



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

**“EFECTO DE LA INDUCCIÓN DE LA LACTACIÓN EN
VACAS HOSTEIN FRIESIAN OVARIECTOMIZADAS Y
COMPLETAS”**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS

PRESENTA

GRISELDA VALDEZ MAGAÑA

TUTOR: Dr. EVERARDO GONZÁLEZ PADILLA.

COMITÉ TUTORAL: Dr. JOSÉ LUIS ROMANO MUÑOZ
Dr. ALEJANDRO VILLA GODOY

MÉXICO, D.F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

DEDICATORIA

A tí papá Tomás Valdes Monroyt

Que siempre te siento a mi lado,
Por hacerme parte de tú sueño de formar una bonita familia.
Estoy orgullosa de haber tenido un papá y amigo como tú, Te amo!

A mi mamá, María Magaña Chavez
A mis hermanas Gabi, Ceci, Elvia, Maye
A Valeria

Sé que somos un buen equipo, gracias por apoyarme, por los buenos momentos que hemos compartido juntas

...las quiero mucho!!!!

A Alejandro Contreras por ser parte de mi vida...

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor, Dr. Everardo González Padilla por su buena disposición y consejos en beneficio a mi formación profesional.

A mi comité tutorial Dr. Alejandro Villa Godoy, por incorporarme a este proyecto; Dr. José Luis Romano Muñoz, Dr. Eugenio Villagomez y Dr. Joel Hernández por su tiempo dedicado a la revisión de esta tesis y sugerencias hechas a este trabajo.

Al Departamento de Reproducción, a todos los profesores por sus enseñanzas y su amistad.

Al Dr. Javier Valencia por su valiosa colaboración y estar al pendiente de mi trabajo.

A mis compañeros y amigos del Departamento de Reproducción: Amigo Tyson, Ramón (¡mil gracias por tu apoyo y buena disposición!), Alvaro, Nico, Susi, Toño, Lucy, Arantza y Clara por su amistad y colaboración.

A todos aquellos que de alguna forma me ayudaron a realizar este trabajo.

A la **FMVZ** y a la **UNAM** por brindarme la oportunidad de seguir estudiando.

A **CONACYT** por la beca otorgada, hizo posible mis estudios de Posgrado.

A los Laboratorios **Pfizer**, México S.A. de C.V., **Fort Dodge Animal Health**, S. de RL. de C.V. Laboratorio **Elanco**; porque me apoyaron con los productos farmacéuticos necesarios para realizar mi Trabajo Experimental.

AI PROYECTO **PAPIIT IN228003**.

A la vida...

DECLARACIÓN

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado o Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que esta tesis esté disponible para cualquier intercambio bibliotecario.

Griselda Valdez Magaña, MVZ

RESUMEN

VALDEZ-MAGAÑA GRISELDA. **EFFECTO DE LA INDUCCION DE LA LACTACION EN VACAS HOSTEIN FRIESIAN OVARIECTOMIZADAS Y COMPLETAS** (Bajo la dirección de: Dr. Everardo González Padilla).

La inducción de la lactación es considerada como una alternativa para rescatar aquellos animales con potencial genético para la producción láctea pero que no han quedado gestantes, sin embargo un problema no resuelto en los animales con inducción de la lactación es la manifestación irregular de celo, en algunos casos ninfomanía y/o la formación de quistes ováricos (QF). El objetivo del siguiente trabajo fue de evaluar el efecto de la inducción de la lactación y verificar si el comportamiento de celo durante y post-tratamiento inductor (TX) esta mediado por la presencia de ovarios. Se utilizaron 10 vacas Holstein, 5 ovariectomizadas (OVX) y 5 completas (N). El TX consistió en la aplicación de: a) del día 1 al día 7, 375 mg/día de Progesterona ² IM y 30 mg/día de cipionato de estradiol³ IM.; b) los días 8 al 14, una inyección diaria de cipionato de estradiol (15 mg/día); c) los días 15 al 17 los animales permanecen sin tratar; d) Los días 18, 19 y 20, se aplicó 2.5 mg de Flumetasona⁴; e) los días 1, 7, 14 y 21 Somatotropina bovina-zinc⁵ (bST), 500 mg/dosis subcutánea en el pliegue anocaudal; y f) El día 21 se inició la lactación y cada 14 días bST. El mayor número de montas de manera persistente e intermitente se presentó después de la aplicación de estrógenos, del día 8 de TX al día 14 de lactación ($P > 0.05$). La concentración de estrógenos durante TX fue de 261 ± 116.09 pg/ml para OVX y 272.90 ± 93.56 pg/ml en N ($P > 0.05$), iniciada lactación la concentración de estrógenos disminuyó a 100 pg/ml y fue menor a 50pg/ml después del día 15 de lactancia. La concentración de progesterona durante TX fue de 3.45 ± 4.54 en OVX y 3.64 ± 3.72 ng/ml para N, iniciada lactación la concentración de progesterona fue menor a 1 ng/ml. La concentración de LH fue mayor en OVX ($P < 0.05$). La producción de leche en primeros 60 días de Lactación fue de 8.02 ± 0.47 litros/día para OVX y 8.7 ± 0.47 litros/día en N ($P = 0.264$); con efecto de semana ($P = 0.055$). La composición de

leche fue de: Proteína 3.23 ± 0.27 y 3.25 ± 0.3 ; Grasa 4.8 ± 0.37 y 4.8 ± 0.27 y Lactosa 4.5 ± 0.10 y 4.8 ± 0.6 ($P < 0.05$); para OVX y N respectivamente. En la observación ultrasonográfica de los ovarios, hubo regresión de estructuras ovaricas durante TX y persistió la presencia de 25 a 30 folículos ≤ 5 mm hasta el día 35 de Lactancia. Todas las vacas desarrollaron QF; 3 de 5 vacas lo resolvieron de manera espontánea y ovularon los días 33, 39 y 47 de lactación; en las otras se administró GnRH después de 50 días de lactación. Se concluye que la manifestación de estro durante y post-tratamiento esta mediada por los componentes del Tratamiento inductor a la lactación sin participación de los ovarios.

Palabras clave: Bovinos, Inducción, lactación, ovariectomizadas, estro.

ABSTRACT

VALDEZ MAGAÑA GRISELDA. **EFFECT OF LACTATION INDUCTION IN OVARIECTOMIZED AND NORMAL HOLSTEIN FRIESIAN COWS.** Directed by: Everardo González Padilla.

The lactation induction (LI) is considered to be an alternative to rescue those animals with genetic potential for the milk production but that have not stayed pregnant, nevertheless a problem not solved in the animals with LI is the permanent manifestation of estrous behavior, in some cases nymphomania and/or the formation of ovarian cysts (OC). The aim of this study was to evaluate the effect of LI and verifying if the behavior of estrous during and instigating post-treatment is half-full for the presence of ovaries. 10 cows Holstein Friesian were used, 5 ovariectomized (OVX) and 5 normal (N). The treatment consisted of the application of: a) from the 1st day until the 7th, 375 mg/day of Progesterone IM and 30 mg/day of estradiol cypionate (15 mg/day); c) on the 15th day to 17 the animals remain without treating; d) on The 18th, 19 and 20 day, 2.5 mg of Flumetasone; e) on the 1st, 7, 14 and 21 day bovine Somatotropine - zinc (bST), 500 mg/dose SC; and f) On The 21st day the milking (M) began and every 14 days repeats the application of bST. The number of mounts of a persistent and intermittent way appeared after the application of estrogen, from the 8th of treatment until the 14th day of L ($P > 0.05$). The estradiol concentration (EC) during treatment was 261 ± 116.09 pg/ml for OVX and 272.90 ± 93.56 pg/ml in N ($P > 0.05$), initiated L the EC reduce to 100 pg/ml and it was less to 50pg/ml after the 15th of L. The progesterone concentration (PC) during treatment was 3.45 ± 4.54 in OVX and 3.64 ± 3.72 ng/ml for N, initiated the L the PC was under 1 ng/ml. The concentration of LH was greater in OVX ($P < 0.05$). The production of milk in the first 60 days of L was 8.02 ± 0.47 liters / day for OVX and 8.7 ± 0.47 liters / day in N ($P = 0.264$); with the week effect ($P = 0.055$). The milk composition was: Protein 3.23 ± 0.27 and 3.25 ± 0.3 ; Fat 4.8 ± 0.37 and 4.8 ± 0.27 and Lactose 4.5 ± 0.10 and 4.8 ± 0.6 (P

<0.05); for OVX and N respectively. In the ultrasound (US) evaluation of the ovaries, there was regression of ovarian structures during treatment and the presence persisted from 25 to 30 follicles \leq 5 mm until the 35th of Lactation. All the cows developed OC; 3 of 5 cows solved it in a spontaneous way and ovulated on the 33, 39 and 47 day of L; the rest were treated with a GnRH injection after 50 days of lactation. It can be conclude that the manifestation of estrous behavior during and after the treatment it is mediated by the components of the treatment of lactation induction without participation of the ovaries.

Keywords: Bovine, Induction, Lactation, Estrous, Ovariectomized

CONTENIDO

	Pág.
INDICE DE CUADROS Y FIGURAS.....	VI
RESUMEN.....	VII
SUMMARY.....	IX
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISION DE LITERATURA.....	8
2.1 Ciclo estral.....	8
2.2 Quistes Foliculares.....	14
2.3 Hormonas usadas para inducir la lactación.....	19
2.3.1 Progesterona.....	19
2.3.2 Estradiol.....	23
2.3.3 Corticosteroides.....	25
2.3.4 Somatotropina.....	27
3. HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	32
4. MATERIAL Y METODOS.....	33
5. RESULTADOS.....	37
6. DISCUSIÓN.....	52
7. CONCLUSIONES.....	60
8. LITERATURA CITADA.....	61

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	Pág.
Cuadro 1. Cantidad semanal de número total de montas durante seis horas de observación (4 h en a.m y 2 h en p.m) en 21 días que duró el tratamiento inductor (TX) de la lactación y los primeros 50 días de lactancia (LACT) en 5 vacas Holstein Friesian ovariectomizadas y 5 completas nd .	40
Cuadro 2. Concentraciones de estradiol en suero de vacas Holstein Ovariectomizadas (OVX) y Completas (COMPL) durante el tratamiento inductor a la lactación (TX) y primeros sesenta días de lactancia (LACT).	46
Cuadro 3. Concentraciones de Progesterona en suero de vacas Holstein Ovariectomizadas y Completas (COMPL) Inducidas a la lactación.	47
Cuadro 4. Concentraciones de LH en suero de vacas Holstein Friesian Ovariectomizadas (OVX) y Completas (COMPL) Inducidas a la Lactación.	48
Figura 1. Número de montas detectadas durante seis horas de observación (4 h en a.m y 2 h en p.m) en 21 días que duro el tratamiento inductor de la lactación y en primeros 50 días de lactancia en vacas Holstein Friesian ovariectomizadas (OVX) y completas	41

(COMPL) ^{nd.}

Figura 2. Diámetro promedio diario del Folículo Mayor (DFM) en vacas Holstein Friesian durante el tratamiento inductor a la lactación y los primeros 60 días de lactación. **42**

Figura 3. Número de folículos de diferentes tamaños en vacas Holstein Friesian durante el Tratamiento Inductor a la Lactación y primeros 60 días de lactancia. **43**

Figura 4. Presentación y duración de quistes foliculares en vacas Holstein inducidas a la lactación y concentración sérica de estradiol. **44**

Figura 5. Relación entre las concentraciones de Progesterona, Estradiol y LH, en vacas Holstein Friesian Ovariectomizadas (OVX) y Completas (COMP) Inducidas a la Lactación. **49**

Figura 6. Producción diaria de leche en vacas Holstein Friesian Ovariectomizadas (OVX) y Completas (COMPL) Inducidas a la Lactación. **51**

Figura 7. Composición de leche en los primeros 60 días de lactancia inducida en vacas Holstein Friesian Ovariectomizadas (OVX) y Completas (COMPL). **58**

Capítulo 1.

INTRODUCCIÓN

Generalmente se asume que el único método normal para la presentación de la lactación es aquel inducido por la gestación, seguida por el parto y el amamantamiento. Desde hace muchos años, se ha intentado el desarrollo artificial de la glándula mamaria, equivalente al obtenido después de la gestación y parto (Meites *et al.*, 1944).

La combinación de estrógenos y progesterona son requeridos para el desarrollo lóbulo-alveolar de la glándula mamaria (Tucker, 2000). Los esteroides afectan el desarrollo de la glándula mamaria de dos maneras: primero liberando prolactina y probablemente otras hormonas de la hipófisis anterior, y segundo actuando directamente sobre el parénquima mamario aumentando el número de receptores a prolactina (Chew *et al.*, 1979, Tucker, 2000).

La progesterona suprime la habilidad de la prolactina al reducir su número de receptores en la glándula mamaria, además la progesterona bloquea los receptores a glucocorticoides en el tejido mamario, lo que puede suprimir la actividad lactogénica de los glucocorticoides. A pesar de que la progesterona inhibe el inicio de la lactación, una vez que esta se establece, la administración de progesterona no tiene efecto sobre la producción de leche (Tucker, 2000).

Durante la lactogénesis normal, las concentraciones de progesterona en el plasma sanguíneo disminuyen y las concentraciones de estradiol aumentan dramáticamente durante las últimas semanas de la gestación antes del parto.

Con el uso de hormonas exógenas es posible simular los cambios hormonales que ocurren al final de una gestación, en el parto, y promover con ello el desarrollo mamario, con lo que, posteriormente se puede inducir una lactación en vacas y vaquillas que no estuvieron gestantes. Esta técnica se ha considerado como una alternativa para reducir los costos de reemplazar a vacas y vaquillas por fallas reproductivas.

Las técnicas para inducir artificialmente la lactación en vacas y vaquillas lecheras, que no se encuentran gestantes ni en lactación, han sido intentadas desde hace más de 60 años (Hancock, *et al.*, 1944; Hammond *et al.*, 1944; Meites, 1961).

Hacia 1931 se aceptaba de una manera general, que tanto el desarrollo mamario como la lactación eran regulados por hormonas ováricas y de la hipófisis, al detectar que estos eventos se asociaban con una variedad de hormonas características de la preñez y parto: secreción de progesterona por el cuerpo lúteo, aumento en las concentraciones de estrógenos sanguíneos al final de la gestación y varias hormonas desconocidas tanto de la hipófisis como de placenta (Pérez *et al.*, 1978).

Folley *et al.* (1944) para inducir la lactancia administró a vacas vacías 800 mg de dietil-etil-bestrol en implantes subcutáneos; reportaron secreción de calostro al inicio de la lactación y obtuvieron producciones entre 7.4 y 19.8 lt/d en 165 a 452 días de lactación con porcentajes de grasa, calcio y fósforo similares a las de un parto normal. Sud (1968) determinó diferentes combinaciones de estradiol y de progesterona necesarias para producir un óptimo desarrollo de la glándula mamaria bajo un modelo de vacas ovariectomizadas, sin encontrar producción láctea. Posteriormente, Sud en 1972 indujo la lactación en vacas ovariectomizadas y completas utilizando acetato 9-fluoroprednisolona en dosis bajas y altas, obteniendo mejores producciones lácteas con el uso de bajas dosis.

En general los estudios anteriores involucraron la administración de hormonas en periodos muy largos (hasta 180 d) y con éxito muy variable en cuanto a la producción de leche en animales tratados. Sin embargo, en la década de los 70's Smith y Schanbacher (1970) establecieron un método para inducir la lactación incluyendo 0.1mg/kg de 17 β -estradiol y 0.25 mg/kg progesterona durante 7 días y obtuvieron respuestas en producción entre el 60 y 70 % de lo obtenido en una producción de leche normal. Posteriormente, con base en estos resultados otros investigadores realizaron modificaciones a este protocolo ampliando la duración del tratamiento (Sawyer *et al.*, 1986) o aumentando la dosis de la administración de hormonas, teniendo en algunos casos mejores resultados (Smith *et al.*, 1975; Erb *et al.*, 1976; Harness *et al.*, 1978; Peel *et al.*, 1978).

Otros investigadores trabajaron incluyendo la administración de diversos esteroides exógenos como la dexametasona y otros glucocorticoides sintéticos con el fin de replicar el aumento de glucocorticoides como normalmente ocurre alrededor del parto (Chakriyarat *et al.*, 1977; Fulkerson 1978; Fleming *et al.*, 1986). Collier (1975a) utilizó 10 vacas y 6 vaquillas con problemas reproductivos, y administró por 7 d 0.1 mg/kg de 17 β -estradiol y 0.25 mg/kg de progesterona disueltos en etanol y aplicados por vía subcutánea y en los días 18, 19 y 20 aplicó de 20 mg/d de dexametasona. Reportó que al comienzo de la lactación hubo la presencia de calostro; el desarrollo máximo de la glándula mamaria se alcanzó alrededor del día 14 después de iniciado el tratamiento. El objetivo de este trabajo fue obtener biopsias de tejido mamario para determinar su capacidad de biosíntesis de lactosa y de ácidos grasos. El pico máximo de producción fue a las 8 semanas de lactación con una producción máxima de 30 kg/d y en algunas vacas ayudo a que se resolvieran los problemas de fertilidad. De nueve vacas que se sirvieron mediante inseminación artificial cinco quedaron gestantes (Collier *et al.*, 1975b). En otro estudio 24 vaquillas Holstein y 5 Jersey fueron divididas en cuatro grupos y se indujeron a la lactación con diferentes dosis de estradiol y

progesterona, en adición a 20 mg de dexametasona que se aplicaron por tres y cuatro días después de la última aplicación de progesterona. Los grupos que recibieron dexametasona demostraron tener mejor desarrollo de la glándula mamaria y lactación, observándose que la leche contenía la misma cantidad de grasa, lactosa y caseína que la leche de vacas normales después del parto (Fulkerson, 1975). Con estos resultados se demostró que los glucocorticoides juegan un papel importante en el inicio de la lactogénesis en vacas inducidas artificialmente, lográndose un mayor número de animales en producción, aunque la producción láctea dependía de la constitución genética de cada animal y del grado de desarrollo de la glándula mamaria al inicio del tratamiento.

En otros trabajos con la adición de reserpina, que es un alcaloide purificado de la *rauwolfia*, con acción farmacológica primaria de hipotensor y tranquilizante y, adicionalmente, de inductor de la secreción de prolactina, hormona esencial para el inicio de la lactación. La prolactina juega un papel fundamental en el control hormonal del crecimiento de la glándula mamaria, en la galactogénesis y en el mantenimiento de la secreción láctea. Con la adición de reserpina en los tratamientos de inducción a la lactación, se pudieron imitar las concentraciones de prolactina que se encuentran en los días preparto en vacas gestantes (Taylor, 1977; Collier *et al.*, 1977; Whitmore, 1978; Lembowicz *et al.*, 1982; Dabas *et al.*, 1989), o usando como hormona liberadora de prolactina a la TRH (Tervit *et al.*, 1980). Tervit *et al.*, (1980) usaron 500 µg de TRH durante 7 días comenzando 6 días después de la última aplicación de estradiol-17β (15 mg/d por 7 días) y progesterona (37.5 mg/d por 7 días), pero no mejoró los resultados al compararlos con vacas tratadas solamente con estradiol y progesterona.

Erb (1976) estudió las concentraciones de prolactina sérica antes, durante y después del parto. En sus estudios la concentración de prolactina alcanzó 5.7 ± 7.0 ng/ml un día antes el parto, durante éste se elevó a 73.5 ± 4.6 ng/ml y un día después fue de 25.5 ± 2.5 ng/ml; estos niveles son suficientes para desencadenar

la lactación. Se menciona que el inconveniente de la aplicación de reserpina por vía intramuscular es la de provocar inflamación con pequeñas necrosis en el sitio de aplicación (Collier *et al.*, 1977; Taylor, 1977); debido a esto Whitmore (1978) la administró por vía oral obteniendo resultados con 65 al 90% de efectividad, indicando que estas lactaciones tienden a ser más largas en comparación a la normal. Peel (1978) utilizando 5 mg/kg de reserpina en los días 1, 6, 11, 16 y 21 más 7 días de progesterona y estradiol, encontró una mejoría en los resultados obtenidos en vacas y vaquillas inducidas a la lactación, disminuyendo la variabilidad de producción láctea en comparación con en vacas tratadas solamente con progesterona y estradiol.

Jewell (2002) sincronizó el ciclo estral de 26 vacas Holstein y 8 Jersey antes de aplicar el tratamiento inductor a la lactación, que consistió en dos dosis diarias durante siete días, de 0.1 mg/kg $17\text{-}\beta$ estradiol y 0.25 mg/kg de progesterona por vía subcutánea, y del día 14 al 17 administró 5 mg/d de reserpina y 20 mg/d de dexametasona; adicionalmente suministró a los animales 500 mg de rbST cada 15 días durante 150 días. Este tratamiento hizo menos variable la respuesta entre animales, con relación a otros estudios observados por Smith (1973), Collier (1975) y Chakriyarat (1978).

Se han realizado muchas modificaciones al protocolo inicial de 7 d de estrógenos y progesterona, agregando el uso de diferentes hormonas exógenas y sus combinaciones, tratando de entender los factores que provocan cambios en el desarrollo mamario. Byatt (1997) explicó el efecto del lactogéno placentario bovino recombinante en vaquillas lecheras inducidas a la lactación. Para verificar si hay un estímulo adicional sobre el crecimiento de la glándula mamaria, administró en 12 vaquillas 40 mg/d de lactogéno placentario bovino en el día 18 de iniciado el tratamiento inductor, que incluyó 0.05 mg/kg de estradiol y 0.25 mg/kg de progesterona por 7 días y 15 mg de dexametasona los días 18, 19 y 20. En este

trabajo en particular, para suprimir la secreción de prolactina, administró 40 mg de Bromocriptina en los días 0, 3, 6, 9, 12 y 15.

Son grandes los beneficios que reditúan estas técnicas de inducción de la lactación, ya que se ha reportado en vacas y vaquillas con problemas de fertilidad que después de terminado el tratamiento inductor una alta proporción retorna a una vida reproductiva normal quedando gestantes (Skarda *et al.*, 1982; Deshmukh *et al.*, 1993; Valdez *et al.*, 2002, Espinosa *et al.*, 2005).

En trabajos más recientes con el grupo de investigación de Villa-Godoy *et al.* (2003) manejando un protocolo de inducción de la lactación de 21 d con la adición de somatotropina recombinante bovina, se han obtenido producciones de leche prácticamente iguales a las vacas contemporáneas con lactancias naturales, y se han resuelto los problemas reproductivos de más del 45 % de los animales tratados (Yañez *et al.*, 2004).

De igual forma se esta trabajado en la disminución del número de inyecciones por vaca usando un dispositivo intravaginal de liberación de progesterona (CIDER) durante los primeros siete días del tratamiento inductor a la lactación, y en otro trabajo evaluar la disminución de inyecciones de estradiol aplicándolo únicamente los primeros siete días.

Sin embargo un problema no resuelto en los animales inducidos a la lactación es la manifestación permanente de celo, en algunos casos ninfomanía y la formación de quistes ováricos en algunos animales (Chacriyarat *et al.*, 1978; Dabas *et al.*, 1990; Deshmukh *et al.*, 1993; Valdez *et al.*, 2002; Espinosa *et al.*, 2004). La aplicación de progesterona i.m. a dosis de 25 mg diarios por animal durante los días 1 a 7 del inicio de la lactancia no logró suprimir los signos de conducta estral, ni mejoró el desempeño reproductivo de estos animales (Espinosa *et al.*, 2005).

Por lo anterior, el objetivo principal de este estudio fue evaluar si la conducta persistente de estro esta mediada por los ovarios. Objetivos adicionales se consideraron la evaluación de la respuesta de producción y en composición de la leche en vacas enteras u ovariectomizadas a un tratamiento que se está utilizando de manera común por los clínicos de hatos en producción intensiva de leche y evaluar los efectos del tratamiento sobre las poblaciones foliculares ováricas y el desarrollo de quistes foliculares.

Capítulo 2.

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Ciclo estral

El ciclo estral esta definido como el tiempo que transcurre entre dos periodos de estro o de receptividad sexual de la hembra bovina.

En el bovino la duración del ciclo estral es de 19 a 23 días y esta regulado por hormonas secretadas por el hipotálamo, la pituitaria, el ovario y el útero. Las diferentes concentraciones hormonales regulan los cambios en la morfología y la función de las estructuras ováricas (folículos y cuerpos lúteos) y también del tracto genital (oviducto, útero, cervix, vagina) (Rathbone *et al.*, 2001); el ciclo estral está dividido en cuatro estadíos o periodos: 1). Estro: periodo de receptividad al macho y tiene una duración de 12 a 24 h. 2) Metaestro: aquí ocurre la ovulación (10 a 12 horas del final del estro), el folículo recién ovulado forma un cuerpo hemorrágico (algunas vacas presentan sangrado metaestral) y se desarrolla el cuerpo lúteo funcional este periodo dura 4 a 5 días. 3). Diestro: cuando el cuerpo lúteo (CL) esta funcionando en su totalidad y dura alrededor de 10 a 14 días, los niveles de progesterona se mantienen arriba de 1 ng/ml, hay una dinámica de desarrollo folicular intensa, después de 12-14 días de exposición a progesterona, cuando no hay gestación, el endometrio comienza a secretar prostaglandina F₂α (PGF₂α) en un patrón luteolítico, así termina la vida del CL. 4). Proestro: dura 2 a 3 días, ocurre la regresión del cuerpo lúteo y maduración final de un folículo ovulatorio (Hernández, 1998).

Basándose en la presencia de diferentes estructuras en el ovario y en el ambiente hormonal, el ciclo estral también se divide en dos fases: 1) Fase Folicular: que abarca desde la lúteolisis a la ovulación, la estructura ovárica principal son los folículos preovulatorios y van a producir la hormona predominante, el estradiol. Aquí se incluye el Proestro y el estro (3-6 días). 2) Fase Lútea: incluye el desarrollo y mantenimiento del cuerpo lúteo (CL) que es la estructura ovárica predominante y la hormona reproductiva principal es la progesterona, esta fase es más larga que la folicular (80 % de la duración total del ciclo) y de esta depende la duración del ciclo estral (16-17 días), se incluyen los periodos de metaestro y diestro (Rathbone *et al.*, 2001).

2.1.1. ENDOCRINOLOGÍA DEL CICLO ESTRAL.

El ciclo estral es regulado por hormonas secretadas por el hipotálamo, la hipófisis, el ovario y el útero, la finalidad es producir un óvulo maduro capaz de ser fertilizado.

La secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en la hembra es controlada por dos áreas separadas en el hipotálamo; el núcleo hipotálamico ventromedial y el núcleo arcuato comprenden el centro tónico, responsable de la secreción basal de GnRH en pequeños episodios (pulsos) y estimulan la liberación de la hormona foliculo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH) de la pituitaria anterior, causando el crecimiento y desarrollo de los folículos ováricos; y el núcleo preóptico, núcleo supraóptico en el área hipotálamica anterior esta el centro de oleada que es la causante de la liberación preovulatoria del GnRH que estimula el pico de LH causando la ovulación. Este núcleo es controlado por las altas concentraciones de estradiol en ausencia de progesterona (Gaverick y Smith, 1993).

Durante el Proestro hay un folículo preovulatorio en uno de los dos ovarios, bajo la influencia de las gonadotropinas. Ya cercanos al inicio del estro, este folículo secreta grandes cantidades de estradiol, el cual actúa en el hipotálamo para promover la expresión del comportamiento sexual femenino, asegurando que la hembra sea receptiva al macho en el momento preciso en que está lista para ovular. El proestro inicia cuando los niveles sanguíneos de progesterona disminuyen como resultado de la luteolisis, a $< 1\text{ ng/ml}$, e incrementa la pulsatilidad de LH y estradiol, debido a que termina la retroalimentación negativa que ejercía la progesterona (Stumpf *et al.*, 1989; Bearden y Fuquay, 2000;).

La LH y FSH son liberadas simultáneamente cerca del inicio del estro, debido al incremento en las concentraciones de estradiol en el periodo preovulatorio, mediante retroalimentación positiva hacia el hipotálamo, dos o tres días después de la caída de progesterona (Hansel y Convey, 1983). La secreción preovulatoria de LH lleva a la maduración final del folículo ovulatorio. Así, entre el inicio del estro y pico de LH transcurren entre 2 a 6 h o en algunos casos estos dos eventos ocurren simultáneamente, y la ovulación ocurre de 24 a 30 horas después del pico preovulatorio de LH (Hernández, 1998).

La sensibilidad de la hipófisis se incrementa por efecto de retroalimentación positiva de la GnRH sobre sus propios receptores incrementando la frecuencia de los pulsos. El aumento en los niveles de estradiol, favorecen la formación de receptores ováricos para FSH y LH (Bearden y Fuquay, 2000) y al tracto reproductivo lo prepara para la copulación y el transporte de espermatozoides para el sitio de fertilización. Los genitales externos se edematizan y hay producción de moco cervical (Hernández, 1999). Se manifiestan las características del comportamiento que son indicativas de la receptividad sexual, están incluidas: el incremento de locomoción, fonación (expresión vocal), nerviosismo, intentos de monta o monta a otros animales, postura de lordosis (Hernández, 1998; Rathbone *et al.*, 2001).

Después de la ovulación ocurre la formación del CL, dos a cuatro días después de la ovulación los niveles de progesterona se incrementan (>1ng/ml) iniciando el diestro. La LH incrementa el flujo sanguíneo hacia el CL estimulando la formación y función del CL, junto con otras hormonas (Hernández, 1999; Roche *et al.*, 2000).

Durante el metaestro, periodo entre la ovulación y la formación de un cuerpo lúteo funcional, se presenta el segundo pico de secreción de FSH que mantiene una relación directa con el inicio de la primera onda y desarrollo folicular (Bearden y Fuquay, 2000). Los niveles de progesterona se incrementan (>1 ng/ml) indicando el inicio del diestro, estas concentraciones de progesterona disminuyen la liberación de LH y FSH a través de retroalimentación negativa hacia el hipotálamo y la hipófisis e inhibe la manifestación de estro (Rathbone *et al.*, 1998).

Durante la fase lútea, la LH es secretada en forma pulsátil, pero el estradiol y la progesterona juntos ejercen una inhibición sobre la liberación de LH. El estradiol solo, provocaría liberación de alta frecuencia y baja amplitud de LH, mientras que la progesterona sola provocaría la liberación de LH en baja frecuencia y alta amplitud (Kensner *et al.*, 1980).

2.1.2. FOLICULOGÉNESIS.

La fase folicular esta controlada por el hipotálamo, la pituitaria anterior y el estradiol producido por el ovario en ausencia de progesterona.

En los mamíferos, el número de folículos primordiales en los ovarios está determinado desde el nacimiento, en la vaca existen aproximadamente 150 000 folículos primordiales al nacer y este número disminuye significativamente quedando alrededor de 3 000 ovocitos cuando el animal tiene entre 15 y 20 años de edad (Webb *et al.*, 1999).

La actividad ovárica es un proceso dinámico que se manifiesta con crecimiento en un conjunto de folículos (oleadas). Ginther *et al.* (2000) reportan dos o tres oleadas de crecimiento folicular durante el ciclo estral. La dinámica de desarrollo folicular involucra eventos definidos como reclutamiento, selección, dominancia, atresia y ovulación.

Desde el punto de vista hormonal el proceso de desarrollo folicular consta de dos etapas: basal es el crecimiento del folículo hasta que alcanza 4 mm de diámetro y es independiente de las gonadotropinas. Etapa tónica, en donde los folículos tienen más de 4 mm de diámetro y son dependientes de gonadotropinas (FSH) (Roche *et al.*, 2000).

Las oleadas foliculares y los folículos antrales no solo están durante el ciclo estral también ocurren durante la pubertad, anestro y el posparto, pero aquí no hay producción de folículos dominantes que producen grandes cantidades de estradiol (Taylor, 1990).

Se ha observado que hay un incremento transitorio de FSH alrededor de 2.5 días antes de iniciar la onda de crecimiento folicular, el cual declina cuando aparece la siguiente onda folicular (Adamns *et al.*, 1992; Hamilton, 1995).

Los niveles elevados de FSH inducen un reclutamiento de un conjunto de folículos pequeños (2 a 6) de 4 a 5 mm de diámetro que son sensibles a gonadotropinas, uno de estos folículos es seleccionado (8 a 9 mm) sigue creciendo y los otros inhiben su crecimiento y se vuelven subordinados y su fin será la atresia (Halmilton *et al.*, 1995). El folículo seleccionado comienza a producir estradiol y pequeñas cantidades de inhibina, estas concentraciones se van incrementando y tienen una retroalimentación negativa con la pituitaria anterior (inhibe la liberación de FSH) por lo que bloqueará el desarrollo de los folículos que tienen necesidad de FSH (Armstrong y Webb, 1997; Rathbone,

2001). El folículo continua creciendo y durante la dominancia, el folículo produce más y más estradiol, y este estimula al centro preovulatorio y provoca la liberación del pico de LH, los niveles de FSH se reducen porque la inhibina ha suprimido su liberación y los folículos dominantes ya no requieren de FSH, pero inhiben el reclutamiento de un conjunto de nuevos folículos (Richards *et al.*, 2002). Si el folículo dominante no llega a ovular después de cierto tiempo de ejercer dominancia sufre atresia, y se inicia una nueva oleada de desarrollo folicular. Si ocurre lúteolisis, el folículo que es dominante este momento llegará a convertirse en el folículo ovulatorio (Mihm *et al.*, 2002)

Los folículos maduros contienen varios tipos de células: células de la teca, células de la granulosa y el oocito. Las células de la teca conforman la capa externa del folículo y se divide en dos tipos celulares: una capa externa fibrosa (teca externa) y una capa interna altamente vascularizada y con receptores para LH (teca interna), las células de la teca producen testosterona que se difunde a las células de la granulosa que contienen receptores para FSH, al ligarse con ellos provocan la síntesis de enzimas (aromatasa) que son las responsables de la conversión de testosterona a estradiol (Niswender *et al.*, 2000).

Los estrógenos producidos por el folículo activan el mecanismo de retroalimentación positiva sobre el eje hipotálamo-hipofisario causando la liberación de GnRH (Short *et al.*, 1988) que resulta en la secreción del pico preovulatorio de LH, lo que provoca cambios en el ovario y en el folículo, que lo dirigen a la ovulación, además de activar al ovocito a reanudar su meiosis, para que al ser liberado sea competente para ser fertilizado (Bearden y Fuquay, 2000).

Después de la ovulación, los vasos sanguíneos penetran a través de la membrana basal del folículo y las células de la granulosa comienzan a luteinizarse, sufriendo hiperplasia e hipertrofia, resultando en un cuerpo hemorrágico el cual posteriormente se transforma en un cuerpo lúteo, de esta

manera, las células de la granulosa comienzan a sintetizar progesterona (Rathbone *et al.*, 1991).

2.2 Quistes Foliculares

Los quistes foliculares son folículos anovulatorios en uno o ambos ovarios, generalmente de ≥ 2.5 cm de diámetro que persisten en el ovario por más de 10 días en ausencia de un cuerpo lúteo (Cook *et al.*, 1991; Garverick *et al.*, 1995). Pueden aparecer como únicos o múltiples.

Los ovarios quísticos son considerados como una de las fallas reproductivas más importantes en el ganado lechero (Peter *et al.*, 1997), pueden provocar grandes pérdidas económicas por un incremento en intervalo parto-concepción por 22-64 días (Borsberry y Dobson, 1989). En vacas lecheras la incidencia de los quistes foliculares ha sido reportada de 5.6 al 18% (Britt *et al.*, 1977), aunque posiblemente sea más alta, ya que el 20 al 30% de las vacas que desarrollan quistes después del primer parto se restablecen espontáneamente. Los quistes ováricos son una enfermedad que ocurre principalmente en vacas lecheras, sin embargo ocasionalmente se han detectado en vaquillas y en vacas de razas productoras de carne (Kesler *et al.*, 1979a)

Se pensaba que los quistes eran estructuras estáticas que persistían por grandes periodos, sin embargo los quistes son generalmente estructuras dinámicas, un folículo quístico puede ser remplazado por otro folículo quístico, espontáneamente recuperarse (ser reemplazado por un folículo que ovule) o ser un folículo persistente (Hamilton *et al.*, 1995). En algunos casos se ha especulado la presencia de múltiples quistes foliculares no dominantes y estos pueden sufrir atresia conforme envejecen; estas estructuras muestran concentraciones de estradiol y progesterona variables (Short *et al.*, 1962, Kaneko *et al.*, 2002).

Durante el ciclo estral bovino normalmente ocurren de dos a tres oleadas foliculares (Wilbank *et al.*, 2002). Cada oleada es precedida por un incremento transitorio de FSH y es caracterizada por el reclutamiento de dos a seis folículos de 4-5 mm de diámetro, seguida por la selección de uno de los folículos que crecerá y llegará a ser dominante, aquí se transfiere la dependencia de FSH a la de LH. El crecimiento y desarrollo folicular es un proceso integrado por señales extraováricas como las gonadotropinas y hormonas metabólicas, y de factores intraováricos (Webb *et al.*, 1999).

El diámetro de los quistes foliculares dominantes es mayor al de los folículos dominantes al igual que las concentraciones de estradiol, progesterona y androstenediona (Hamilton *et al.*, 1995). El reclutamiento de folículos pequeños que se desarrollarán como quísticos, en su crecimiento serán similares a los de folículos que ovularán, pero aquellos continuarán creciendo por largos periodos de tiempo y esto hará que el intervalo entre oleadas foliculares sea mayor en vacas con quistes que en vacas con un ciclo estral normal (Garverick *et al.*, 1988; Hamilton *et al.*, 1995).

Las hipótesis más aceptables para explicar la patogénesis de los quistes ováricos involucran una disfunción neuroendocrina del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (Bosu y Peter, 1987; Gaverick, 1997; Ribadu *et al.*, 2000). La causa primaria es una deficiencia en la liberación del pico preovulatorio de LH, o una anomalía en la liberación de esta hormona (Refsal *et al.*, 1988, Kaneko *et al.*, 2002).

Los folículos preovulatorios secretan estrógenos que causan una retroalimentación positiva en el eje hipotálamo hipófisis, responsable de la liberación de LH para la ovulación. Una anomalía en este proceso puede resultar en una inadecuada liberación de GnRH del hipotálamo. La hipófisis como respuesta a este evento es inadecuada provocando un exceso y/o inapropiado el

tiempo en la liberación de LH, por lo que vacas con quistes tienen menos habilidad a responder a una retroalimentación positiva por efectos del estradiol (Refsal *et al.*, 1988).

La disminución en los pulsos de LH puede provocar la anovulación (Ribadu *et al.*, 2000), y en vacas con quistes al no haber ovulación, continúa la estereidogénesis folicular que puede derivarse por dos caminos: en la estereidogénesis se completa hasta la aromatización y se producen grandes cantidades de estradiol dando lugar al comportamiento de estro; en el segundo; los pulsos acíclicos de LH producen hiperplasia de la teca, sintetizándose principalmente andrógenos en grandes cantidades, lo que implica un incremento de dihidrotestosterona y androstenediona; la primera no puede ser aromatizada, y la segunda se convierte en estrona, que inhibe la liberación de FSH que es uno de los estimulantes para la aromatización de los andrógenos, por lo que algunas vacas pueden presentar comportamiento de macho por exceso de andrógenos. Sin embargo en muchos trabajos se reporta que la mayoría (62 al 85%) de las vacas detectadas con ovarios quísticos se mantienen en anestro (Elmore *et al.*, 1975).

Sin embargo las concentraciones hormonales del líquido cístico no guardan relación con el comportamiento de ninfomanía o anestro de las vacas. Short (1962) no encontró relación entre los niveles de andrógenos en el fluido de ovarios quísticos y las características del comportamiento de las vacas. La concentración de testosterona en fluido folicular quístico se correlacionó negativamente con las concentraciones de 17- β estradiol en plasma y positivamente con las concentraciones de progesterona en plasma (Hernández-Ledezma *et al.*, 1982), lo que pudiera explicar la condición de anestro que se observa (Kesler *et al.*, 1982).

Poco se conoce acerca de las alteraciones de la estereidogénesis a nivel molecular, la mayoría de la información histológica y endocrina sobre quistes

foliculares se ha efectuado en material de rastro, sin conocer la historia reproductiva de los animales (Silva *et al.*, 2002). Gaverick (1997) utilizó animales en etapas predefinidas del desarrollo folicular, para medir en expresión de los ARNm que codificaban para enzimas esteroideogénicas, receptores de gonadotropinas y receptores a β -estradiol en células foliculares. En este experimento se encontró que las concentraciones elevadas de 17β -estradiol y de esteroides totales en los quistes dominantes se debían al incremento de la expresión del ARNm que codifica para el receptor a LH y la 3β HSD en las células de la granulosa.

Se ha demostrado que un incremento de secreción de LH pero no de FSH, están asociadas con el desarrollo de quistes foliculares. Un mecanismo previo asociado con el desarrollo de un quiste folicular en una vaca lechera fue una sobre estimulación del crecimiento folicular por una excesiva estimulación de FSH, sin embargo la concentración media, la frecuencia de los pulsos, amplitud y duración de FSH en suero no es diferente en vacas con quistes comparada con vacas que ovularon (Erb *et al.*, 1971; Cook *et al.*, 1991).

Otros factores que se han relacionado con el desarrollo de quistes ováricos entre los que se incluyen: la alta producción de leche (Marion *et al.*, 1968); la constitución genética de los animales. A través de selección genética, se eliminaron toros y sus hijas que desarrollaban quistes ováricos y la incidencia disminuyó, de 10.8 a 3% de 1954 a 1977 (Bane, 1968). Las endotoxinas producidas por microorganismos en el útero pueden activar la liberación de $PGF2\alpha$, que a su vez estimula la secreción de cortisol, cuyas concentraciones al elevarse, suprimen la liberación preovulatoria de LH e inducen el desarrollo de quistes.

Es bien sabido que la progesterona regula la frecuencia de los pulsos de LH (Roche *et al.*, 2000), sin embargo tiene otros efectos fisiológicos que pueden

afectar el destino de un quiste. La progesterona inhibe la síntesis de estrógenos en las células de la granulosa in vitro, sugiriendo así que la progesterona puede tener efectos directos dentro del ovario. La administración de progesterona exógena reduce los niveles basales de LH y la frecuencia de pulsos de LH y causa la regresión del folículo persistente y el inicio de un nuevo desarrollo folicular (Stock and Fortune, 1993).

En trabajos para la sincronización del celo con bajas dosis de progestágenos se provoca un incremento en la pulsatilidad de LH (Tylor *et al.*, 1993) que induce la persistencia de folículos dominantes (Sirois, 1990). Con la aplicación de 200 mg de progesterona (MGA) durante 14 días (Anderson *et al.*, 1994), el uso de dos implantes de PRID por 24 h (McDowell *et al.*, 1998) o la administración de 3 mg de norgestomet im (Mata *et al.*, 2001) se indujo la atresia del folículo dominante persistente. Con estos tratamientos se provoca un disminución de la frecuencia pulsátil de LH, lo cuál ocasiona un recambio folicular (Mata *et al.*, 2001).

El tratamiento endocrino para eliminar los quistes foliculares busca la ovulación o luteinización de éstos por medio de la administración de hormona liberadora de gonadotropinas 100 µg (GnRH), que produzca un pulso preovulatorio de LH, o bien aplicando directamente LH (25 mg) o Gonadotropina coriónica humana (5000 UI) (Romero-Ramírez *et al.*, 1995; Gaverick *et al.*, 1997).

Un método para reducir los costos por infertilidad causada por ovarios quísticos en vacas es evitar que esto ocurra. El paso más sencillo para reducir la incidencia en los casos de ovarios quísticos es utilizar sementales cuyas hijas hayan demostrado una baja incidencia del problema. Algunos investigadores recomiendan dar un seguimiento continuo en vacas posparto y administrar GnRH a las dos semanas posparto.

2.3 Hormonas usadas para inducir la lactación

2.3.1 Progesterona

La progesterona (P4) pertenece al grupo de hormonas esteroides, que son de naturaleza lípida y que se derivan del colesterol, por lo tanto son liposolubles; esto significa que pueden atravesar por membranas biológicas y actúan a través de receptores proteicos, la mayoría de ellos intranucleares o intracitoplásmicos. Los esteroides son termoestables y no se inactivan por vía oral.

El principal progestágeno natural es la progesterona, sin embargo existen una gran cantidad de progestágenos sintéticos que tienen características modificadas como la potencia o vida media en el organismo. Algunos de ellos son el Acetato de Fluorogestona (FGA), el acetato de melengestrol (MGA), el Acetato de Clormadinona (CAP), el norgestomet y el acetato de Medroxiprogesterona (MAP).

Se han descrito receptores de membrana para progesterona en el ovario y espermatozoides. Se han descrito dos tipos de receptores intracelulares: los A, asociados con los efectos en el útero y el ovario y los B, presentes y más involucrados con los efectos en la glándula mamaria.

La progesterona es el principal producto de secreción del cuerpo lúteo. La concentración sérica de progesterona depende del volumen de tejido lúteo, la tasa de flujo sanguíneo y la capacidad esteroidogénica del tejido lúteo para sintetizar P4, mientras que el volumen de tejido lúteo depende a su vez del número y tamaño de las células lúteas, las cuales incrementan conforme avanza la fase lútea, en forma paralela con la tasa de flujo sanguíneo que también se ve involucrada (Armstrong y Webb, 1997).

La acción principal de la progesterona es en el aparato reproductivo y en el eje hipotálamo–hipófisis. En el tracto reproductivo prepara al útero para la iniciación y mantenimiento de la gestación; para esto se requiere la exposición previa a la acción de los estrógenos los cuales inducen a la expresión de los receptores de progesterona (Bayliss *et al.*, 1991). En la musculatura del oviducto y del útero reduce las concentraciones, cierra el cérvix y modifica las características del moco cervical, limitando la entrada a agentes extraños al útero (Chabbert-Buffeta, 2000; Niswender, 2002). Por lo tanto una cantidad insuficiente de progesterona puede ser una causa de mortalidad embrionaria temprana (Hernández *et al.*, 1998).

La progesterona regula a la baja los receptores de estradiol y bloquea por lo tanto muchas de las acciones de los estrógenos que actúan generalmente como factores mitogénicos. Un ejemplo de los efectos antiestrogénicos de la progesterona se da en el oviducto, donde la progesterona bloquea las proteínas secretoras inducibles por el estradiol e induce la desiliación y el término de la actividad secretora del epitelio del oviducto (Niswender *et al.*, 2000).

La progesterona parece ejercer la mayoría de sus efectos por regulación directa de la transcripción de genes a través de receptores nucleares específicos que actúan como factores de transcripción inducidos por ligandos. Esos receptores modulan la expresión de los genes por unión de elementos específicos que responden a la progesterona sobre el DNA.

Progesterona en el control del ciclo estral.

La finalidad de los tratamientos con progesterona o progestágenos sintéticos es la de imitar los mecanismos endocrinos que regulan el ciclo estral para inducir el estro en determinado momento. Actúan a través de un mecanismo de retroalimentación negativa sobre la liberación de hormona luteinizante, de una manera similar a la fase lútea, esto impide que algún folículo complete su

desarrollo y ovule y retirando el fármaco los folículos completarán su desarrollo, lo que provoca el estro sincronizado. Hay tratamientos cortos que no exceden 12 días, y la regresión del cuerpo lúteo ocurre alrededor del día 18 del ciclo estral, por tal motivo al retirar el tratamiento con progestágenos con duración menor a 12 días, habrá algunas vacas que aún tengan un cuerpo lúteo que interfiera con la respuesta. Por esta razón esos tratamientos van acompañados con la administración de un agente luteolítico (estrógenos o prostaglandinas) que se aplica al inicio o al final de la administración del progestágeno. Wishart y Young (1998) estudiaron el efecto de norgestomet más valerato de estradiol sobre algunas características del ciclo estral en vaquillas y señalan que el grado de sincronía del estro y ovulación facilitan el uso de la inseminación artificial a tiempos predeterminados.

La progesterona está parcialmente involucrada en modular el largo del ciclo estral. Durante la fase folicular, la estructura endocrina dominante es el folículo y la ruta estereoidogénica que se privilegia es la síntesis de estradiol, por lo que los niveles de progesterona son bajos. Esto en el eje hipotálamo-hipofisis estimula un patrón de secreción de LH de baja amplitud y alta frecuencia, lo que lleva al folículo a la ovulación. Cuando inicia el proceso de luteogénesis, las altas concentraciones de progesterona restringen el patrón de secreción de LH a un perfil de baja frecuencia y alta amplitud, reduciendo la concentración media circulante de LH (Niswender *et al.*, 2000).

La progesterona sola provocaría secreción de LH en baja frecuencia y alta amplitud, mientras que el estradiol por sí solo, provocaría liberación en alta frecuencia y baja amplitud de LH. Aparentemente la caída de progesterona es un prerrequisito para que el estradiol cause el pico de gonadotropinas (Kesner *et al.*, 1982). La administración de progesterona en vacas ovariectomizadas suprime la liberación de LH. La progesterona y el estradiol decrementan la frecuencia de los pulsos de LH durante la fase lútea en el ciclo estral de las vacas. Y esto es

controlado dependiendo de la dosis de la administración de progesterona; con dosis de (6-8 ng /ml en plasma, similar a la de un vaca en la mitad de la fase lútea del ciclo estral), habrá menos frecuencia en los pulso de LH que en vacas tratadas con pequeñas dosis de progesterona (Rathbone *et al.*, 2001).

Durante la fase folicular los estrógenos inducen la proliferación de células endometriales; sin embargo, durante la fase lútea se inhibe la mitosis endometrial y hay diferenciación del estroma, estimulándose la secreción del epitelio glandular y modificándose los patrones de secreción de proteínas por las células endometriales, con objeto de proveer un ambiente uterino que soporte el desarrollo temprano del embrión (Chabbert-Buffeta *et al.*, 2000).

También se ha utilizado la progesterona o progestágenos sintéticos en hembras en anestro; Se ha mostrado que al retiro del fármaco se favorece la liberación de gonadotropinas, y los animales empiezan a ciclar (Short *et al.*, 1976); esto se ha probado en vaquillas anéstricas y en vacas con anestro lactacional (González-Padilla *et al.*, 1975).

Macmilla *et al.* (1991) con el uso de dispositivos intravaginales impregnados de P4, insertados el día cinco post inseminación y hasta el día 10, mejoraron la fertilidad incrementando significativamente el porcentaje de gestación. Morales *et al.*, (2000) observaron que las concentraciones de progesterona fueron similares tanto en grupos de baja fertilidad (vacas de primer servicio y repetidoras) como en los de alta fertilidad (vaquillas) y que además no ha habido relación entre la presencia o no de gestación con las concentraciones de progesterona, indicando que la causa de baja fertilidad no tuvo asociación con la función lútea.

Los estrógenos estimulan el desarrollo de los ductos de la glándula mamaria, y en combinación sinérgica con la progesterona, establecen el desarrollo lóbulo-alveolar (Hurley, 1999; Tucker, 2000;). La concentración de progesterona

permanece alta durante el periodo seco para conservar la preñez pero desciende abruptamente 3 a 4 días antes del parto (Chew *et al.*, 1979; Goff y Horst, 1997). Esta hormona durante los primeros 75 días de gestación presenta niveles sanguíneos muy altos que después declinan un poco, para volver a aumentar a la mitad de la gestación, relacionado este aumento con el desarrollo del sistema lóbulo-alveolar. El desarrollo de la glándula mamaria se acelera durante los últimos estados de la preñez lo que coincide con el rápido crecimiento del feto (Hurley, 1999; Grummer, 1995). En cuanto a su efecto sobre la lactogénesis, mientras que los estrógenos la estimulan, la progesterona la inhibe. Smith *et al.*, (1973) reportaron una rápida disminución en la concentración de esta hormona en el periodo periparturiente de diversas especies, incluyendo a los bovinos, que coincidió con el inicio en la secreción de leche.

2.3.2 Estradiol

El estradiol (E2) es el estrógeno biológicamente activo producido mayoritariamente por el ovario, junto con cantidades menores de estrona y otras muy pequeñas de estriol en la fase del cuerpo lúteo. Todos los estrógenos secretados por el ovario se producen a partir de precursores androgénicos. Los estrógenos al igual que los andrógenos, son llevados por proteínas de unión en la circulación.

El E2 es un regulador del eje hipotálamo-hipófisis. Es una señal importante del ovario responsable del inicio del pico preovulatorio de LH y la subsiguiente ovulación (Webb *et al.*, 1981). Los bajos niveles de estradiol causan un efecto negativo sobre el pico preovulatorio, reduciendo la frecuencia de pulsos de las neuronas productoras de GnRH en el centro preovulatorio. Sin embargo, cuando los niveles de estradiol son altos, como sucede durante la fase folicular, hay un efecto positivo en el centro preovulatorio y hay un incremento de la secreción de GnRH, pasando a la circulación portal-hipofisiaria para estimular la liberación del

pico preovulatorio de LH, todo esto en ausencia de la progesterona (Webb *et al.*, 1981; Mahes y Brann, 1998).

En la estereidogénesis, las células de la teca y granulosa interactúan para la producción de 17- β estradio, las células de la granulosa contienen receptores para FSH y las células de la teca tienen receptores para LH. La pregnenolona y la progesterona son precursores para la síntesis de la androstenediona en las células de la teca a través de la enzima 17 alfa hidroxilasa y finalmente, estos andrógenos son metabolizados a 17- β estradiol por acción de la enzima aromatasa (Bao *et al.*, 1997).

Los estrógenos juegan un papel luteolítico en los tratamientos de sincronización del estro (Bo *et al.*, 1995)

La administración de estrógenos y andrógenos aromatizados han demostrado avanzar la presentación de la pubertad (Maseh *et al.*, 1998).

Los estrógenos como su nombre lo indica, son sustancias capaces de producir manifestaciones de estro o celo en los animales. La hormona estrogénica desarrolla los caracteres sexuales secundarios en las hembras, por lo que es la hormona feminizante (Kesler *et al.*, 1979b).

Los principales efectos fisiológicos producidos por los estrógenos en los órganos genitales de la hembra son: edema, hiperemia y crecimiento celular (epitelial y muscular). Los estrógenos estimulan la contractibilidad uterina y aumenta así la frecuencia y la amplitud de sus contracciones, junto con la potenciación de los efectos de la oxitocina y la prostaglandina F₂ α . Acción semejante tienen sobre el oviducto. El cuello uterino bajo la acción de los estrógenos secreta abundante moco y este se hace mas fluido y más fácilmente cristizable (fenómeno de arborización) en el curso de su desecación. Estas

hormonas promueven la actividad fagocitaria en el útero, estimulan el crecimiento del epitelio vaginal y provocan su queratinización. La descamación de células superficiales aumenta. (Ireland *et al.*, 2000).

Los estrógenos permanecen a bajos niveles en la sangre durante casi toda la gestación, pero en las últimas 3 semanas antes del parto, los niveles van aumentando gradualmente hasta alcanzar su pico máximo al momento del parto y disminuyen rápidamente después de este. Este aumento en la concentración puede causar estimulación en la hipófisis para que se produzca la liberación de prolactina.

Los estrógenos pueden estimular directamente la actividad mitótica de las células mamarias (Tucker, 2000). El estradiol 17- β juega un papel importante, en modelos *in vitro* en la diferenciación de las células mamarias de borregas.

Los estrógenos, el estímulo producido al mamar y la reserpina agotan el contenido del factor inhibidor de la prolactina producida por la hipófisis anterior; la adrenalina y la acetilcolina lo reducen. Estos compuestos y estímulos son capaces de iniciar la lactación (Schmidt, 1994). Se ha demostrado que la implantación intrahipofisiaria de estrógenos estimula la liberación de prolactina e inicia la lactación, sin embargo cuando se suministra estradiol a dosis altas en un periodo avanzado de lactación, se inhibe la secreción de leche. (Schmidt, 1994).

2.3.3 Corticosteroides

Se ha demostrado que los corticosteroides, estrés y (ACTH) estimulan o inhiben efectos en la reproducción. La divergencia de sus efectos pueden ser explicados básicamente por dos mecanismos: en el primero, el estrés prolongado o una gran exposición a ACTH o corticosteroides lleva a la supresión de la secreción de las gonadotropinas, en tanto que una exposición aguda es

estimuladora cuando se induce mayor presencia de estrógenos (Virendra *et al.*, 1998).

En vacas cíclicas, la ACTH o el cortisol exógenos inhiben la liberación de LH. El efecto de los corticosteroides en el comportamiento de estro, fue comprobado con el uso de dexametasona reduciendo el porcentaje de vaquillas en estro (Lyimo *et al.*, 2000).

La adrenalectomía en ratas hembra después de los 25 días retrasó la pubertad, y el inicio de la pubertad puede ser restablecida con un tratamiento de corticosteroides. Y en ratas adultas ciclando resulta una atenuación del pico preovulatorio de las gonadotropinas, la inhibición del desarrollo folicular, el número de ovulaciones, y una ciclicidad anormal, esto pudo ser debido a la supresión de FSH (Baldwin y Sawyer, 1974; Schoonmaker *et al.*, 1983).

La función principal de los glucocorticoides en la glándula mamaria es causar la diferenciación del sistema lóbulo-alveolar, para que posteriormente la prolactina (PRL) pueda inducir la síntesis de proteínas de la leche. La PRL está asociada a la diferenciación y maduración del aparato de Golgi mientras que los glucocorticoides con el desarrollo del retículo endoplásmico (Akers, 2000). Hay aumentos agudos de glucocorticoides en estrecha asociación con el parto (Edgerton y Hafs, 1973)

El mantenimiento de la secreción de leche depende de la expulsión de la leche y del estímulo constituido por el ordeño o el amamantamiento. El amamantamiento estimula la liberación de prolactina, ACTH y oxitocina por la glándula hipofisiaria; pero la inyección de ACTH y cortisol a las vacas lactantes deprime considerablemente la producción láctea. En ratas la administración diaria de dosis elevadas de cortisona (10-20 mg) inhiben la secreción láctea, en tanto

que dosis más reducidas (0.5 -1 mg) la aumentan y dosis bajas (0.25 mg) se muestran carentes de efectos (Talwaker *et al.*, 1960).

El efecto del amamantamiento es considerado como el principal obstáculo para mejorar la eficiencia reproductiva. El estímulo del amamantamiento y la sola presencia del becerro, se ha relacionado con la liberación de opioides endógenos, que inhiben los centros hipotalámicos de liberación cíclica de la GnRH (Calfield y Butler, 1990; Villa-Godoy *et al.*, 1993) provocando la inhibición de la secreción pulsátil de LH (Smith *et al.*, 1979), y falla en el desarrollo de un folículo dominante; hay escasa producción de estrógenos y se ocasiona la atresia folicular (Calfield y Butler, 1990).

2.3.4 Somatotropina

La hormona del crecimiento (GH) es producida por la hipófisis anterior. Esta involucrada en numerosos procesos metabólicos y fisiológicos incluyendo la reproducción (Lucy *et al.*, 1999). La síntesis y secreción de GH es regulada por hormonas liberadoras (GHRH) y por hormonas inhibitoras (GHIH) específicas, producidas por el hipotálamo y transportadas en el sistema portal de la adenohipófisis, como la somatostatina.

Puede actuar en tejidos reproductivos que contienen receptores de GH incluyendo el hipotálamo, hipófisis, cuerpo lúteo, folículos ováricos, oviducto, endometrio y placenta (Kirby *et al.*, 1997). En el hígado existen altas cantidades de receptores de GH, donde el enlace con ésta hormona causa un incremento en la síntesis y secreción del factor de crecimiento parecido a la insulina tipo I (IGF-I).

El IGF-I, es un polipéptido y es el mediador que se produce en respuesta a la hormona del crecimiento, mientras que el IGF-II es más independiente de la GH y está presente en el suero en grandes concentraciones durante la vida fetal y neonatal (Moses *et al.*, 1980).

Efectos de la somatotripina en el ovario.

Existe una acción sinérgica entre el IGF-I y las gonadotropinas (FSH y LH) en la actividad ovárica (Lucy *et al.*, 1999). El IGF-I, sinérgicamente con la FSH incrementa la división y diferenciación de las células de la granulosa (Carson *et al.*, 1989) y tener beneficios en la superovulación (Herrier *et al.*, 1994). Incrementa el número de folículos que alcanzan tamaños mayores, con la subsecuente reducción en el número de folículos pequeños (Lucy *et al.*, 1993). Puede deberse a cambios en las concentraciones de hormonas metabólicas y de metabolitos (glucosa, insulina, IGF-I, proteínas ligadoras de IGF). No existe evidencia de que existan receptores para GH en ovario (Lucy *et al.*, 1993).

La función fisiológica de IGF-I es pensando en un incremento el número de los receptores a LH en las células de la granulosa, así como la proliferación de las células de la granulosa (Herrier *et al.*, 1994) estimular la actividad de la enzima aromatasas y la síntesis de los estrógenos y progesterona (Adashi *et al.*; 1985). Incrementa el crecimiento y el desarrollo de los folículos antrales y del cuerpo lúteo, así como potencializar la esteroidogénesis. La mayor cantidad de receptores para somatotropina es encontrada en el cuerpo lúteo (Lucy *et al.*, 1993).

El uso de somatotropina recombinante bovina acelera la emergencia de una segunda oleada folicular (Kirby, 1997), que puede provocar en una alta incidencia tres oleadas foliculares durante el ciclo estral, que están asociadas después con un incremento en la ovulación (Moreira *et al.*, 2001)

Cuando los animales son alimentados excediendo sus requerimientos nutricionales, las concentraciones de GH bajan, mientras que las de IGF-I e insulina aumentan (Thissen *et al.*, 1994).

La insulina y/o la IGF-I parecen ser los mediadores de la acción de hormona del crecimiento en el ovario (Gutiérrez *et al.*, 1997).

Moriera (2001), encontró que el uso de bST incrementa la tasa de gestación primer servicio en un esquema de resincronización. Y aplicando 500 mg de bST el día de la inseminación. Morales (2001) que se mejora la calidad embrionaria en vacas repetidoras, el índice de concepción y la embrionaria.

Lefebvre y Block (1992), evaluaron el efecto de la administración de bST y ciproionato de estradiol sobre la intensidad de la conducta de estro en vaquillas ovariectomizadas; encontraron que las vaquillas tratadas con bST presentaron pocos eventos de monta en comparación con los que recibieron ciproionato de estradiol y placebo. La bST redujo la intensidad de estro sin la influencia de los ovarios, por lo que probablemente un efecto directo de bST o a través de algunos mediadores altera el control neuroendocrino de la conducta de estro.

Efectos de la somatotropina en la glándula mamaria.

La hormona del crecimiento está íntimamente relacionada con el desarrollo de la masa parenquimal en la glándula mamaria (Sejsern *et al.*, 1986) pero además, al igual que la PRL, actúa sinérgicamente con los estrógenos y la progesterona para estimular la mamogénesis (Hurley, 1999). Así mismo, como sucede con la PRL, la GH no parece ser una hormona definitiva para el desarrollo de la glándula mamaria. El efecto de la GH está mediado por el IGF-I el cual es secretado por el hígado y el tejido mamario (Forsyth, 1996). Las variaciones en las concentraciones plasmáticas así como en la cantidad de receptores en la glándula mamaria en los factores de crecimiento IGF-I y II también sirven para regular la etapa II.

El uso de la somatotropina bovina como un agente galactopoyético en vacas lecheras causa decrementos temporales del balance de energía (Barman *et*

al., 1997), esto es porque la producción de leche es incrementada inmediatamente en respuesta a la bST, en donde algunas semanas es requerida para incrementar la entrada de energía y compensar la energía adicional por la producción de leche. La bST regula la utilización y absorción de nutrientes, fomentando su uso para incrementar la producción láctea, a través de la coordinación de diversos procesos fisiológicos en diferentes tejidos.

La producción de leche en respuesta a la bST ha sido observada en todas las vacas lecheras y en animales de diferentes partos y potencial genético. En general la respuesta es insignificante durante la lactación temprana antes del pico de producción, por lo que el uso de bST se usa en el 80% del ciclo lactacional. Típicamente la respuesta de la producción de leche es un incremento del 10-15% (4-6 Kg /día), sin embargo el grado de incremento se da cuando el manejo y cuidados de los animales es excelente. El incremento es gradual y cuando el tratamiento es continuo, el incremento en la producción de leche se mantiene, hay un aumento del pico de producción y un incremento en su persistencia durante el ciclo lactacional.

En una vaca alta productora la glándula mamaria utiliza el 60-80% del total de la glucosa que se deriva principalmente de la gluconeogénesis vía hepática, la bST incrementa la producción de glucosa hepática, decrece el proceso de oxidación y reduce su asimilación por otros tejidos (Bauman 1999). La activación de los receptores restringe la utilización sistémica de nutrientes, favoreciendo su incorporación a la glándula mamaria.

La GH tiene un efecto dramático en el tejido adiposo y en el metabolismo de los lípidos. Ambos lipólisis y lipogénesis están alteradas por los tratamientos con bST, con efectos de síntesis de lípidos si el animal está en balance energético positivo, y los efectos de lipólisis predominan cuando el animal está en balance energético cero o negativo, en donde las vacas permanecen en estado

hipoinsulinémico y la producción de leche se desploma y la bST incrementa la movilización de grasa corporal, incrementando el contenido de grasa en leche (Ferry *et al.*, 1998). Sin embargo Bauman (1992) encuentra que la composición de leche no es afectada por el uso de bST, y que la respuesta a algunos componentes son debidos a factores genéticos.

Capítulo 3.

HIPÓTESIS

El tratamiento inductor de la lactación funciona igual en vacas completas que en ovariectomizadas.

La manifestación de estro persistente en vacas inducidas a la lactancia es diferente entre vacas completas y ovariectomizadas.

OBJETIVOS

1. Evaluar si la manifestación de estro persistente posterior al tratamiento de inducción está mediada por la presencia de ovarios.
2. Evaluar la respuesta en producción de leche en vacas enteras y ovariectomizadas, inducidas a lactar mediante la administración parenteral de hormonas.
3. La composición de la leche de vacas ovariectomizadas inducidas a la lactación es similar a la de vacas completas.

Capítulo 4.

MATERIAL Y MÉTODOS

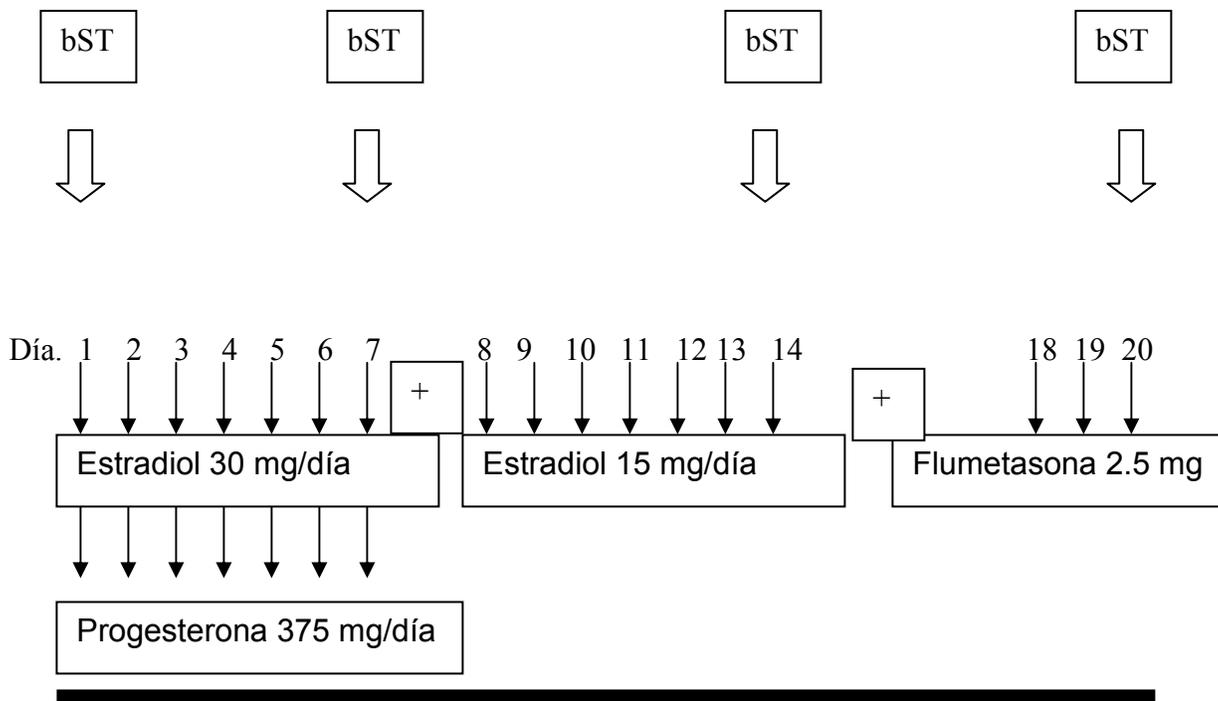
El estudio se realizó en el Centro de Enseñanza e Investigación Práctica en Producción y Salud Animal, (CEPIPSA), perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. El Centro esta ubicado en San Miguel Topilejo, Tlalpan D.F; su superficie total es de 33,755 m².

Se utilizaron 10 vacas encastadas con *Holstein* de 3 a 5 años de edad y con un promedio de 2.5 partos; cinco ovariectomizadas (**OVX**) desde por lo menos 2 meses antes del estudio y cinco vacas ovario intactas (**COMPL**) vacías, de 45 a 60 días de secas y clínicamente sanas. Las cinco vacas completas fueron sincronizadas con dos aplicaciones de prostaglandinas PGF₂α¹ (12.5 mg) con 11 d de separación, dando inicio al tratamiento inductor de la lactación el día 13 del ciclo estral.

La inducción de la lactación se hizo en las 10 vacas mediante la administración i.m. del siguiente tratamiento:

- a) del día 1 al día 7, 375 mg/día Progesterona² y 30 mg/día de cipionato de estradiol³;
- b) los días 8 a 14, una inyección diaria de cipionato de estradiol (15 mg/día);
- c) ninguna aplicación los días 15 al 17;
- d) los días 18 a 20, se les aplicó una inyección diaria de 2.5 mg de Flumetasona⁴;
- e) Los días 1, 7, 14 y 21 Somatotropina Bovina-Zinc⁵ (bST; 500 mg/dosis subcutánea en pliegue anocaudal);
- f) El día 21 se inició la ordeña y apartir de aquí cada 14 días se aplicó bST.

Tratamiento para Inducir la Lactación



1. Lutalyse. Pfizer, México S.A. de C.V.
2. Progesterona. Fort Dodge Animal Health, S. de RL. de C.V.
3. ECP, Pfizer, México S.A. de C.V.
4. Fluvet, Fort Dodge Animal Health, S. de RL. de C.V.
5. Lactotropina. Bovina, Laboratorio Elanco

Para la detección del celo las vacas fueron observadas diariamente dos veces al día, 4 h durante a.m. y 2 h p.m. desde el inicio del tratamiento de inducción de la lactación y hasta los primeros 60 días de lactancia. Se registró para cada vaca el número de montas recibidas, se registro también el número de días que presentaron celo las vacas durante cada semana de tratamiento (TX) o de lactación (L).

Cada tercer día, durante el tratamiento inductor y hasta 60 días después de iniciada la lactación, se realizaron observaciones ultrasonográficas de los ovarios por vía transrectal, utilizando un ultrasonido Aloka 210 con un transductor lineal de 7.5 Mhz. Se determinó el número de folículos (**NF**) y su diámetro (**DF**), y se clasificaron como pequeños (<5 mm), medianos (6 a 10 mm) o grandes (> 10 mm). También fue registrado el diámetro del folículo mayor (**DFM**), así como los folículos dominantes que permanecieron por más de 10 días, considerándolos como quísticos.

Las vacas se ordeñaron una vez al día por la mañana, debido a las prácticas de manejo del rancho. La producción de leche fue medida cada semana, tomando registros individuales. También se tomaron muestras de leche en viales individuales proporcionados por La Asociación Holstein de México, A.C. que se mantuvieron en refrigeración a 4 °C hasta que fueron analizadas en el Laboratorio de Calidad de la misma Asociación. La leche fue analizad por el método de Infrarrojo Medio para determinar su composición: grasa (**G**), proteína (**P**), lactosa (**L**).y sólidos no grasos (**SNG**).

Para la determinación de estradiol, progesterona y LH en suero, se tomaron muestras sanguíneas por punción de la vena coccígea cuatro veces por semana, durante los 21 días que duro el tratamiento inductor de la lactación y 60 días después de iniciado el ordeño. El suero se separó por centrifugación y se mantuvo

congelado a -20 °C hasta la cuantificación de las concentraciones de estradiol (**CE**), progesterona (**CP**) y LH (**CLH**).

Los análisis hormonas se realizaron en el Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Reproducción de la FMVZ-UNAM. El Estradiol fue cuantificado por medio del método de radioinmunoanálisis (¹²⁵I) en fase sólida (RIA) sin necesidad de extracción, con estuches comerciales Coat-A-Count (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA). Para estradiol la sensibilidad del método fue de 8 pg/ml, con un coeficiente de variación intraensayo de 9.00%. Los análisis de progesterona se realizaron por medio de RIA con estuches Coat-A-Count (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA) la sensibilidad del método fue de 0.02 ng/ml, con un coeficiente de variación intraensayo de 3.45%. Para determinación de LH se utilizó un RIA heterólogo de fase líquida, específico, de 120 horas de incubación a 4°C, usando como sistema de separación un segundo anticuerpo. La sensibilidad del ensayo fue de 0.03 ng/tubo, con un coeficiente de variación intra e inter ensayo del 5-7% (Perea-Marin *et al.*, 2004).

Análisis estadístico

El número de montas, CP, CE, CL, CLH se analizaron por medio de un análisis de varianza (ANDEVA) multivariado con mediciones repetidas, en donde se empleó el procedimiento de GLM (SAS, 2001). Para el número de montas se hizo una transformación a logaritmo natural, se utilizó como variable dependiente el número de montas y como variable independiente el grupo (OVX y COMPL). El criterio para considerar la diferencia significativa entre medias fue de $P < 0.05$.

Capítulo 5.

RESULTADOS

Todas las vacas fueron satisfactoriamente inducidas a la lactación, con el tratamiento.

El tratamiento inductor de lactación causó la actividad de estro en las diez vacas del estudio. Esto fue caracterizado por la presencia de edema en la vulva, levantamiento del maslo de la cola, descarga de moco vaginal en el 70% de las vacas, signo de flehmen, tonicidad en el útero y por vacas que montaron y se dejaban montar. Esto fue más notorio durante la segunda y tercera semanas del tratamiento. La actividad de montas continuó de manera intermitente hasta alrededor del día 20 de lactación (Cuadro 1 y Figura 1).

Hubo formación de grupos con mayor intensidad de estro, independientemente de que se tratara de vacas ovariectomizadas o completas; en estos grupos se manifestó la presencia de jerarquías en donde la vaca dominante no permitía que vacas ajenas al grupo montaran a alguna de las integrantes. Estos grupos cambiaban constantemente de individuos. Cuatro vacas que en algún momento fueron dominantes (2 ovariectomizadas y 2 completas), presentaron algunas características de macho tales como: echarse tierra en costados, restregar cuernos o cabeza en la tierra, mugidos pronunciados y embestidas. Toda esta actividad duró 20 días: inicio principalmente después del día siete del tratamiento de inducción a la lactación, cuando solamente se administró estradiol y hasta el día 7 de lactación.

Para el número de montas durante seis horas de observación (4 en am y 2 en pm) en 21 días que duró el tratamiento de inducción a la lactación y los primeros 50 días de lactancia, no se encontró diferencia estadística significativa

entre grupos ($P>0.05$). El mayor número de montas de manera intermitente durante todo el estudio se presentó durante las semanas 2TX, 3TX y 1L (del día 8 del tratamiento al día 7 de lactación), sin diferencia entre grupos ($P>0.05$). Para la segunda semana de lactación el número de vacas que montaron y el de las que se dejaron montar bajó considerablemente, con un promedio de 3.0 ± 3.0 montas recibidas para la semana 3L (día 15 a 21 lactación) y 2.4 ± 3.0 montas recibidas en la semana 4L (día 22 al 28 de lactación).

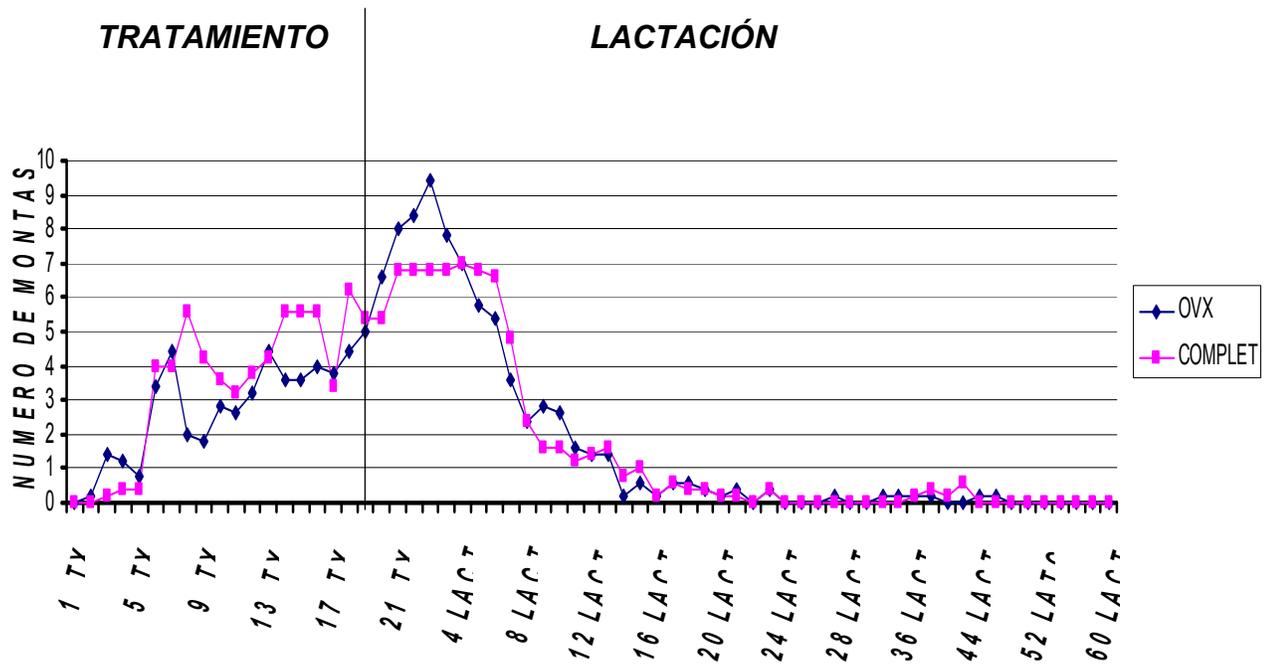
Hubo diferencia entre semanas, para número de montas, con mayor número de ellas en las semanas 2TX, 3TX y 1L que en el resto $P<0.05$; (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cantidad semanal de número total de montas durante seis horas de observación (4 h en a.m y 2 h en p.m) en 21 días que duró el tratamiento inductor (TX) de la lactación y los primeros 50 días de lactancia (LACT) en 5 vacas Holstein Friesian ovariectomizadas y 5 completas nd.

GRUPO				
OVARIECTOMIZADAS			COMPLETAS	
<i>Semana</i>	<i>Número de vacas en celo/día</i>	<i>Número de montas observadas /vaca/día</i>	<i>Número de vacas en celo/día</i>	<i>Número de montas observadas /vaca/día</i>
1 TX	2.6	8.2	1.9	6.5
2 TX	3.8	14.6	4.6	21.6
3 TX	5.0	25.3	5	27.5
1 LACT	4.3	33.9	4.9	32.6
2 LACT	3.2	8.9	3.8	7.57
3 LACT	1.6	2.1	1.6	2.1
4 LACT	0.6	0.4	0.3	0.3
5 LACT	0.3	0.3	0	0
6 LACT	0.3	0.3	0.8	1.3
7 LACT	0.3	0.3	0	0

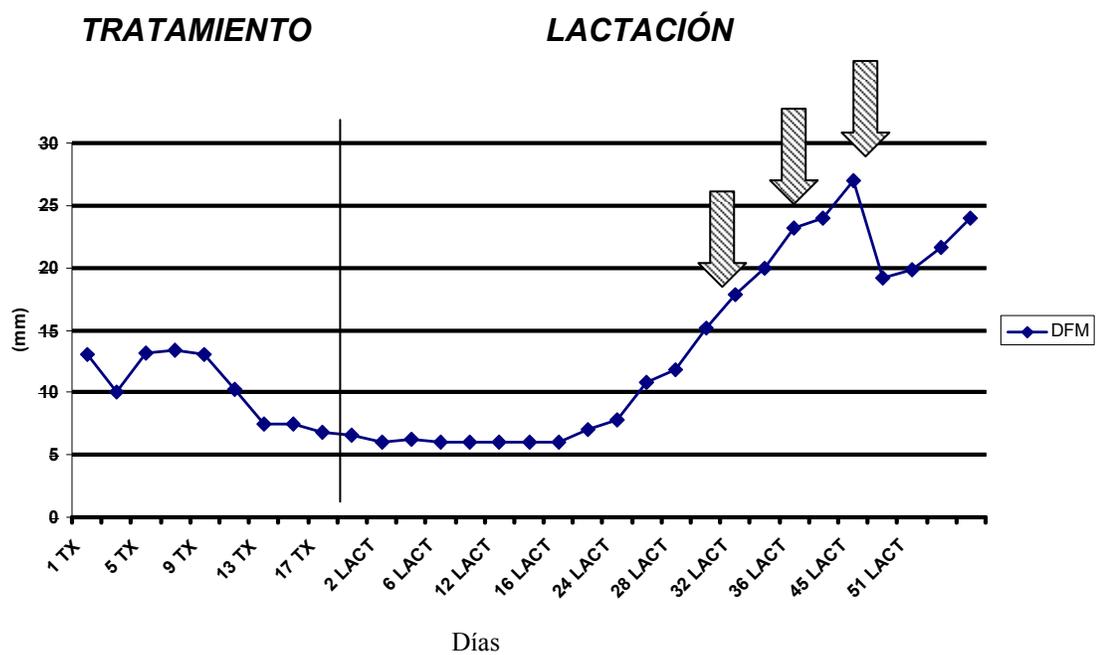
^{n.d.} No se observó diferencia significativa entre grupos ($P > 0.05$).

Figura 1. Número de montas detectadas durante seis horas de observación (4 h en a.m y 2 h en p.m) en 21 días que duró el tratamiento inductor de la lactación y en primeros 50 días de lactancia en vacas Holstein Friesian ovariectomizadas (OVX) y completas (COMPL)nd.



nd. No se encontró diferencia estadística entre grupos ($P > 0.05$).

Figura 2. Diámetro promedio diario del Folículo Mayor en vacas Holstein Friesian durante el tratamiento inductor a la lactación y los primeros 60 días de lactación.



↓ Tres vacas ovularon espontáneamente los días 33, 39 y 47 respectivamente. Las otras dos presentaron quistes foliculares que fueron tratados con GnRH el día 53 de lactación.

Evaluaciones ultrasonográficas.

En cuanto a la evaluación ultrasonográfica de los ovarios, en la dinámica de desarrollo folicular, durante la primera semana del tratamiento (1TX) los folículos continuaban creciendo hasta el día 9. Después existió una regresión uniforme del tamaño del folículo mayor (Figura 2) y del número de folículos > 6mm (Figura 3), dando la apariencia de un ovario más pequeño y solamente con la presencia de folículos ≤ 5 mm que promediaron 25 ± 1.82 folículos. Los ovarios permanecieron así del día 9 de tratamiento (2TX) al día 21 de lactación (3L) en donde empezó a observarse una modificación en el desarrollo folicular. Todas desarrollaron algún quiste folicular de diferente tamaño y duración, algunos aparecieron durante la aplicación del tratamiento: en dos vacas lo hicieron cuando ya era necesario dejarlas gestantes y tuvieron que tratarse con GnRH el día 53 de lactación. Las otras tres vacas los resolvieron por sí solas y ovularon los días 33, 39 y 47 de lactación (Figura 4).

Figura 3. Número de folículos de diferentes tamaños en vacas Holstein Friesian durante el Tratamiento Inductor a la Lactación y primeros 60 días de lactancia.

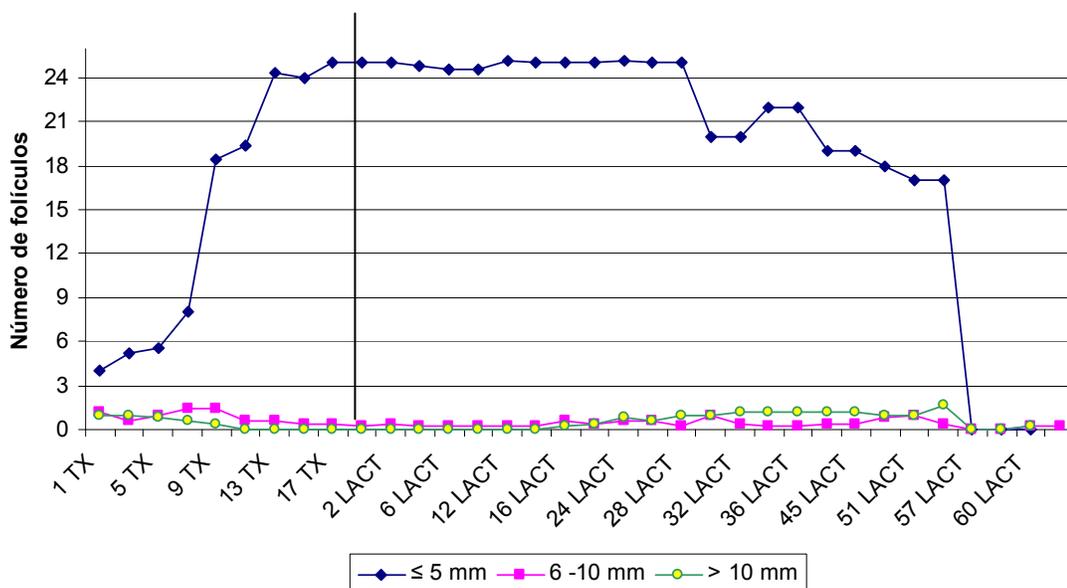
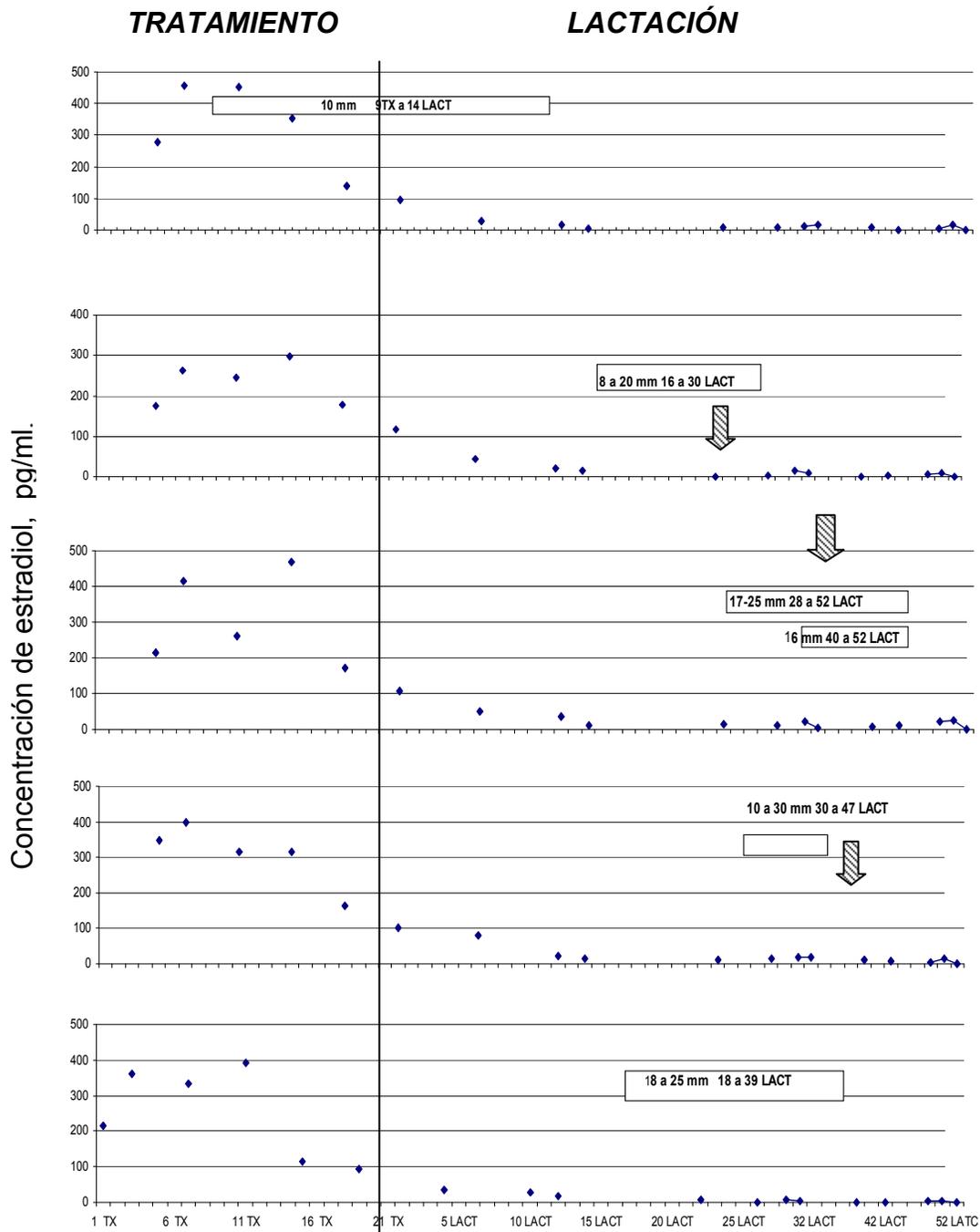


Figura 4. Presentación y duración de quistes foliculares en vacas Holstein inducidas a la lactación y concentración sérica de estradiol.



Las flechas indican que tres vacas ovularon en los días 33, 39 y 47 de lactación, las otras dos vacas continuaron con quistes y fueron tratadas con GnRH el día 53 de lactación.

Concentraciones hormonales en suero.

Durante la primera semana del tratamiento, en donde solamente se aplicó progesterona más estradiol, la **CP** en promedio fue de 14.06 ± 8.32 ng/ml para OVX mientras que para las vacas COMPL fue de 14.46 ± 5.62 ng/ml, no se encontró diferencia estadística entre grupos ($P > 0.05$), teniendo aquí las **CP** más altas de todo el estudio (14.81 ng/ml). Para el inicio de la lactación, las **CP** en todas las vacas del estudio ya eran menores a 1 ng/ml (Cuadro 3).

La concentración media de estradiol en muestras colectadas en suero para los días del tratamiento y lactación se muestran en el Cuadro 2. No se encontró diferencia entre grupos ($P > 0.05$). Durante los primeros siete días del tratamiento en donde diariamente se aplicó progesterona más estradiol, las **CE** variaron de 177 pg/ml a 495 pg/ml, y en los siguientes siete días, con solamente la aplicación de estradiol a la mitad de la dosis inicial, las **CE** iban de 244.74 pg/ml a los 679.08 pg/ml. Al inicio de la lactación las concentraciones de estradiol empezaron a ser menores a 100 pg/ml, y fueron menores a 20 pg/ml después de quince días de lactación y 22 días después de la última aplicación de estradiol en el tratamiento.

La concentración media de LH fue mayor en OVX ($P < 0.05$). En COMPL no se detectó **CLH** durante el todo el tratamiento inductor a la lactación si no hasta el día 23 de lactación con un promedio de 0.01 ± 0.03 pg/ml (Cuadro 4).

Cuadro 2. Concentraciones de estradiol en suero de vacas Holstein Ovariectomizadas (OVX) y Completas (COMPL) durante el tratamiento inductor a la lactación (TX) y primeros sesenta días de lactancia (LACT).

Concentración de Estradiol en Suero (pg/ml ± SE)*		
Día	OVX (n= 5)	COMPL (n= 5)
5 TX	241.53 ±127.26	245.75 ± 67.63
7 TX	410.93 ± 47.34	377.86 ± 73.10
11 TX	391.07 ± 80.07	321.76 ± 82.16
15 TX	440.54 ± 151.61	365.67 ± 67.88
19 TX	116.37 ± 28.34	153.46 ± 25.60
2 LACT	93.86 ± 11.99	102.82 ± 9.55
8 LACT	32.48 ± 8.12	47.15 ± 19.07
14 LACT	24.78 ± 11.95	24.78 ± 7.65
16 LACT	8.91 ± 2.23	12.47 ± 5.85
26 LACT	3.88 ± 1.48	7.59 ± 4.84
32 LACT	6.29 ± 3.20	7.38 ± 5.95
36 LACT	13.16 ± 6.27	14.05 ± 5.93
39 LACT	5.77 ± 3.23	10.27 ± 8.10
47 LACT	3.94 ± 2.55	5.23 ± 5.12
51 LACT	1.64 ± 2.07	4.74 ± 5.19
57 LACT	5.88 ± 2.96	7.10 ± 7.15
58 LACT	11.63 ± 5.94	13.79 ± 8.43

- No se observaron diferencias estadísticas entre ovariectomizadas y completas en ningún día (P>0.05).

Cuadro 3. Concentraciones de Progesterona en suero de vacas Holstein Ovariectomizadas (OVX) y Completas (COMPL) durante el tratamiento inductor a la lactación (TX) y primeros sesenta días de lactancia (LACT).

Concentración de Progesterona (ng/ml \pm SE) *		
Día	OVX (n= 5)	COMPL (n= 5)
2 TX	13.5 \pm 12.24	14.11 \pm 7.80
5 TX	14.62 \pm 4.41	14.81 \pm 3.44
9 TX	7.55 \pm 1.53	6.34 \pm 0.46
13 TX	3.49 \pm 2.78	1.72 \pm 0.53
17 TX	2.06 \pm 2.02	0.72 \pm 0.23
14 LACT	0.75 \pm 0.38	0.38 \pm 0.15
23 LACT	0.65 \pm 0.32	0.36 \pm 0.11
30 LACT	0.36 \pm 0.11	0.33 \pm 0.15
39 LACT	0.35 \pm 0.26	0.32 \pm 0.16
47 LACT	0.52 \pm 0.39	1.56 \pm 1.88++
53 LACT	0.28 \pm 0.21	1.54 \pm 1.39 ++
60 LACT	0.56 \pm 0.35	0.44 \pm 0.18

* No se observaron diferencias estadísticas entre ovariectomizadas y completas en ningún día ($P > 0.05$).

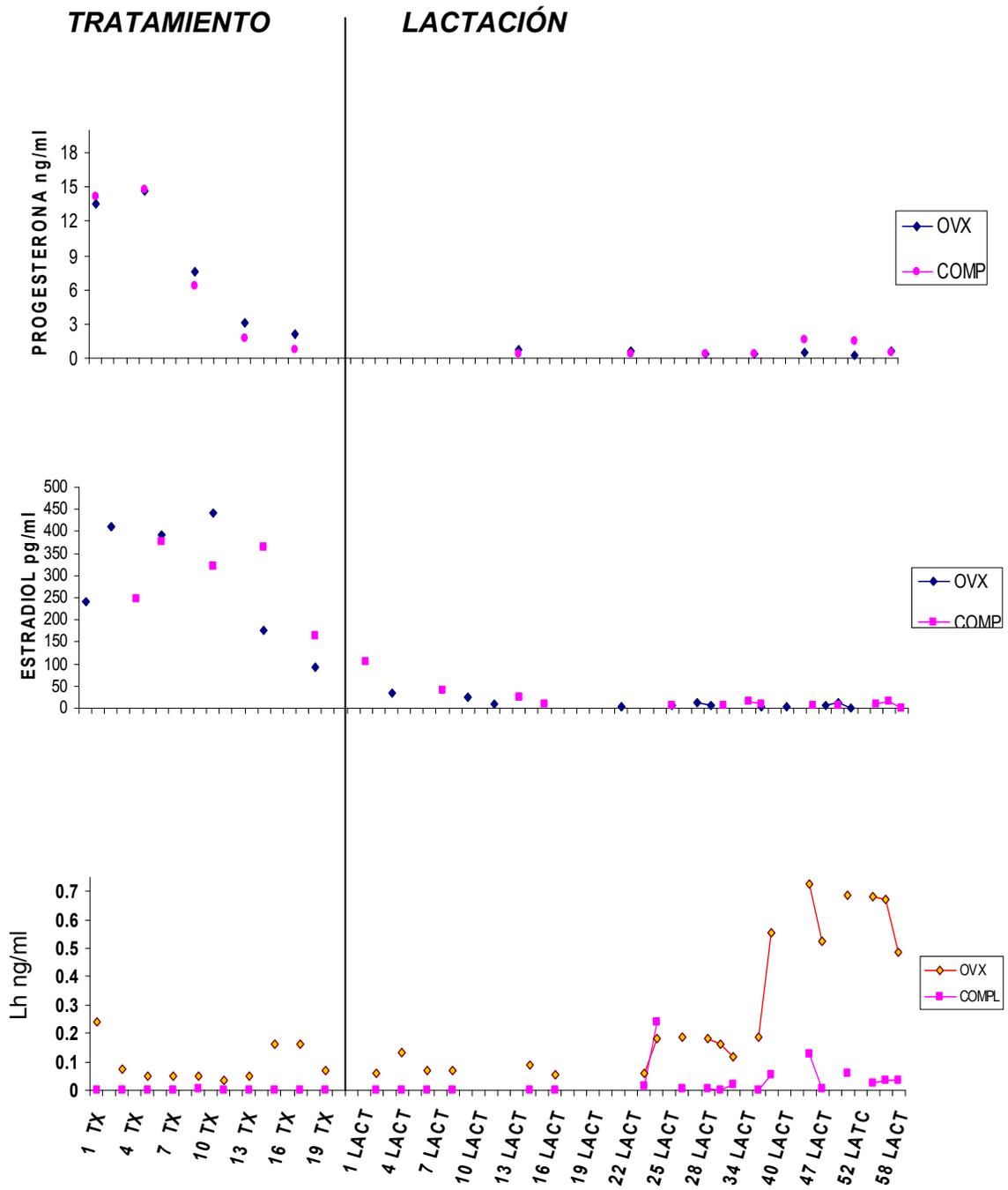
++ Concentraciones debidas a los cuerpos lúteos de las vacas que ovularon espontáneamente.

Cuadro 4. Concentraciones de LH en suero de vacas Holstein Friesian Ovariectomizadas (OVX) y Completas (COMPL) Inducidas a la Lactación.

<i>Día</i>	<i>Concentración de LH (ng/ml ± SE)*</i>	
	<i>OVX (n = 5)</i>	<i>COMPL^b (n = 5)</i>
1 TX	0.24 ± 0.16	n.d
3 TX	0.07 ± 0.10	n.d
5 TX	0.05 ± 0.09	n.d
7 TX	0.05 ± 0.06	n.d
9 TX	0.05 ± 0.07	n.d
11 TX	0.03 ± 0.06	n.d
13 TX	0.05 ± 0.07	n.d
15 TX	0.16 ± 0.23	n.d
17 TX	0.16 ± 0.18	n.d
19 TX	0.07 ± 0.09	n.d
2 LACT	0.06 ± 0.10	n.d
4 LACT	0.13 ± 0.22	n.d
6 LACT	0.07 ± 0.13	n.d
8 LACT	0.07 ± 0.15	n.d
14 LACT	0.09 ± 0.12	n.d
16 LACT	0.05 ± 0.08	n.d
23 LACT	0.06 ± 0.12	0.01 ± 0.03
24 LACT	0.18 ± 0.17	0.24 ± 0.54
26 LACT	0.19 ± 0.22	0.01 ± 0.01
28 LACT	0.18 ± 0.26	0.01 ± 0.01
30 LACT	0.16 ± 0.13	0.00 ± 0.00
32 LACT	0.12 ± 0.14	0.02 ± 0.03
36 LACT	0.19 ± 0.23	0.00 ± 0.00
39 LACT	0.55 ± 0.73	0.05 ± 0.07
44 LACT	0.73 ± 0.35	0.13 ± 0.18
47 LACT	0.53 ± 0.31	0.01 ± 0.01
51 LACT	0.69 ± 0.46	0.06 ± 0.07
54 LACT	0.68 ± 0.50	0.03 ± 0.04
57 LACT	0.67 ± 0.77	0.03 ± 0.05
58 LACT	0.49 ± 0.52	0.03 ± 0.05

* Durante todo el estudio las concentraciones de LH en las vacas OVX fueron mayores, indicando diferencias estadísticas (P<0.05).

Figura 5. Relación entre las concentraciones de Progesterona, Estradiol y LH en vacas Holstein Ovariectomizadas (OVX) y Completas (COMP) Inducidas a la Lactación.

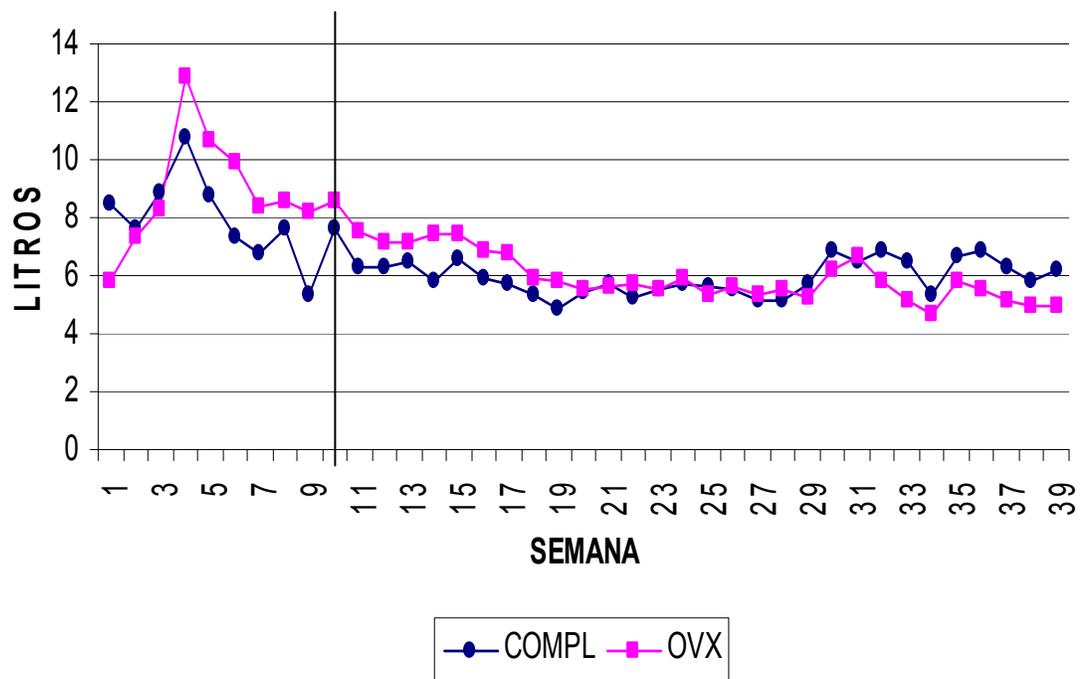


Producción de leche y composición.

El crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria se presentó principalmente durante la última semana del tratamiento (día 15 al 21). La glándula mamaria se encontró distendida, turgente y llena. La lactación se inició satisfactoriamente después de concluido el tratamiento. Durante la primera semana de producción láctea, la secreción fue de color amarillento posiblemente a secreción de calostro por alto contenido de proteínas que se encontraron, sin embargo para el día 10 de lactación la leche ya era de color normal. En cuanto al promedio de producción láctea durante los primeros 60 días de lactación no se encontraron diferencias estadísticas entre grupos teniendo un promedio de 8.7 ± 0.47 litros para las vacas COMPL y de 8.02 ± 0.47 litros para las vacas OVX ($P=0.264$); pero sí se detectó un efecto de semana en ambos grupos ($P=0.055$) (Figura 6).

En cuanto a los porcentajes de proteína, grasa, y sólidos no grasos producidos durante los primeros 60 días de lactación en vacas OVX y COMPL, no hubo diferencias estadísticas ($P>0.05$). En lactosa se observó un ligero, pero consistente aumento, en donde se detectaron diferencias estadísticas significativas, siendo más alta la concentración en las vacas COMPL (4.9 ± 0.8 %) que en vacas OVX ($4.5 \pm 0.0.7\%$) (Figura 7).

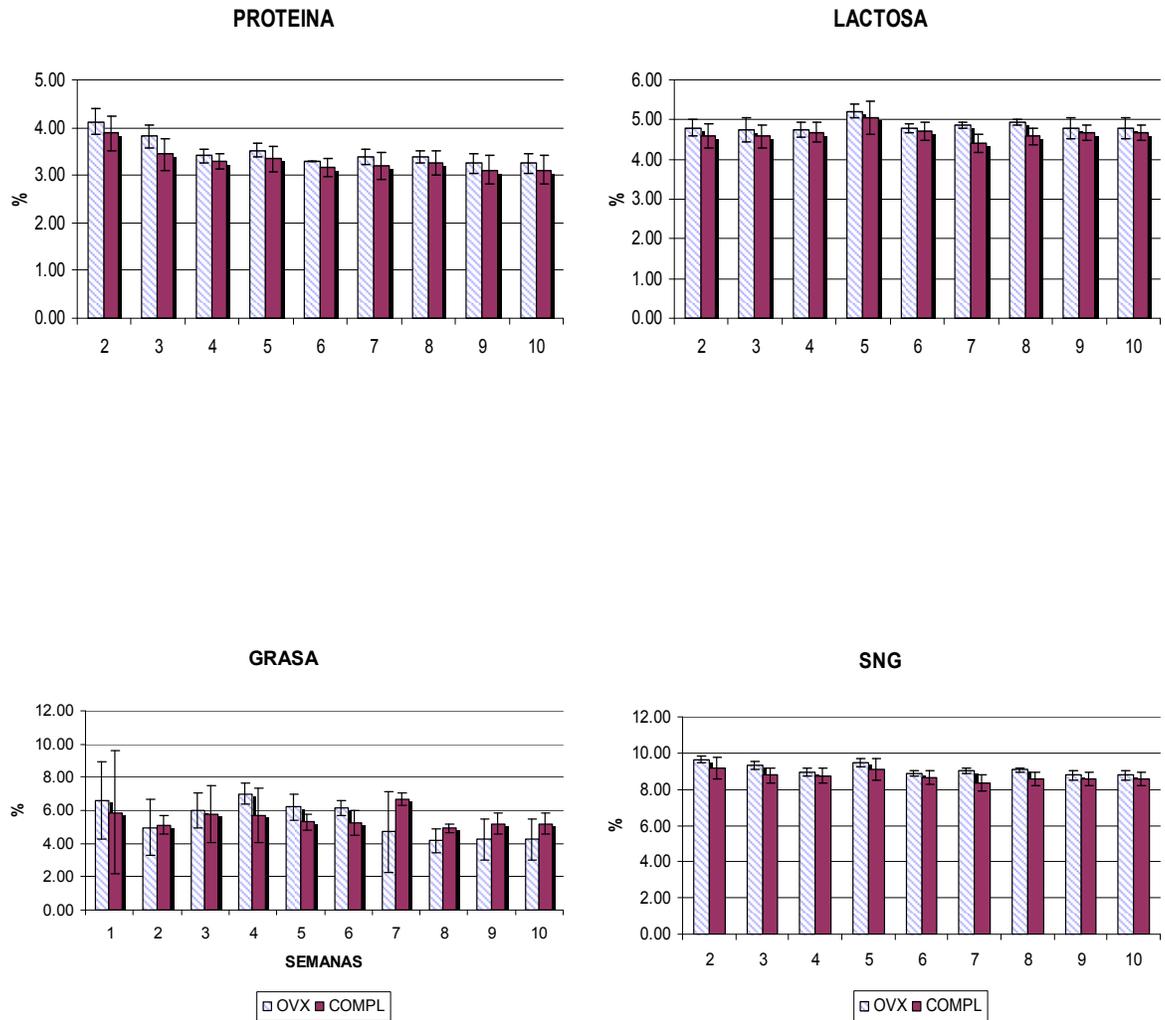
Figura 6. Producción diaria de leche en vacas Holstein Ovariectomizadas (OVX) y Completas (COMPL) Inducidas a la Lactación.



No se encontró diferencia estadística entre grupos $P= 0.264$, pero si hubo un efecto entre semanas $P < 0.05$.

La línea vertical indica que a partir de la semana 11 se suspendió la administración de Somatotropina bovina-zinc⁵, ya que el estudio duró 10 semanas de observación en lactancia.

Figura 7. Composición de leche en los primeros 60 días de lactancia inducida en vacas Holstein Ovariectomizadas (OVX) y Completas (COMPL).



*No se encontró diferencia estadística entre grupos ($P > 0.05$).

Capítulo 6.

DISCUSIÓN

El presente trabajo demostró que todas las vacas respondieron al tratamiento inductor a la lactancia. Todas las vacas presentaron signos de **estro** de manera intermitente durante la segunda y tercera semana del tratamiento y durante dos semanas después de iniciada la lactación, coincidiendo con otros estudios que usaron el mismo tratamiento inductor de la lactación, en donde se observaron signos de estro durante al menos 23 días después de iniciada la ordeña (Espinosa *et al.*, 2005).

Utilizando diferentes protocolos de inducción a la lactación también reportaron actividad estral intermitente o por periodos prolongados, en algunos casos ninfomanía. El fenómeno se ha observado desde el segundo día de aplicación de esteroides, durante la fase de tratamiento y/o hasta 2 ó 3 semanas después del inicio de la lactancia. En algunos trabajos se asoció el estro persistente con la presentación de cojeras y la reducción en el desempeño reproductivo (Collier *et al.*, 1975; Chacriyarat *et al.*, 1978; Deshmukh *et al.*, 1993; Skarda *et al.*, 1982; Paape *et al.*, 1978; Noredran *et al.*, 1979; Atheya *et al.*, 1989; Smith *et al.*, 1974; Dabas *et al.*, 1989; Tervit *et al.*, 1980; Sawyer *et al.*, 1986; Daiwadnaya *et al.*, 1995; Verma *et al.*, 1994; Nair *et al.*, 1989; Dabas *et al.*, 1990).

Solo algunos autores describen estos signos de estro como la presencia del útero turgente, descarga de moco vaginal, relajamiento de ligamentos sacros y maslo de la cola levantado (Chacriyarat *et al.*, 1978; Dabas *et al.*, 1989; Deshmukh *et al.*, 1993), signos que también se encontraron en este estudio.

Se encontraron otros dos trabajos de inducción a la lactación utilizando animales ovariectomizados: Sud (1972) y Head (1982), pero orientados con fines

diferentes a los de este trabajo. En ellos no se estudió la actividad estral, o las concentraciones hormonales en suero, ni quedó claro en ambos la diferencia en respuesta de lactación entre animales enteros y ovariectomizados. La inducción del estro con la aplicación de estrógenos en animales ovariectomizados es un fenómeno demostrado. Tratamientos con Syncro-Mate B inducen la actividad de estro en vaquillas ovariectomizadas, presentando elevadas concentraciones de estradiol en plasma y observando también la presentación de un pico de LH (Larson *et al.*, 1995). Cook (1986) utilizó diferentes dosis de benzoato de estradiol (BE) y demostró que una dosis de 125 a 500 μg de BE causa comportamiento de estro en vacas ovariectomizadas. Aunque la administración de glucocorticoides en vacas con estro normal, modifica la intensidad de la manifestación de celo, esto no se observa en vacas ovariectomizadas tratadas con 500 μg de BE junto con la administración de glucocorticoides o cortisol (Cook *et al.*, 1987). Situación semejante a lo observado a las vacas ovariectomizadas que fueron tratadas en este estudio.

Cuatro vacas presentaron comportamiento de macho, dos de ellas ovariectomizadas y dos completas con presencia de quistes foliculares. En las vacas con quistes foliculares, al no haber ovulación continúa la estereidogénesis folicular que puede seguir dos caminos: llegar hasta la aromatización y producciones de grandes cantidades de estradiol dando lugar al comportamiento de estro, o bien, los pulsos erráticos de LH producen hiperplasia de la teca, sintetizándose principalmente andrógenos en grandes cantidades, lo que puede producir un incremento de dihidrotestosterona, no aromatizándose y androstenediona; la primera inhibe directamente la aromatización, y la segunda se convierte a estrona, que inhibe la liberación de FSH que normalmente estimula la aromatización. Las grandes cantidades de andrógenos son las causales del comportamiento de macho (Kesler *et al.*, 1979b); en cuanto a las dos vacas ovariectomizadas que presentaron este comportamiento, lo más probable es que se haya debido a las grandes concentraciones séricas de estradiol que mostraron.

La manifestación de montas comenzó durante el principio de la segunda semana de tratamiento, que fue cuando terminó la administración de progesterona más estradiol, y comenzó la aplicación de estradiol solo durante siete días. Aquí se encontró en promedio la mayor concentración de estradiol en suero que fue de 440.54 ± 151 pg/ml en OVX y 365.67 ± 67 pg/ml en COMPL. Las montas homosexuales se siguieron manifestando y para el inicio de la lactación, se presentó el mayor número de montas, aun cuando las concentraciones de estradiol estaban declinando y se encontraban por debajo de los 100 pg/ml pero mayores a 40 pg/ml. Hasta el día 14 de lactación las concentraciones de estradiol fueron menores a 20 pg/ml, lo que coincidió con la reducción evidente del número de montas; después del día 20 de lactación la presentación de montas fue esporádica.

Las concentraciones mayores de progesterona en el suero ocurrieron durante su aplicación (1 TX), periodo en que el número de montas fue menor; se observó que cuando las concentraciones de progesterona eran menores a 1 ng/ml, se aumentó el número de montas. Ello concuerda con lo descrito por quienes encontraron que la progesterona y la progesterona sintética suprimen la manifestación de estro (Rathbone *et al.*, 2001).

Lefebvre and Block (1992) administraron estradiol en dosis bajas a vacas ovariectomizadas, y estas presentaron un comportamiento de estro similar a la de vacas intactas, esta misma hipótesis fue soportada por Allrich en 1994, quien demostró que el estradiol 17- β endógeno es una hormona que induce el estro, inmunizó vacas con un antagonista del estradiol -17 β que inhibió la expresión del comportamiento de estro.

Algunos autores pertenecientes al mismo equipo de trabajo, demostraron que la aplicación de 25 mg progesterona IM, los días 1 a 7 de la lactancia

inducida, no suprime los efectos del comportamiento de estro provocado por el estradiol del tratamiento inductor a la lactancia (ECP) (Espinosa *et al.*; 2005).

El comportamiento estral anormal, asociado con la inducción de la lactación, no tiene efecto en la subsiguiente concepción; en vacas inducidas los porcentajes de ovulación y de gestación, van desde el 67% al 100% con un tratamiento como el usado en este trabajo (Isidro *et al.*, 2001; Yañez *et al.*, 2004). Sin embargo, el tratamiento prolongo el intervalo del inicio de la lactancia a la primera ovulación, tres de cinco vacas completas ovularon en los días 33, 35 y 49 de lactancia y las otras dos tuvieron que tratarse el día 58 para eliminar los quistes que desarrollaron. Este desempeño reproductivo coincide con lo reportado por otros autores (Isidro *et al.*, 2001; Valdez *et al.*, 2003; Espinosa *et al.*, 2005.).

Usando la palpación rectal de los **ovarios** antes, durante y después del tratamiento de inducción a la lactación, Collier *et al.* (1975), Chacriyarat *et al.* (1978); Tervit *et al.* (1980), Smith *et al.* (1974), Daiwadnaya *et al.* (1995) reportan que durante la primera semana de aplicación del tratamiento, hubo una reducción uniforme del tamaño de todos folículos presentes en el ovario, sin presencia de un cuerpo lúteo, dando la apariencia de que los ovarios fueran ovario más pequeños y sin actividad. Con el uso de ultrasonido en el presente trabajo en el día 9 del tratamiento inductor también se observó una regresión de todas las estructuras ováricas presentes. Durante la primera semana del tratamiento cuando se aplico progesterona y estradiol desaparecieron y los folículos > 5 mm. La progesterona y estradiol tienen un efecto negativo a nivel del hipotálamo inhibiendo la síntesis y liberación de GnRH, y a nivel de la hipófisis reduciendo la formación de receptores para GnRH, estableciendo un patrón secreción de LH de baja frecuencia y alta amplitud, reduciéndose así la concentración media circulante de LH (Niswender *et al.*, 2000). La reducción en la liberación pulsátil de LH después de usar un tratamiento con progesterona (Larson *et al.*, 2000), provoca un soporte insuficiente para la foliculogénesis normal y puede provocar un decremento en el tamaño de

los folículos (Mackey *et al.*, 2000). Aproximadamente la misma cantidad y tamaño de los **folículos** permanecieron por 35 días, desde el día 10 del tratamiento hasta el día 26 de iniciada la lactación, coincidiendo con una baja total en las concentraciones de progesterona (abajo de 1 ng/ml en suero) y de estrógenos (por debajo de los 6 pg/ml en suero). El reinicio del desarrollo de ondas foliculares ocurrió después del día 26 de lactancia, y la consecuente ovulación de tres vacas en los días 33, 39 y 47 de la lactación. Las otras dos vacas desarrollaron quistes foliculares de diferente tamaño y duración. Alrededor de ese tiempo desaparece la inhibición sobre el hipotálamo, con lo que se aumenta la liberación pulsátil, en amplitud y frecuencia, de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y por ende de LH. La elevación de los niveles de FSH y estradiol favorecen la selección y el crecimiento folicular, como ocurre durante el metaestro y durante el diestro (Bearden y Fuquay, 2000).

La formación de **quistes foliculares** también se ha manifestado en otros trabajos de inducción a la lactancia (Collier *et al.*, 1975; Chacriyarat *et al.*, 1978; Deshmukh *et al.*, 1993; Erb *et al.*, 1975 y 1976; Atheya *et al.*, 1989; Smith *et al.*, 1973; Dabas *et al.*, 1989; Sawyer *et al.*, 1986; Daiwadnaya *et al.*, 1995; Verma *et al.*, 1994; Fair *et al.*, 1989; Lembowicz *et al.*, 1982; Harness *et al.*, 1978; Tervit *et al.*, 1980). Una de las causas para la formación de quistes foliculares es una deficiencia en la liberación de LH. En condiciones fisiológicas, los folículos preovulatorios secretan estrógenos que causan una retroalimentación positiva en el eje hipotálamo hipófisis, responsable de la liberación de LH para la ovulación. Una anomalía en este proceso, por la gran cantidad de estrógenos que se mantienen luego del tratamiento de inducción a la lactancia puede resultar en una inadecuada liberación de GnRH del hipotálamo y de LH hipofisaria que no induce la ovulación, pero favorece la retención de folículos de mayor tamaño en lugar de que sufran atresia.

Se ha demostrado que la administración de estradiol y de progesterona, que produce en altas concentraciones en sangre, similares a las que se encuentran al final de la gestación, inducen el desarrollo de quistes ováricos (Erb *et al.*, 1977, Winters *et al.*, 1986; Cook *et al.*, 1991). Situación similar a la que se presenta durante el inducción de la lactación. Los quistes foliculares fueron resueltos satisfactoriamente con 500 µg de gonadorelina (GnRH), en el día 53 de iniciada la lactación.

Las concentraciones basales para **LH** que se encontraron en estos animales fueron por debajo de 0.5ng/ml en suero durante todo el estudio, lo que es consistente con lo reportado, en vacas ovariectomizadas tratadas con estradiol y la progesterona, muestran efectos aditivos en reducir la frecuencia y amplitud de pulsos de LH (Price and Webb 1988; Stupf *et al.*, 1993). Como era de esperarse las concentraciones de LH fueron siempre mayores en vacas ovariectomizadas. En estas se mostró un ligero incremento después del día 15 de lactación, cuando las concentraciones circulantes de estradiol y progesterona ya eran menores.

Se ha demostrado que la aplicación de glucocorticoides exógenos inhibe el pico preovulatorio de LH, la ovulación y la actividad de estrógeno en vaquillas intactas (Stobel *et al.*, 1982), por lo tanto en un modelo de inducción a la lactación en donde se utilizan glucocorticoides es factible que hayan interferido en la liberación de LH.

La frecuencia de las muestras sanguíneas para determinar LH no estuvo diseñada para observar los picos preovulatorios, por lo que estos eventos solo se registraron como una pequeña elevación previa la día de la ovulación, en las vacas que ovularon después del día 33 de lactación.

El comportamiento de las concentraciones séricas de progesterona, que ya eran bajas al inició del ordeño manteniéndose así hasta el día 53, en vacas que no

ovularon y que desarrollaron quistes y hasta dos días antes de la ovulación en las vacas que ovularon, fueron similares a las reportadas por Chakriyarat (1978) y menores a las encontradas por Byatt (1997).

De la misma forma las concentraciones de **estradiol** en suero fueron similares a las observadas por Head (1982), quien utilizó vacas ovariectomizadas de diferentes razas y con tratamientos de estradiol y progesterona (.10 y .25 mg/kg) por 7 o 21 días más dexametasona (.028 mg/kg/d) o adenocorticotropina (200 UI/d) los días 18 a 20 ó 32 a 34, adicionalmente utilizó 100 µg de hormona liberadora de tirotrópina los días 1, 7 o 17; las concentraciones de estradiol que encontró en el día 1, 7 y 21 fueron 171.1 ± 101.9 , 1270.6 ± 216.0 , 138.5 ± 20.8 , pg/ml siendo mayores a las observadas por Jewell (2002) quien utilizó 50 mg/día de 17-B estradiol por siete días en vacas completas y obtuvo concentraciones sanguíneas promedio similares a las de vacas en estro (31 ± 11 pg/ml), sin embargo ellos no mencionan la presencia de celos atípicos relacionados con estas concentraciones de estradiol.

En el presente trabajo con el uso de cipionato de estradiol, 375 mg/día por siete días (1-7), más 15 mg/día por los siguientes siete días (8-14), las concentraciones de estradiol en suero más altas se presentaron durante los primeros 15 días del tratamiento (de 440 a 390 pg/ml), coincidiendo con el mayor número de montas. Posteriormente descendieron gradualmente y para el día 20 de lactación las concentraciones de estradiol se encontraban por debajo de los 20 pg/ml. La concentración más alta fue de 679 pg/ml para una vaca OVX en el día 15 del tratamiento y 455.29 pg/ml en una vaca COMP en el día 11 del tratamiento.

Estas concentraciones fueron menores a las reportadas por Deshmukh (1993), con un tratamiento de 0.1 mg/kg de peso administró 17-β estradiol por 7 días. En el día 21 las concentraciones fueron de 1270 ± 501 pg/ml declinando a 180 ± 26 pg/ml en el día 35. y con un tratamientos similares Chakravarty (1981)

quien obtuvo un pico de concentración al día 8 de 955 ± 239.8 pg/ml; y Fleming (1986) con 2206 pg/ml en el día 7.

En cuanto a la calidad de **leche**: los porcentajes de grasa, proteína y lactosa, fueron similares a los encontrados por (Davis *et al.*, 1983; Mahendra *et al.*, 1994; Ball *et al.*, 2000). Narendran *et al.*, en 1975; no encontraron diferencias al comparar los porcentajes de proteína y grasa entre vacas inducidas a la lactación con vacas recién paridas. Tervit *et al.*, en 1980 obtuvieron porcentajes de proteína y grasa mayores en vacas inducidas que en las vacas controles. Jewell (2002) en vacas Holstein inducidas encontró porcentajes de proteína mayores a las vacas control, pero menores en los porcentajes de grasa total. Deshmukh (1993) y Purohit (1991) reportaron que durante los primeros días de lactación, la leche tenía un color amarillento, lo cual se asemeja a lo encontrado en este trabajo. Ellos lo relacionaron con altas concentraciones de grasa y proteína en leche durante esos días, lo que no ocurrió con el trabajo que aquí se presenta.

En este trabajo las concentraciones de lactosa fueron ligeramente más altas en las vacas ovariectomizadas, durante la segunda semana de lactación.

Capítulo 7.

CONCLUSIONES

El comportamiento de estro no se difirió entre vacas ovariectomizadas y vacas completas. Por lo tanto una conclusión es que el comportamiento de estro es atribuido a los componentes hormonales del tratamiento inductor a la lactación, independientemente de la presencia de ovarios.

Además la actividad persistió hasta el día 20 de lactancia, cuando las concentraciones circulantes de estradiol mostraron valores menores a los 20 pg/ml en suero.

La producción y composición de la leche es similar en vacas ovariectomizadas y en vacas completas con lactación inducida. Por ello otra conclusión es que la presencia de ovarios no es requerida para el mantenimiento de una lactación inducida hormonalmente.

IMPLICACIONES.

El Tratamiento induce la formación de quistes foliculares en prácticamente todos los animales; aunque la mayoría se pueden resolver espontáneamente, de ser así las vacas comenzarán a ovular normalmente a partir de 30 días de iniciada la lactación. Ser debe estar preparado para eliminar los quistes foliculares con GnRH.

Capitulo 8

LITERATURA CITADA

1. Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JCH, Ginthe OJ. Asociation between surges of follicles-stimulating hormone and emergence of follicular waves in heifer. *J Reprod Fertil.* 1992; 94: 177-178.
2. Akers RM. Selection for milk production from a lactation biology viewpoint. *J. Dairy Sci.* 2000; 83: 1151–1158.
3. Allrich RD. Symposium: Estrus, New Devices and Monitoring. Endocrine and Neural Control Of estrus In Dairy Cows. *J Dairy Sci.* 1994; 77: 2738-2744.
4. Anderson LH, Day ML. Acute progesterone administration regresses persistent dominant follicles and improves fertility of cattle in which estrus was synchronized with melengestrol acetate. *J Anim Sci.* 1994; 72: 2955-2961.
5. Armstrong DG, Webb R. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Reproductions.* 1997; 2: 139-146.
6. Atheya UK and Sud SC. Short-term hormonal treatment for induction of lactation in repeat-breeding cattle. *Indian J Anim Sci* 1989; 59(5):558-560.
7. Baldwin DM, Sawyer CH. Effects of dexamethasone on LH release and ovulation in the cycling rat. *Endocrinology.* 1974; 94: 1397-2000.
8. Ball S, Polson K, Emeny J, Eyestone W, Akerst RM. Induction lactation in prepubertal holstein heifers. *J Dairy Sci* 2000; 83 (11): 2459-2463.
9. Bao B, Thomas MG, Williams GL. Regulatory roles of high-density and low-density lipoproteins in cellular proliferation and secretion of progesterone and insulin-like growth factor I by enriched cultures of bovine small and large luteal cells. *J Anim Sci.* 1997;75 (12):3235-45.
10. Bauman DE. Bovine somatotropina: review of emerging animal technology. *J Dairy Sci.* 1992; 75: 3432-3451.
11. Bayliss DA, Seroogy KG, Millhorn DE. Distribution and regulation by

-
- estrogens of progesterone receptor in the hypothalamus of the. *Endocrinology*. 1991; 128: 2610-2617.
12. Bearden HJ and Fuquay JW. *Applied Animal Reproduction*. 5th edition, Prentice Hall, New Jersey, USA. 2000; pp 57-80.
 13. Bo GA, Adams GP, Caccia M, Pierson RA, Mapletoft RJ. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and oestradiol in cattle. *Anim Reprod Sci*. 1995; 39: 193-204.
 14. Borsberry S, Dodson H. Periparturient diseases and their effect on reproductive performance in five dairy herds. *Vet rec*. 1989; 124: 217-219.
 15. Bosu WTK, Peter AT. Evidence for a role of intrauterine infection in the pathogenesis of cystic ovaries in postpartum dairy cows. *Theriogenology*. 1987; 28: 725-736.
 16. Britt JH, Harrison DS, Morrow DA, Frequency of ovarian follicular cysts, reason for culling, and fertility in Holstein-Friesian Cows given gonadotropin-releasing hormone at two weeks after parturition. *Amer J Vet Res*. 1977; 38: 749.
 17. Byatt JC, Sorbet RH, Eppard PJ. The Effect of recombinant bovine placental lactogen on induced lactation in dairy heifers. *J Dairy Sci* 1997; 80:496-503.
 18. Calder MD, Salfen BE, Bao B, Youngquist RS, Garverick HA. Administration of progesterone to cows with cystic follicular cysts results in a reduction in mean LH and LH pulse frequency and initiates ovulatory follicular growth. *J Anim Sci*. 1999; 77: 3037-3042.
 19. Calfield RW and Butler WR. Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Dom Anim Endoc*. 1990; 7(3):323-330.
 20. Chabber-Buffeta N, Skinner A, Caraty A, Bouchard P. Neuroendocrine effects of progesterone Steroids. 2000; 65: 613-620.
 21. Chakravarty BN, Razdan MN, Pandey JN. Udder development, induced lactational performance and economics of milk production following short duration estradiol 17- β and progesterone treatment in non-producing infertile crossbred cattle. *Indian J Dairy Sci* 1981; 34: 27-35.
 22. Chakriyarat H, Hed H, Thatcher WW, Neal FC. Induction of lactation: lactational, physiological and hormonal responses in the bovine. *J Dairy*

Sci 1978; 61: 1715-1724.

23. Chew BP, Erb RE, Fessler JF, Callahan CJ, Malven PV. Effects of ovariectomy during pregnancy and of prematurely induced perturbation on progesterone, estrogens, and calving traits. *J. Dairy Sci* 1979; 62: 557.
24. Collier RJ, Bauman DE, Hays RL. Milk productions and reproductive performance of cows hormonally induced into lactation. *J Dairy Sci*. 1975a; 58(10):1524-1527.
25. Collier RJ, Croom JW, Bauman DE. Cellular studies of mammary tissue from cows hormonally induced into lactation: lactose and fatty acid synthesis. *J Dairy Sci* 1975b; 59(7): 1226-1231.
26. Collier RJ, Croom JW. Effect of reserpine in milk production and serum prolactin of cows hormonally induced into lactation. *J Dairy Sci* 1977; 60 (6): 896-901.
27. Cook DL, Parfet JR, Smith CA, Moss GE, Youngquist RS, Gaverick HA. Secretory patterns of LH and FSH during development and hypothalamic and hypophysial characteristics following development of steroid-induced ovarian follicular cysts in dairy cattle. *J Reprod Fertil* 1991; 91: 19-28.
28. Cook DL, Smith CA, Parfet JR, Youngquist RS, Brown EM, Gaverick HA. Fate and turn over of ovarian follicular cysts cattle. *J Reprod fertile* 1990; 90, 37-46.
29. Dabas YPS, Atheya UK, Lankhchaura BD, Sud SC. Induction of lactation in repeat breeding cattle with estradiol valerate and hydroxyprogesterone caproate. *Indian Vet J* 1990; 67: 436-440.
30. Dabas YPS, Sud SC. Induction of lactation in cattle with oestradiol 17- β plus progesterone or stilboestrol dipionate plus hydroxyprogesterone caproate. *Indian J Anim Sci* 1989; 59 (12):1551-1555.
31. Daiwadnaya CB. Lactation in sterile cows and its effect on milk yield. *Livestock Adviser* 1995; 20(11): 23-31.
32. Davis SR, Welch RAS, Pearce MG, Peterson AJ. Induction of lactation in nonpregnant cows by estradiol-17 β and progesterone from an intravaginal sponge. *J Dairy Sci* 1983; 66: 450-457.
33. De Louis C, Djiane G, Kann M, Tergui M, Head HH. Induced lactation in cows and heifers by short-term treatment with steroid hormones. *Ann*

Biol Anim Bioch Biophys 1978; 18: 721.

34. Deshmurkh BT, Joshi VG, Katkam RR. Hormonal induction of lactation of dairy cattle: major milk constituents, and oestradiol and progesterone levels in serum and milk. *Indian J Anim Sci* 1993; 63(6): 611-617.
35. Edgerton L.A. and. Hafs HD. Serum luteinizing hormone, prolactin, glucocorticoid, and progestin in dairy cows from calving to gestation. *J. Dairy Sci.* 1973; 56: 451.
36. Elmore RG, Bierschwal CJ, Youngquist RS, Cantley TC, Kesler DJ, Garverick HA. Clinical responses of dairy cows with ovarian cysts following treatment with 10,000IU HCG or 100 mg GnRH. *Vet Med/Small Anim Clin* 1975; 70: 1346.
37. Erb RE, Monk EL, Mollet TA, Malven PV, Callahan CJ. Estrogen, progesterone, prolactin and other changes associated with bovine lactation induce with estradiol 17- β and progesterone. *J Anim Sci* 1976; 42 (3); 644-654.
38. Erb RE, Surve AH, Callahan Cj, Randel RD, Garverick HA. Reproductive steroids in the bovine. VIII. Changes postpartum. *J Anim Sci.* 1971; 33:1060.
39. Erb RE. Hormonal control of mamogenesis and onset of lactation in cows. *J Dairy Sci* 1976; 60 (2); 155-166.
40. Erb RE. Relative concentration of oestrogen and progesterone in milk and blood and excretion of oestrogen in urine. *J Anim Sci* 1977; 45 (3); 617-626.
41. Fleming JR, Head HH, Bachman KC, Becker HN, Wilcox CJ. Induction of lactation: histological and biochemical development of mammary tissue and milk yields of cows injected with estradiol-17 β and progesterone for 21 days. *J Dairy Sci* 1986; 69: 3008 – 3021.
42. Folley JR, Head HH, Bachman KC, Becker HN, Wilcox CJ. The chemical composition of bovine mammary secretions induced by the subcutaneous implantation or oral administration of synthetic estrogens. *J Endocrinol.* 1944; 4: 37.
43. Fulkerson WJ, Mc.Dowel GH. Artificial induction in cattle by use of dexametasone trimethylacetate. *Aust J Biol Sci.* 1975; 28(2); 183-187.
44. Fulkerson WJ. Artificial induction of lactation in maiden heifers.

-
- Theriogenology 1977; 8(4):136.
45. García E. Modificación al sistema de clasificación climática de Köpen. 4^a. Ed. México DF: Instituto de Geografía-UNAM, 1987
 46. Gaverick HA, Parfet JR, Lee CN, Copelin JP, Youngquist RS, Smith MF. Relationship of pre-and post-ovulatory gonadotropin concentration to subnormal luteal function in postpartum beef cattle. *J Anim Sci* 1988; 66: 104-111.
 47. Gaverick HA, Smith MF. Female reproductive physiology and endocrinology of cattle. *Veterinary clinics of North America*. 1993; 9: 223-247.
 48. Gaverick HA. Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J Dairy Sci*. 1997; 80: 995-1004.
 49. Ginther OJ. Selection of dominant follicle in cattle and horses. *Anim Reprod Sci*. 2000; 60:61-79.
 50. Goff JP. and Horst RL. Physiologicakl changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci* 1997; 80: 1260-1268.
 51. Grummer HA. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Anim. Sci* 1995; 73: 2820-2833.
 52. Hamilton SA, Gaverick HA, Keisler DH, Xu ZZ, Loos K, Youngquist RS, Salfen BE. Characterization of Ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biol Reprod* 1995; 53:890-898.
 53. Hammond J, Day FT. Oestrogen treatment of cattle: induced lactation and other effects. *J Endocrinol*. 1944; 4: 53.
 54. Hancock JP, Brumby PJ, Turner CW. Hormonal induction of lactation in identical twin dairy cattle. *1954 NZ J Sci. Technol*. 1954; 36: 111.
 55. Harness RJ, Anderson RR, Thompson LJ, Early DM, Younis AK. Induction of lactation by two techniques: success rate, milk composition, estrogen and progesterone in serum and milk, and ovarian effects. *J Dairy Sci* 1978; 61(12): 1725-1735.
 56. Head HH, Chakriyarat S, Thatcher WW, Wilcox CJ, Becker HN.

-
- Comparison of injections of estradiol- 17 β and progesterone for 7 or 21 days on prolactin response to thyrotropin releasing hormone and milk yield in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1982; 65: 927-936.
57. Hernández CJ. Cuerpos lúteos de vida corta en la vaca: desarrollo, causas y efectos sobre la fertilidad. VII Curso internacional de reproducción bovina. 1997 marzo 19-22, México (DF): AIBIR, AC, 1997: 271-278.
58. Hernandez-Ledezma JJ, Garverick HA, Elmore RG, Brown EM. Gonadotropin releasing hormone treatment of dairy cows with ovarian cysts. III Steroids in ovarian follicular fluid and ovarian cyst fluid and ovarian cyst fluid. *Theriogenology* 1982; 17: 697-707.
59. Ireland JJ, Mihn M, Austin E, Diskin MG, Roche JF. Historical perspective of turnover of dominant follicles during the bovine estrous cycles: key concepts, studies, advancements and terms. *J Dairy Sci* 2000; 83: 1648-1658.
60. Isidro VR, Villa-Godoy A, González PE, Ruiz DR. Inducción de la lactancia por métodos hormonales en vacas Holstein. Datos preliminares. XXV Congreso Internacional de Buatría; 2001 agosto 16-18; Veracruz, México. México (DF):Asociación mexicana de Médicos Especialistas en Bovinos, AC, 2001:
61. Jewell T. Artificial induction of lactation in nonbreeder dairy cows. Tesis de Maestría. 2002. Polytechnic Institute and State University. Virginia.
62. Kaneko H, Todoroki J, Noguchi J, Kikuchi K, Mizoshita K, Kubota C, Yamakuchi H. Perturbation of estradiol-feedback control of luteinizing hormone secretion by immunoneutralization induces development of follicular cysts in cattle. *Biol Reprod* 2002; 67:1840-1845.
63. Kesler DJ, Gaverick HA, Bierschwal Cj, Elmore RG, Younquist RS. Reproductive hormonal associated with normal and abnormal changes in ovarian follicles in postpartum dairy cows. *J Dairy Sci* 1979a.; 62: 1290.
64. Kesler DJ, Gaverick HA, Bierschwal Cj, Elmore RG, Younquist RS. Testosterone concentrations in plasma of dairy cows with ovarian cysts. *J Dairy Sci* 1979b; 63: 1825.
65. Kesler DJ, Gaverick HA, Caudle AB, Elmore RS, Youngquist RS,

-
- Bierschwal CJ. Reproductive hormones and ovarian changes in cows with ovarian cysts. *J Anim Sci* 1980; 63: 166-170.
66. Kesler DJ, Gaverick HA. Ovarian cysts in dairy cattle: a review. *J Anim Sci* 1982; 55: 1145-1159.
67. Lefebvre DM, Block E. Effects of recombinant bovine somatotropina on estradiol-induced estrus behaviour in ovariectomized heifers. *J Dairy Sci* 1992; 75: 1461-1464.
68. Lembowicz K, Rabek A, Skezeczowski L. Hormonal induction of lactation in the cow. *Br Vet. J* 1982; 138: 203.
69. Lucy CM, Bilby CR, Kirby CJ, Yuan W, Boyd CK. Role of growth hormone in development and maintenance of follicles and corpora.lutea. *J Reprod Fertil Suppl.* 1999;54:49-59. Review.
70. Lucy CM, De la Sota LR, Staples RC, Thacher WW. Ovarian follicular population in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropina (sometribove) or saline and fed diets differing in fat content and energy. *J Dairy Sci.* 1993; 76: 1014-1027.
71. Lyimo AZ, Nielen M, Ouweltjes W, Kruip TA, Van Eerdenburg FJ. Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. *Theriogenology.* 2000; 53(9): 1783-95.
72. Macmillan KL and Thacher WW. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol Reprod* 1991; 45: 883-889.
73. Mahendra S, Sangeeta N, Ludri RS and Setn R. Yield and compositional changes in milk of tharparkar heifer induced into lactation. *Indian Vet J* 1994; 71: 524-525.
74. Marion GB, Gier HT. Factors affecting bovine ovarian activity after parturition. *J Anim Sci.* 1968; 27: 1621.
75. McDowell CM, Anderson LH, Kinder JE, Day ML, Duration of treatment with progesterone and regression of persistent ovarian follicles in cattle. *J Anim Sci* 1998; 76: 850-855.
76. Meites J. 1961. *Farm Animals: Hormonal induction of lactation and*

galactopoietics. In Milk: The mammary gland and its secretions. Vol. 1 page 321. Academic Press, New York and London.

77. Mollet TA. Changes in oestrogen, progesterone, prolactin and lactation trait associated with injection of estradiol 17- β and progesterone in to lactating in cows. *J Anim Sci* 1976; 42 (3); 655-663.
78. Morales RS, Zarco QL. Comparación del porcentaje de concepción y la función lútea en vacas de primer servicio, vacas repetidoras y vaquillas Holstein. *Vet Met* 2000; 31(3):179-184.
79. Nair RN, Guru YK, Tiwari SK. A note on artificial induction of lactation in a sterile cow. *Indian Vet J* 1989; 177-178.
80. Narendram R. Hacker RR, Smith VG, Lun A. Hormonal of lactation in the bovine: estrogen and progesterone in milk. *J Dairy Sci* 1979; 62 (7): 1069-1075.
81. Narendram R. Hormonal of lactation in the bovine: mammary gland histology and milk composition. *J Dairy Sci.* 1975; 57 (11); 1334-1339.
82. Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush WE. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev* 2000; 80: 1-29.
83. Peel AT, Taylor JW, Robinson IB, McGowan AA, Hooley RD, Findlay JK. The importance of prolactin and the milk stimulus in the artificial induction of lactation in cows. *Australian J. Biol. Sci.* 1978; 31: 187.
84. Peel AT. Infertility due to abnormalities of ovaries In: Youngquist, RS, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. WB Saunders, Philadelphia, pp 349-354.
85. Peters AT. An update on cystic ovarian degeneration in cattle. *Reprod Dom Anim* 2004; 39:1-7.
86. Purohit NG, Rathore HS, Mathur SP. A note on artificial induction of lactation in dairy cows. *Indian vet J* 1991; 68: 1183.
87. Rathbone MJ, Kinder JE, Fike K, Kojima F, Clopton D, Ogle CR, Bunt CR. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 50:277-320.

-
88. Refsal KS, Jarrin-Maldonado JH, Nachereiner RF. Basal and estradiol-induced release of gonadotropins in dairy cows with naturally occurring cysts. *Theriogenology* 1988; 30: 679-693.
 89. Ribadu AY, Nakada K, Moriyoshi M, Zhang WC, Tanaka Y, Nakao T. The role of LH pulse frequency in ACTH-induced ovarian follicular cysts in heifers. *Anim Reprod Sci.* 2000; 64: 21-31.
 90. Roche JF, Mackey D, Diskin MD, reproductive management of postpartum cows. *Anim Reprod Sci.* 2000; 60: 703-712.
 91. Romero-Ramírez CM, Landeta ML, Tarrago CM, Sánchez- Aldana PA, Casas CA, Valencia MJ. Respuesta endocrina asociada a la eficiencia de tres tratamientos hormonales en vacas con quistes foliculares. *Vet Mex* 1995; 26:196-203.
 92. SAS, SAS User's Guide: Statistics. 5th edition Cary NC: SAS Inst. Inc. (1989).
 93. Sawyer GJ, Fulkerson WJ, Martin GB, Gow C. Artificial induction of lactation in cattle: initiation of lactation and estrogens and progesterone concentrations in milk. *J Dairy Sci.* 1986; 69: 1536.
 94. Schoonmaker JN, and Erickson GF. Glucocorticoides modulation of follicle-stimulating hormone-mediated granulosa cell differentiation. *Endocrinology.* 1983; 113: 1356-1363.
 95. Short RV. Further observations on the defective synthesis of ovarian steroids In the Stein- Leventhal Syndrome. 1962; 24: 339.
 96. Short RV. Steroids concentrations in normal follicular fluid and ovarian cyst fluid from cows. *J Reprod Fertil* 1962; 4: 27-45.
 97. Silvia WJ, Hatler TB, Nugent AM, Laranja da Fonseca LF. Ovarian follicular cysts in dairy cows: an abnormality in folliculogenesis. *Dom Anim Endocrinology* 2002; 23: 167-177.
 98. Sirois J, Fortune JE. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: A model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology* 1990; 127: 916-925.

-
99. Smith LK, Schanbacher FL. Hormone induced lactation in the bovine I. Lactational performance following injections of 17 β -estradiol and progesterone. *J Dairy Sci* 1973; 56 (6); 738-743.
 100. Smith LK, Schanbacher FL. Hormone induced lactation in the bovine II. Response of nulligravid heifers to modified estrogen-progesterone treatment. *J Dairy Sci* 1974; 57 (3); 296-303.
 101. Stock AE, Fortune JE. Ovarian follicular dynamics in cattle: Relationships between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology* 1993; 132: 1108-1114.
 102. Sud SC, Tucker HA, Meites J. Estrogen- Progesterone Requirements for Udder Development in Ovariectomized heifers. *J Dairy Sci* 1968; 51: 2.
 103. Sud SC: Induction of lactation in intact and ovariectomized heifers with 9-fluoroprednisolone acetate (Predef). *Indian J Expe Bio* 1972; 10:265-267.
 104. Taylor C, Rajamahendran R. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. *Can J Anim Sci* 1991; 71: 61.
 105. Tervit HR, Fairclough RJ, McGowen, Mac Kenzie DDS, Macmillan KL, Peterson AJ. Induction of lactation in dry cattle. *NZ Vet J* 1980; 28:15.
 106. Tucker HA. Hormones, mammary growth, and lactation: a 41-year perspective. *J Dairy Sci* 2000; 83: 875-885.
 107. Valdez MG. Inducción de la lactacion en vacas *Holstein friesian* sobre algunos parametros reproductivos. Tesis de Licenciatura. 2003. Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM.
 108. Venkalramaiab P, Narasimba AV. Lactation induction by hormonal treatment in infertile bovines. *Indian Vet J* 1992; 69: 184-186.
 109. Verma HK, Takkar OP, Pangaonkar GR, Sidhu SS, Dhablania DC. Artificial induction of lactation in crossbred cattle. *Indian J Dairy Sci* 1994; 47(11):912-914.
 110. Villa-Godoy A y Arreguin AA. Tecnología disponible y principales líneas de investigación para resolver el anestro posparto en vacas de doble propósito. XVI Simposio de Ganadería Tropical; 1993; Veracruz, México. México (DF): INFAP-SARH-UV, 1993: 55-84.
 111. Villa-Godoy A. Nutrición–Reproducción en bovinos: Presente y futuro de la Investigación. Memorias Curso Internacional de Fisiología de la

Reproducción en Rumiantes; 2003 septiembre 23-26; Montecillo, Edo de México. México: Colegio de Posgraduados Ganadería, 2003: 55-56.

112. Vynckier L, Debackere M, De Kruif A, and Coryn M. Plasma estradiol-17 β concentrations in the cow during induced estrus and after injection of estradiol-17 β benzoate and estradiol-17 β cypionate – a preliminary study. *J Vet pharmacol Therap* 1990; 13: 36-42.
113. Webb R, Campbell BK, Gaverick HA, Gong JG, Gutierrez CG, Armstrong DG. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. *J Reprod Fertil Suppl* 1999; 54: 33-48.
114. Webb R, England BG, Fitzpatrick KE. Control of the preovulatory gonadotropin surge in the ewe. *Endocrinology* 1981; 108: 1178-1185.
115. Wiltbank MC, Gümen A, Sartori R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 2002; 57: 21-52.
116. Yañez MA, Espinosa UJ, Villa-Godoy A, González PE, Ruiz DR. Inducción hormonal de la lactancia en vacas y vaquillas Holstein candidatas a desecho por problemas reproductivos. *Memorias del XXVIII Congreso Nacional de Buatría*; 2004 agosto 16-18; Morelia (Michoacán) México. México (DF) Asociación de mexicana de médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2004: 188-189.