silcox RW, Rosa GJ, Pursley JR, Wiltbank MC. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology.* 1999;52:1067-1078.
157. Villa-Godoy A, Ireland JJ, Wortman JA, Ames NK, Hughes TL, Fogwell RL. Effect of ovarian follicles on luteal regression in heifers. *J Anim Sci.* 1985;60:519-527.
158. Wathes DC, Taylor VJ, Cheng Z, Mann GE. Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reprod Suppl.* 2003;61:219-237.
159. Weaver LD. Reproductive health programs. Large dairy herd management. American Dairy Science Association. IL USA. 1992:99.
160. Whisnant CS, Washburn SP, Farin PW. Current concept in synchronization of estrus and ovulation of dairy cows. *Proc Am Soc Anim Sci* 1999;1-8.
161. Williams GL. Management of postpartum reproduction in the suckled beef cows. *Memorias del IX curso internacional de reproducción bovina, 2002 mayo 22-24, D.F. (México) México, Facultad de medicina veterinaria y Zootecnia –UNAM, División de educación continua, Departamento de Reproducción, 2002:1-5.*

162. Wilmut I, Sales D.L., Ashworth C.J. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *J Reprod Fertil* 1986;76:851-864.
163. Wiltbank MC, Gumen A, Sartori R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*. 2002;57:21-52.
164. Yavas Y, Walton JS. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: A review. *Theriogenology* 2000a;54:1-23.
165. Yavas Y, Walton JS. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology*. 2000b;54:25-55.
166. Young IM, Anderson DB. Improved reproductive performance from dairy cows treated with dinoprost tromethamine soon after calving. *Theriogenology* 1986;26:199-208.
167. Young, I. M. Anderson, D. B. Plenderleith, R. W. J Increased conception rate in dairy cows after early post partum administration of prostaglandin F₂ THAM. *Vet Rec* 1984;115:429-431.
168. Yung MC, VandeHaar MJ, Fogwell RL, Sharma BK. Effect of energy balance and somatotropin on insulin-like growth factor I in serum and on weight and progesterone of corpus luteum in heifers. *J Anim Sci*. 1996;74:2239-2244.
169. Zarco L. Eficacia y precisión en la detección de estros en la vaca lechera. *Memorias del XXVII congreso nacional de Buiatría; 2003 Junio 12-14; Villahermosa (Tabasco) México; México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2003:44-52.*
170. Zavy MT. Embryonic mortality in cattle. In: Zavy MT, Geisert RD editors. *Embryonic mortality in domestic species*. Boca Raton (FL):CRC Press, 1994:99-140.
171. Zhou J, Kumar TR, Matzuk MM, Bondy C. Insulin-like growth factor I regulates gonadotropin responsiveness in the murine ovary. *Mol Endocrinol* 1997;11:1924–1933
172. Zollers Jr. WG, Garverick HA, Smith MF, Moffatt RJ, Salfen BE, Youngquist RS. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle. *J Reprod Fertil*. 1993;97:329-337.

173. Zollers WG Jr, Garverick HA, Smith MF. Oxytocin-induced release of prostaglandin F₂ alpha in postpartum beef cows: comparison of short versus normal luteal phases. Biol Reprod. 1989;41:262-267.

*“Una vez que la Ciencia ha hablado,
solo queda callar”*
Julio Verne