



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**EVALUACIÓN DE DISTINTOS ESQUEMAS DE APLICACIÓN DE  
CIPIONATO DE ESTRADIOL COMO PARTE DE UN TRATAMIENTO  
INDUCTOR DE LA LACTACIÓN EN VACAS Y VAQUILLAS LECHERAS  
INFÉRTILES.**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA**

**MARÍA DEL CARMEN ESPEJEL DEL MORAL**

**TUTOR:**

**ALEJANDRO VILLA GODOY**

**COMITÉ TUTORAL:**

**JOSE LUIS ROMANO MUÑOZ  
LUIS ALBERTO ZARCO QUINTERO**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## DEDICATORIAS

A mi familia y amigos por el amor y fortaleza que me han concedido.

A todas las personas que intervinieron en la realización de este proyecto.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Doctor Alejandro Villa Godoy por su disposición y ayuda para la elaboración de este proyecto.

Al doctor José Luís Romano Muñoz por ser un excelente profesional y por su valiosa contribución en la realización de este proyecto.

Al doctor Luís Alberto Zarco por su importante colaboración en la realización de este trabajo.

Al doctor Joel Hernández Cerón, jurado y profesor a quien le agradezco haber sido parte de mi formación.

Al doctor Eugenio Villagómez Amezcua por su apoyo y disposición para la revisión de este trabajo.

A la doctora Irene Vitela por su valiosa asistencia en la realización de la fase experimental de este proyecto. Así, como a los propietarios del establo “Las Palomas” y a todo el personal del mismo por su valiosa contribución en la realización del trabajo de campo de este proyecto.

A Karla Rodríguez por su gran apoyo para la elaboración de este trabajo.

A Marcela y Elfego por la ayuda y amistad brindada durante este tiempo.

Al Laboratorio de Endocrinología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia en Ciudad Universitaria, UNAM. Especialmente a la doctora Clara Murcia Mejía y a Cecilia Vizcaya por las facilidades brindadas para el análisis de muestras en este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo para la realización de este proyecto.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES-C) y a todos los profesores que me apoyaron y condujeron durante mi formación.

# INDICE

	Página
<b>RESUMEN</b> .....	<b>I</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>III</b>
<b>CAPITULO I</b>	
INTRODUCCION.....	<b>1</b>
<b>CAPITULO II</b>	
REVISION BIBLIOGRAFICA.....	<b>5</b>
ANTECEDENTES DE LA INDUCCIÓN DE LA LACTACIÓN.....	<b>5</b>
HORMONAS UTILIZADAS PARA INDUCIR LA LACTACIÓN.....	<b>8</b>
INDUCCIÓN HORMONAL DE LA LACTACIÓN.....	<b>13</b>
INCONVENIENTES DEL PROTOCOLO INDUCTOR DE LA LACTACIÓN....	<b>17</b>
ESTRÓGENOS.....	<b>19</b>
CIPIONATO DE ESTRADIOL.....	<b>22</b>
RESUMEN.....	<b>23</b>
<b>CAPITULO III</b>	
HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	<b>25</b>
<b>CAPITULO IV</b>	
MATERIAL Y METODOS.....	<b>26</b>
<b>CAPITULO V</b>	
RESULTADOS.....	<b>32</b>
<b>CAPITULO VI</b>	
DISCUSION.....	<b>45</b>
<b>CAPITULO VII</b>	
CONCLUSIONES.....	<b>50</b>
REPERCUSIONES.....	<b>51</b>
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	<b>52</b>

## LISTA DE CUADROS

	Página
<b>Cuadro 1:</b> Tratamiento para inducir la Lactación.	15
<b>Cuadro 2:</b> Concentraciones de estradiol en leche (pg/ml), de las vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural, hasta el día 28 de lactación.	32
<b>Cuadro 3:</b> Promedio de las montas efectuadas y recibidas/día en vacas y vaquillas lactoinducidas durante los primeros 30 días de lactación y tiempo (día) en que las vacas y vaquillas efectuaron y aceptaron montas durante los primeros 30 días de la lactación.	37
<b>Cuadro 4:</b> Producción de leche acumulada durante el período de 1 a 150 días de lactación de las vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural.	38
<b>Cuadro 5:</b> Producción de leche máxima (pico) durante el período de 1 a 150 días de lactación de las vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural.	39
<b>Cuadro 6:</b> Promedio de producción de leche diaria de las vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural, durante los periodos: 1-30, 1-60, 1-90, 1-120 y 1-150 días de lactación.	42
<b>Cuadro 7:</b> Causas de desecho de vacas y vaquillas, durante los días 1 al 150 de lactación.	43
<b>Cuadro 8:</b> Costo de los diferentes protocolos de lactoinducción utilizados en esta investigación.	44

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1:</b> Perfiles Séricos de Glucocorticoides, Progesterona y Hormona del Crecimiento Durante el Periodo Periparto.	9
<b>Figura 2:</b> Perfil Sérico Estradiol Durante el Periodo Periparto.	9
<b>Figura 3:</b> Protocolos de Tratamientos Inductores de la Lactación.	28
<b>Figura 4:</b> Concentración de estradiol en leche, de vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural (LN), durante el periodo comprendido del día 1 al 30 de lactación.	34
<b>Figura 5:</b> Perfil de montas efectuadas/día por las vacas y vaquillas lactoinducidas del día 1 al 30 de lactación.	35
<b>Figura 6:</b> Perfil de montas aceptadas/día por las vacas y vaquillas lactoinducidas del día 1 al 30 de lactación.	36
<b>Figura 7:</b> Perfil de la producción de leche diaria de las vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural (LN) del día 1 al 150 de lactación.	40
<b>Figura 8:</b> Perfil de la producción de leche diaria de las vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural (LN, n=6), del día 1 al 60 de lactación.	41

## RESUMEN

### Espejel del Moral María del Carmen: **EVALUACIÓN DE DISTINTOS ESQUEMAS DE APLICACIÓN DE CIPIONATO DE ESTRADIOL, COMO PARTE DE UN TRATAMIENTO INDUCTOR DE LA LACTACIÓN EN VACAS Y VAQUILLAS LECHERAS INFÉRTILES.**

(Bajo la dirección del PhD. Alejandro Villa Godoy)

La inducción hormonal de la lactación es una alternativa para disminuir la tasa de desechos por infertilidad en hatos lecheros. Los inconvenientes no resueltos de los protocolos lactoinductores son: la elevada concentración de estradiol residual en leche destinada a consumo humano; la presentación de conducta estral irregular durante al menos los primeros 23 días de lactación debido a la elevada dosis de Cipionato de estradiol (ECP) administrada y el costo relativamente elevado de los tratamientos. Los objetivos de esta investigación fueron evaluar el efecto de la reducción en las dosis de ECP administradas como parte de un protocolo inductor de la lactación sobre: la conducta estral, la determinación del periodo durante el cual se encuentran concentraciones de estradiol en leche mayores que las encontradas durante la lactación natural, y el desempeño productivo de vacas y vaquillas Holstein destinadas al desecho por problemas reproductivos. Adicionalmente se evaluó el costo de los tratamientos lactoinductores. Se usaron 36 hembras distribuidas en tres tratamientos: **ECP-14**: a) Progesterona (375mg/día) + ECP (30mg/día) por vía IM del día 1 al 7; b) ECP (15mg/día) por vía IM, del día 8 al 14; c) Flumetasona (2.5mg/día) por vía IM, los días 18 a 20; d) Somatotropina recombinante bovina (500mg), por vía SC, los días 1, 7, 14 y 21. **ECP-7**: Se aplicó el tratamiento descrito para ECP-14 con la diferencia en que el ECP solamente se administró en días alternos (30mg/día en los días 1, 3, 5, 7 y 15mg/día en los días 9, 11,13). **ECP-3**: Se aplicó el tratamiento descrito para el grupo ECP-14, pero el ECP solamente se administró los días 1, 7 y 14 (en dosis de 30 mg en las tres ocasiones). Además se usaron otros 6 animales de lactación natural (**LN**) cuyo parto fue contemporáneo al tratamiento, como testigos absolutos. Se observó que al reducir el suministro de ECP a 52% (ECP-7), no se encontraron



diferencias en ninguna variable, con respecto al grupo ECP-14 (100% de ECP), pero redujo el costo en 71.3%. En contraste, al reducir el suministro de ECP a 29% (ECP-3) se acortó por 19 días (24 a 5 días de lactación) el período durante el cual las concentraciones de estradiol en leche son superiores a los valores encontrados en leche de vacas de LN y se redujo el número de montas efectuadas y recibidas, más no el período de actividad estral; pero la producción de leche disminuyó durante los primeros 60 días de lactación y aumentó el desecho por baja producción (ECP-3=43.8% vs LN=0%; ECP-14=12.5%; ECP-7=6.3%). La anterior situación permite concluir que la reducción del suministro de ECP al 52% no resuelve los problemas relacionados con el estradiol de los protocolos lactoinductores pero abarata el tratamiento sin afectar la producción; mientras que la reducción de ECP al 29% resuelve parcialmente los problemas conductuales y de contenido de estradiol en leche, pero eleva los riesgos de eliminación del hato de los animales que reciben este protocolo lactoinductor.

**Palabras clave:** Lactación inducida • Cipionato de estradiol • Conducta estral.  
Estradiol en leche • Producción láctea.

## ABSTRACT

Espejel del Moral María del Carmen: **EVALUATION OF THREE SCHEMES OF ESTRADIOL CYPIONATE ADMINISTRATION AS PART OF PROTOCOLS FOR THE INDUCTION OF LACTATION IN INFERTIL DAIRY COWS AND HEIFERS** (Advisor: PhD Alejandro Villa Godoy).

Hormonal induction of lactation is an alternative that has been developed to diminish the culling rate due to infertility problems. The most important disadvantages of the most common protocols are: the potential high concentration of estradiol in milk for human consumption, abnormal estrus activities at the beginning of the induced lactation and the relative high cost of hormones in treatments. The objectives of this investigation were to evaluate the effect of the reduction of the total dose of ECP on estrus behavior, estradiol concentrations in milk, and the productive behavior of Holstein cows and heifers destined for culling by reproductive problems. A total of 36 females (cows and heifers) were assigned to 3 protocols (12 animals each): **ECP-14**: a) Progesterone (375mg/day) + ECP (30 mg/day) both IM, from day 1 to 7; b) ECP (15 mg/day, IM) from day 8 to 14; c) Flumethasone (2.5mg/day) IM, from day 18 to 20; d) Recombinant bovine somatotropin (500mg; SC) on days 1, 7, 14 and 21. Milking began on day 21 from the first injection. **ECP-7**: Animals were treated as for ECP-14 except that ECP was administered only on alternate days (30mg/day of ECP, on days 1, 3, 5, 7 and 15mg/day of ECP on days 9, 11 and 13). **ECP-3**: Animals were treated as for ECP-14 except that ECP was only administered on days 1, 7 and 14 (30 mg on each case). Six additional animals on natural lactation (**LN**) were used as absolute controls. When ECP supply was reduced to 52% (ECP-7), relative to ECP-14 (100%), no differences were observed in any of the variables studied, but cost of treatment was reduced in 71.3%. In contrast, reduction of ECP (ECP-3) to 29 % of the dose used on ECP-14 shortened in 19 days the period when estradiol concentrations in milk were higher than the values found in the milk of the LN animals, and decreased number of mounts without altering the duration of estrous activity. However, ECP-3 reduced the milk yield during the first 60 days of lactation relative to LN

animals and increased the culling rate for low production (ECP-3=43.8% vs LN=0%; ECP-14=12.5%; ECP-7=6.3%). Thus, our first conclusion is that a reduction of ECP supply to 52% does not solve the problems related to estradiol but does not affect productive performance while reducing the treatment cost. A second conclusion is that by administering 29% of ECP, problems of estrus- like behavior and milk content of estradiol are partially solved, but this protocol increases the risk of culling due to low production.

**Key words:** Induction of lactation • Estradiol cypionate • Estrous behavior  
Estradiol in milk • Milk yield.

## INTRODUCCION

Las empresas lecheras frecuentemente tienen que descartar a los animales que ya no son rentables. El desecho de animales puede ser voluntario, que es aquel que se realiza cuando las vacas tienen una baja producción, por lo que es económicamente favorable eliminarlas del hato, o involuntario, que se realiza cuando los animales son excluidos del hato por presentar problemas reproductivos o de salud. En México la tasa de desecho anual por establo oscila entre 22% y 33% (Valdespino, 1993; Vitela *et al.*, 2004). La tasa óptima de desecho es de 25% a 30% (Bascom y Young, 1998; Lehenbauer y Oltjen, 1998). La mayor causa de desecho son los problemas reproductivos, pues el porcentaje de desecho por infertilidad fluctúa entre el 45.9% y 57.4% del total de los desechos (Coleman *et al.*, 1985; Orrego *et al.*, 2003; Magliaro *et al.*, 2004).

Para afrontar esta situación los ganaderos se ven obligados a vender sus animales a un precio inferior al de una vaca productiva, ya que la cantidad recibida por el animal eliminado, apenas representa entre el 20 y el 25% del valor de una hembra de reemplazo (Valdespino, 1993).

Para reducir los desechos involuntarios por problemas reproductivos, se han desarrollado diferentes métodos de inducción hormonal de la lactación como una alternativa cuyo propósito es disminuir el desecho involuntario por problemas de infertilidad. Un requisito para aplicar esta tecnología es que las vaquillas posean un alto potencial genético para la producción de leche; mientras que las vacas deberán tener un nivel de producción de al menos el promedio del hato (Isidro *et al.*, 2001; Espinosa, 2005; Yáñez, 2005).

La inducción artificial de la lactación se logra mediante la simulación de los perfiles de las hormonas involucradas en la mamogénesis y lactogénesis durante los últimos 21 días de la gestación y durante el parto. El propósito de este procedimiento, es el de lograr al menos una lactación en las vaquillas de

reemplazo infértiles y una lactación adicional en las vacas que no han quedado gestantes.

A través de los años se han diseñado diversos protocolos para inducir la lactación. En los más antiguos o de primera generación, se utilizaban combinaciones de estrógenos y progesterona aplicados hasta por 180 días; en otros protocolos se administraban estrógenos y progesterona durante solo siete días, seguidas o no por glucocorticoides. Smith y Schanbacher (1973) diseñaron un protocolo de 7 días, durante los cuales inyectaron estrógenos y progesterona e indujeron la lactación, obteniendo producciones entre 60% y 70% de lo obtenido en lactaciones normales. Collier (1975) además de estrógenos y progesterona administró dexametasona, documentando que los grupos que recibieron dexametasona demostraron mayor desarrollo de la glándula mamaria y un nivel de producción lácteo más alto (Erb *et al.*, 1976; Chakriyarat *et al.*, 1978; Pee *et al.*, 1978; Chakravarty *et al.*, 1981).

Los tratamientos considerados de segunda generación incluyen la administración de somatotropina bovina además de estradiol, progesterona y glucocorticoides. Nuestro grupo desarrolló un protocolo de segunda generación con las características antes señaladas que incluye: Progesterona (**P<sub>4</sub>**) (375mg/día) y Cipionato de Estradiol (**ECP**) (30 mg/día) por vía IM, del día 1 al 7; ECP (15 mg/día) por vía IM, del día 8 al 14; Flumetasona (**F**) (2.5 mg/día) por vía IM, los días 18-20, y Somatotropina recombinante bovina (**rbST**) (500 mg), por vía SC, los días 1, 7, 14 y 21. Con este protocolo la ordeña comienza el día 21 posterior al inicio del tratamiento (Espinosa, 2005; Yáñez, 2005; Valdez, 2006). Con éste protocolo Isidro *et al.*, 2001, no encontraron diferencias en la producción diaria de leche entre las lactaciones inducidas y las lactaciones naturales previas de los mismos animales, mientras que Yáñez (2005) aplicando el protocolo anterior obtuvo en las vacas inducidas un 28% menos de producción de leche por día de producción con respecto a vacas testigo durante lactación natural. El mismo autor registró que el 47.6% de los animales inducidos a lactar y que habían sido candidatos al desecho por problemas reproductivos resultaron gestantes después del tratamiento, habiéndose recuperado para el hato reproductor. Los tratamientos de segunda

generación demostraron ser exitosos debido a que además de inducir lactaciones con un nivel de producción suficiente para mantener a las vacas en el hato permiten que entre el 47.6% (Espinosa, 2005) y el 70% de ellas (Jewell, 2002) vuelvan a quedar gestantes y se reincorporen al hato productivo.

Los inconvenientes no resueltos a consecuencia de los tratamientos inductores de lactación son: a) El manejo de animales durante la administración del tratamiento; b) El costo elevado por cada tratamiento; c) La elevada concentración de estrógenos en sangre, que favorece la manifestación de conducta estral y en leche, lo que puede ser un riesgo para el consumidor (Erb *et al.*, 1976). d) La manifestación de signos de conducta estral durante los primeros días de lactación lo que predispone a la presentación de lesiones músculo-esqueléticas. (Erb *et al.*, 1976; Chakriyarat, 1978; Sawyer, 1986; Espinosa, 2005; Yáñez, 2005; Valdez, 2006).

Para tratar de mitigar estos inconvenientes nuestro grupo de investigación desarrolló un protocolo que utiliza un dispositivo intravaginal con progesterona (**CIDR**), en sustitución de la progesterona inyectada, obteniendo producciones lácteas similares a las alcanzadas con el protocolo original, logrando así una reducción del manejo de los animales y del costo del tratamiento (Rodríguez, 2007). Por otra parte Jewell en el 2002 aplicó un tratamiento inductor de la lactación con 7 aplicaciones de estradiol y progesterona, posterior a estas administró dexametasona y reserpina, logrando una producción ligeramente menor a las obtenidas con el protocolo desarrollado por nosotros, pero con menos aplicaciones de estradiol. Sin embargo no es posible afirmar que con la reducción de estradiol se puedan lograr lactaciones similares, porque además de la reducción de estradiol aplicó reserpina. Partiendo de este punto y considerando que la acción biológica de ECP dura hasta por más de 7 días (Vynckier *et al.*, 1990; Pfizer, 2006; Pharmacia & Upjohn, 2000), es factible que una determinada reducción en el número de aplicaciones y dosis logré desarrollar la glándula mamaria y alcanzar producciones lácteas similares a las obtenidas con el protocolo usualmente utilizado.

En esta investigación se evaluará la reducción en el número de aplicaciones de ECP con el propósito de disminuir las concentraciones de estradiol en leche; acortar o evitar los signos de comportamiento estral durante los primeros días de la lactación inducida y disminuir el costo del tratamiento, sin alterar el desempeño productivo de las vacas y vaquillas.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La inducción a la lactación es una práctica a la que frecuentemente se recurre en las explotaciones lecheras de México. Un inconveniente es que el ciproterona, componente hasta ahora imprescindible en los protocolos lactoinductores, provoca concentraciones elevadas de estradiol en sangre y en leche durante los primeros días de la lactación inducida (Chakravarty *et al.*, 1981; Head *et al.*, 1982; Valdez, 2005).

Los elevados niveles sanguíneos de estradiol provocan la manifestación permanente o intermitente de conducta estral durante las primeras tres a cuatro semanas de una lactación inducida (Erb *et al.*, 1976; Chakriyarat *et al.*, 1978; Harness *et al.*, 1978; Narendran *et al.*, 1979; Davis *et al.*, 1983; Sawyer *et al.*, 1986; Espinosa, 2005; Valdez, 2005). Por otra parte, las altas concentraciones de estradiol en la leche de las vacas con lactación inducida representan un peligro potencial para el consumidor, debido a los efectos carcinogénicos de los estrógenos en ciertos tipos de cáncer (Joachim, 2000; Cópola *et al.*, 2005).

En la presente revisión bibliográfica se muestra de manera estructurada y detallada la información relacionada con los antecedentes de los protocolos de inducción a la lactación, así como los efectos de las hormonas involucradas en dichos protocolos; los inconvenientes de los protocolos de inducción de la lactación y finalmente aspectos básicos de los estrógenos.

### **Antecedentes de la inducción de la lactación**

En México, el avance y fortalecimiento de la industria lechera y el precio ofertado por litro de leche al productor ejercen cada vez mayor presión sobre los ganaderos para establecer medidas de manejo intensivas que les permitan ser altamente productivos, enfrentándose a diversas situaciones que conducen a un alza desproporcionada en los costos de producción. Una de ellas, y quizás la más importante es la elevada tasa de eliminación involuntaria, compuesta por los animales que mueren y por los que los ganaderos se ven forzados a



eliminar por estar enfermos o por ser infértiles. Así, los ganaderos se ven obligados a reponer a los animales que se desechan para continuar con niveles adecuados de producción promedio (Lucy, 2001; Weigel, 2003; Fetrow, 2006). Los costos de reemplazo en los establos lecheros representan del 15 al 20 % del total de los costos de producción (Lehenbauer y Oltjen, 1998), por lo que es importante establecer medidas que minimicen el impacto económico que se genera al desechar animales del hato.

En México la tasa de desecho anual por establo oscila entre el 22% y el 33% (Valdespino, 1993; Vitela *et al*, 2004). Se considera la tasa óptima de desecho de 25% a 30%, debiendo ser principalmente por selección genética y no por necesidad debida a problemas de salud (Bascom y Young, 1998; Lehenbauer y Oltjen, 1998), pero la causa más importante del desecho son los problemas reproductivos, pues el porcentaje de desecho por infertilidad fluctúa entre el 47% y 52.7% del total del desecho (Orrego *et al.*, 2003; Magliaro *et al.*, 2004).

La progresiva disminución de los índices de fertilidad es uno de los principales problemas presentes en los hatos lecheros. En Estados Unidos de América la producción láctea por vaca se ha incrementado 20% durante los últimos 10 años. Al comparar el promedio de la producción de las vacas de hace 40 años con el rendimiento promedio de la población actual, resulta que ahora, mediante el avance genético se ha logrado duplicar su rendimiento. Sin embargo, el aumento en la producción se ha visto acompañado por un incremento de 40 días en los días abiertos debido a problemas de infertilidad (Lucy, 2001). En 1951 el índice de concepción a primer servicio era de 65% y en 1996 era de tan solo 40% (Butler, 1998). Al parecer existe una correlación genética positiva entre el rendimiento lechero y la duración del intervalo entre parto y concepción. En México hoy en día menos del 40% de las vacas resultan gestantes a primer servicio, mientras que hace 30 años más del 50% de las vacas lo hacían. Esto provoca que en los hatos exista un porcentaje elevado de vacas repetidoras, las cuales están sujetas a una alta probabilidad de desecho. La misma tendencia se ha observado en distintos países (Silvia, 1998; Hernández, 2001; Lucy, 2001). Los principales problemas reproductivos en hatos lecheros son la mortalidad embrionaria [temprana (40-60%) y tardía (10-

15%]). Algunas otras causas son: quistes ováricos (10.6%), metritis (4.2%), abortos (2.5%), y en el caso de becerras un inadecuado manejo nutricional (Ayalon, 1978; Diskin *et al*, 1980; Grohn *et al*, 1998; Hernández, 2001; Lucy, 2001). En conjunto, estos problemas reproductivos tienen un gran impacto negativo sobre la eficiencia productiva de los estables lecheros.

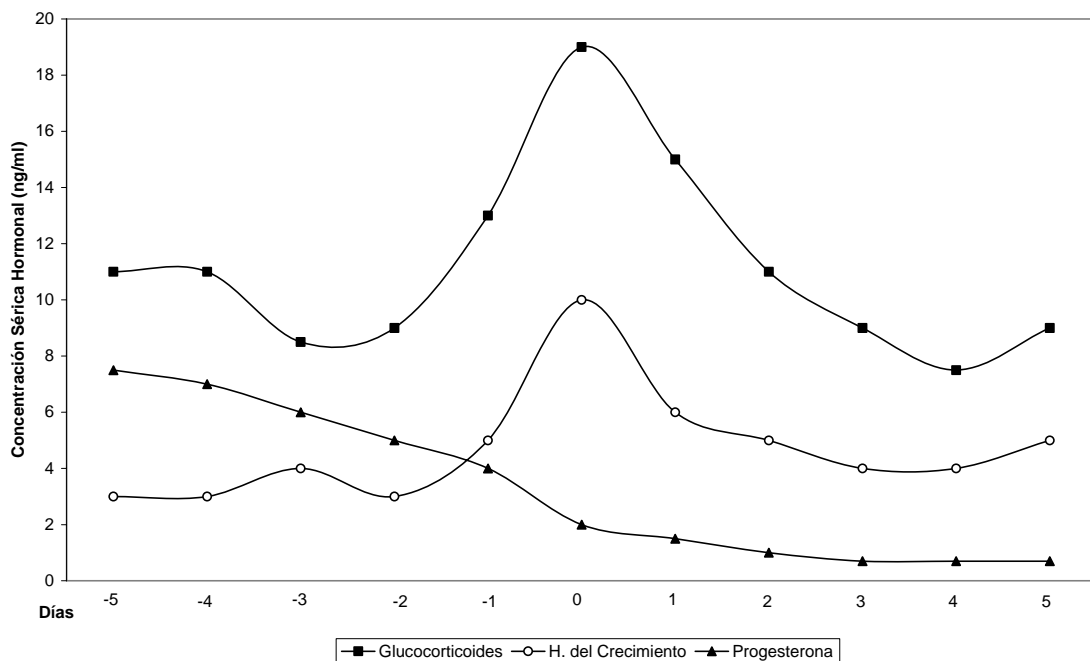
La principal pérdida derivada de la infertilidad es la ausencia de la lactación que normalmente sigue a la gestación y el parto. Por ésta razón, una forma de mitigar los efectos negativos de la infertilidad sobre la economía del establo es la inducción artificial de la lactación en ausencia de gestación y parto. La inducción de la lactación se logra mediante la simulación de los perfiles hormonales presentes durante los últimos días de la gestación y durante el parto, los cuales son responsables de la mamogénesis y la lactogénesis presentes durante los últimos días de la gestación y durante el parto. El propósito de la inducción de la lactación en las vaquillas de reemplazo es lograr que aquellas que no se han podido gestar, permanezcan por lo menos por un periodo de lactación en el hato, mientras que en las vacas repetidoras que terminan su lactación sin haber logrado quedar gestantes se busca que tengan por lo menos una lactación adicional antes de ser desechadas. Sin embargo, cada vez la producción lechera tiene que cumplir con más normas de calidad que difieren de región a región y de país a país: Muchos de estos índices, si bien están subordinados a necesidades económicas, buscan siempre lograr una armonía respecto al impacto para el medio ambiente y la salud del consumidor, existiendo siempre una preocupación cuando se utilizan hormonas exógenas en animales productores de alimentos.

### **Hormonas utilizadas para inducir la lactación**

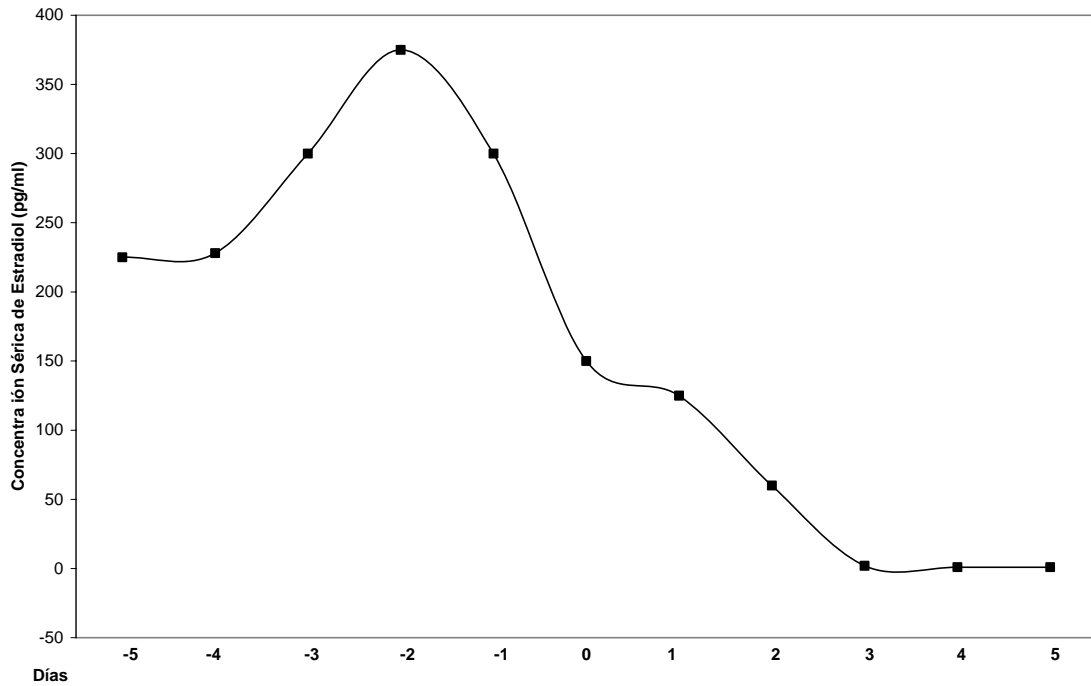
En condiciones naturales la producción láctea está determinada por el número de células secretoras que se desarrollan en la glándula mamaria durante la gestación y el parto. Al simular hormonalmente las etapas finales de la gestación se busca desarrollar las células y estructuras de la glándula mamaria

necesarias para que se logre obtener una lactación sin haber existido un estado de gestación previo.

El mayor crecimiento mamario ocurre durante el último tercio de la gestación, bajo la influencia de estrógenos, progesterona, corticosteroides y hormona del crecimiento. Durante dicho periodo crecen los conductos y se forman los alvéolos y los lóbulos mamarios. Cuatro o cinco días antes del parto disminuyen las concentraciones de progesterona y las concentraciones de estradiol se elevan súbitamente, estimulando tanto la secreción de prolactina como la síntesis de receptores para prolactina. Adicionalmente, poco antes del parto se elevan las concentraciones de corticosteroides y hormona del crecimiento (Figura 1 y 2) (Dijkstra, 1997; Tucker 2000; Capuco, 2001; Akers, 2002; Hurley, 2003).



**Figura 1: Perfiles Séricos de Glucocorticoides, Progesterona y Hormona del Crecimiento Durante el Periodo Periparto.**  
(Akers, 2002)



**Figura 2: Perfil Sérico Estradiol Durante el Periodo Periparto.**  
(Akers, 2002)

Al final de la gestación e inicio de la lactación se produce un cambio en el tipo de tejido de la glándula mamaria, pasando de tejido proliferativo a tejido con capacidad de síntesis de leche. Durante la lactación temprana el tejido se sigue diferenciando y aumenta la actividad secretora por célula. Después del pico de lactación la glándula mamaria sufre regresión gradual por medio de apoptosis celular (Dijkstra, 1997; Tucker, 2000; Capuco, 2001; Hurley, 2003).

La progesterona es una hormona de origen esteroide sintetizada a partir de colesterol, la cual es el principal producto de secreción del cuerpo lúteo. El mecanismo de acción de la progesterona es a nivel genómico, regulando directamente la transcripción mediante receptores nucleares. Además regula la apertura de canales iónicos mediante receptores de membrana. La progesterona mantiene una compleja relación con el estradiol, ya que mientras que la progesterona regula a la baja los receptores de estradiol los receptores de progesterona son sintetizados por efecto de los estrógenos. La progesterona está involucrada en preparar y mantener la gestación. Entre sus efectos están la reducción de las contracciones uterinas y la modificación del

moco cervical (Haslam, 1979; Chabbert-Buffet *et al.*, 2000; Niswender *et al.*, 2000; Tucker, 2000).

La progesterona induce mitosis en las células de los conductos mamarios provocando un crecimiento del sistema de conductos y favorece la formación lobular; estimula el desarrollo final de los lobulillos y alvéolos, haciendo que las células alveolares proliferen y aumenten de volumen. Si la progesterona se encuentra acompañada por estrógenos, ambas inducen el crecimiento lóbulo-alveolar. Pese al desarrollo de la glándula mamaria provocada por estrógenos y progesterona durante la gestación no se inicia la secreción de leche hasta que la glándula mamaria es estimulada por la prolactina, lo cual solo ocurre inmediatamente antes y durante el parto. Debido a que la progesterona compite por los receptores de corticosteroides en la glándula mamaria, durante la gestación no pueden actuar. Cuando disminuye la concentración de progesterona, 3 a 4 días antes del parto, los corticosteroides pueden finalmente ocupar sus receptores favoreciendo la diferenciación lóbulo-alveolar para que posteriormente la prolactina induzca la síntesis de lactosa,  $\alpha$ -lactoalbúmina y caseína, acciones que forman parte de la diferenciación de los alvéolos (Chef *et al.*, 1979; Haslam, 1979; Niswender *et al.*, 2000; Tucker, 2000; Hurley, 2003).

La progesterona inhibe el inicio de la lactación a través del mecanismo señalado anteriormente, pero una vez iniciada la lactación la progesterona no tiene efecto alguno sobre la producción láctea. Probablemente esto se deba a que durante la lactación los receptores para progesterona no están presentes o no se expresan en la glándula mamaria (Robinson *et al.*, 1995; Tucker, 2000).

Los estrógenos son hormonas esteroides, sintetizadas en el ovario, placenta y en menores cantidades en las glándulas adrenales. En el folículo ovárico las células de la teca producen andrógenos bajo la influencia de LH: estos andrógenos se difunden hasta las células de la granulosa, donde se transforman en estrógenos por efecto de la enzima aromatasa, cuya actividad es estimulada por la FSH. El estradiol es el estrógeno que posee mayor actividad biológica, seguido por la estrona y por último el estriol que posee un

efecto débil. Los estrógenos ejercen su acción regulando la expresión de genes, a través de la unión con receptores localizados en el núcleo celular. Los receptores interactúan con secuencias de nucleótido específicas denominadas elementos de reacción a estrógenos (**ERE**). Los receptores de estrógenos se encuentran en las vías reproductoras de la hembra, glándula mamaria, hipófisis, hipotálamo, hueso, hígado y otros órganos. El efecto de los estrógenos es mediado por dos tipos de receptores receptor alfa (**ERa**) y receptor beta (**ERb**), en el tejido mamario solo se localizan receptores tipo alfa (Bocchinfuso *et al.*, 2000; Dickson *et al.*, 2000; Niswender *et al.*, 2000; Tucker, 2000; Bayliss, 2003; Schams *et al.*, 2003).

En el aparato reproductor de la hembra los estrógenos producen hiperemia, edema, secreción de moco cervical, favorecen el crecimiento endometrial, promueven la fagocitosis y son los responsables de la manifestación de los signos de estro (Allrich, 1994).

En la glándula mamaria los estrógenos actúan de manera indirecta incrementando el número de receptores para prolactina en el tejido mamario. Adicionalmente, los estrógenos estimulan a los lactotrofos de la adenohipófisis para que secreten prolactina. En el estroma de la glándula mamaria los estrógenos inducen la secreción paracrina o autocrina de diversos factores de crecimiento, como el factor de crecimiento parecido a la insulina (**IGF-I**), factor de crecimiento de los fibroblastos (**FGF**), factor de crecimiento de transformación  $\alpha$  (**TGF $\alpha$** ) y factor estimulante de macrófagos (**M-CSF**) entre otros. El IGF-I es el principal factor de crecimiento implicado en la mamogénesis favoreciendo el crecimiento de las células epiteliales mamarias. Los factores de crecimiento estimulan la actividad mitogénica y el crecimiento de los conductos (Woodward *et al.*, 1993; Tucker, 2000; Akers, 2002).

Los glucocorticoides son una variedad de hormonas del grupo de los esteroides producidas en la corteza de las glándulas suprarrenales. Su acción se realiza mediante receptores citoplasmáticos. El cortisol es el glucocorticoide que predomina en vacas lecheras (Tucker, 2000). Durante la gestación los glucocorticoides se encuentran inactivos debido a que están unidos a proteínas

transportadoras (**CBG**). Días antes del parto estas proteínas disminuyen, incrementando los niveles de glucocorticoides libres en sangre. (Koprowski y Tucker 1973; Reichardt *et al.*, 2001).

En la glándula mamaria los glucocorticoides originan diferenciación del sistema lóbulo-alveolar y de manera sinérgica con la prolactina promueven la transcripción de caseína y lactoalbúmina (Akers, 2000; Tucker, 2000).

La hormona del crecimiento (**GH**) es una hormona peptídica sintetizada por los somatotropos de la adenohipófisis. En el hígado se encuentran grandes cantidades de receptores para hormona del crecimiento y cuando estos se activan se sintetiza factor de crecimiento parecido a insulina tipo I (IGF-I). El IGF-I hepático media la mayoría de las acciones de la GH (Bauman, 1992; Tucker, 2000).

En la glándula mamaria la GH posee un efecto galactopoyético, incrementa la producción láctea en un 6 a 30% y mejora la persistencia de la lactación (Svennersten, 2005). La GH regula la absorción celular y utilización de nutrientes; moviliza las reservas y actúa de manera sinérgica con los estrógenos y la progesterona para estimular la mamogénesis (Hurley, 2003).

La prolactina es una hormona peptídica que actúa a nivel genómico, se sintetiza en los lactotropos de la adenohipófisis. La prolactina estimula se la diferenciación y maduración del aparato de Golgi, así como la diferenciación del tejido secretor de la glándula mamaria. También estimula el metabolismo de las células epiteliales y estimula la síntesis y acumulación de RNA para la síntesis de lactosa,  $\alpha$ -lactoalbúmina, caseína y enzimas involucradas en la síntesis de lactosa (Svennersten, 2005; Bachelot, 2007).

### **Inducción hormonal de la lactación**

Las primeras referencias de investigaciones realizadas al respecto se remontan aproximadamente 60 años atrás, cuando se diseñaron diferentes métodos

basados en el control endocrino de la mamogénesis y de la lactogénesis diseñaron diferentes métodos para lograr inducir una lactación (Hammond, 1944). En los tratamientos más antiguos o de primera generación, se administraron dosis de estrógenos solos o combinados con progesterona durante periodos de aplicación que variaban desde 60 hasta 180 días, resultando poco prácticos. El porcentaje de vacas inducidas con estos esquemas era bajo y los niveles de producción eran menores que los obtenidos en lactaciones naturales. (Hancock *et al.*, 1954; Turner, *et al.*, 1956). Posteriormente Smith y Schanbacher (1973) se redujeron el tiempo de tratamiento, ellos administrando  $17\beta$  estradiol (0.1 mg/kg) y progesterona (0.25 mg/kg) durante siete días, logrando inducir la lactación en el 60% de los animales tratados, obteniendo niveles de producción entre 60% y 70% de lo obtenido en lactaciones naturales. Al aplicar este tratamiento las vacas mostraron una conducta estral intensa durante y después del tratamiento. Posteriormente y con la finalidad de obtener mejores resultados se comenzó a modificar el protocolo, agregando prolactina y o dexametasona para evaluar posteriormente el desarrollo mamario, producción láctea y concentración de hormonas en suero. En general se encontró como efecto secundario la manifestación de signos de conducta estral durante y después del tratamiento inductor (Erb *et al.*, 1976; Chakriyarat, 1978; Peel, 1978; Chakravarty *et al.*, 1981). Collier (1975) además de  $17\beta$  estradiol (0.1 mg/kg) y progesterona (0.25 mg/kg) administradas dos veces al día durante siete días, aplicó dexametasona (20 mg por vaca por día los días 18, 19 y 20) e informó que los animales a los que se les administró dexametasona presentaron mejor desarrollo de la glándula mamaria, mejor lactación y el 56% de los animales tratados quedaron gestantes después del tratamiento. Al protocolo anterior Collier (1976) le adicionó reserpina, que es un antagonista de la dopamina, por lo que provoca un incremento en la secreción de prolactina. El grupo control I (protocolo sin reserpina) produjo a los 100 días  $620 \pm 235$  Kg. De leche; el grupo reserpina I (5 mg/día del día 13 al 16) produjo  $1229 \pm 150$  Kg.; el grupo control II (sin reserpina) produjo  $835 \pm 266$  Kg. y el grupo reserpina II (5 mg/día los días 8, 10, 12 y 14) produjo  $1466 \pm 163$  Kg. Los grupos a los que se les administró reserpina mostraron producciones mayores a los 100 días en comparación con los grupos control. Peel *et al.*, (1978) administraron 5 mg de



reserpina los días 1, 6, 11,16 y 21. En este experimento no encontraron producciones elevadas pero más vacas respondieron al tratamiento.

Jewell (2002) aplicó dos veces al día 17β estradiol (0.1mg/Kg./día) y una vez al día progesterona (0.25 mg/Kg.) durante los primeros 7 días del tratamiento; del día 14 al 17 suministró prolactina (5 mg/día) y dexametasona (20 mg/día) y cada 15 días administró rbST durante 150 días. Ella obtuvo una mejora en los niveles de producción y disminuyó la variabilidad de las producciones obtenidas en los esquemas anteriores.

En la última década se desarrollaron tratamientos considerados de segunda generación, éstos incluyen la administración de somatotropina bovina, la inclusión obligada de corticosteroides y siete días adicionales de aplicación de estradiol, además de los siete días ya mencionados en que se suministra progesterona y estradiol en los protocolos de primera generación. Al respecto, nuestro grupo desarrolló un protocolo (Cuadro 1) con las características señaladas e incluye: a) Progesterona (P<sub>4</sub>) (375mg/día) y ECP (30 mg/día) por vía IM, del día 1 al 7; b) ECP (15 mg/día) por vía IM, del día 8 al 14; c) Flumetasona (F) (2.5mg/día) por vía IM, los días 18-20; d) Somatotropina recombinante bovina (rbST) (500mg), por vía SC, los días 1, 7, 14 y 21. La ordeña se inicia el día 21 a partir de la primera inyección.

**Cuadro 1: Tratamiento para inducir la Lactación.**

ECP 30 mg / día Y P <sub>4</sub> 375 mg/día	ECP 15 mg/día	-----	Flumetasona 2.5 mg/día	Ordeña
Día 1-7	Día 8-14	Día15-17	Día 18-20	Día 21

\*rbST 500 mg los días 1, 7,14 y 21.

ECP: (Cipionato de estradiol)  
Pfizer 2mg/ml.  
ECP 15 / 7.5 ml

F: (Flumetasona)  
Fort dodge 0.5 mg/ml  
Fluvet 5 ml

P<sub>4</sub>: (Progesterona)  
Fort Dodge 50 mg/ml  
Progesterona 7.5 ml

rbST: (Somatotropina recombinante bovina)  
Elanco 500 mg/ dosis  
Lactotropina

Isidro *et al* (2001) al utilizar este protocolo no encontraron diferencias en la producción de leche por día de lactación, entre las lactaciones inducidas y las lactaciones naturales previas de las mismas vacas. En otro trabajo en el que se aplicó el protocolo citado, Yáñez (2005) obtuvo en las vacas inducidas un 28% menos de producción de leche por día de lactación con respecto a vacas de lactación natural (30.3 VS 36.8 Kg. respectivamente). Los resultados en cuanto a la duración de la lactación fueron 341 días para las vacas de lactación natural y 298 días para las de lactación inducida. Por su parte, la producción total durante la lactación también fue menor en las vacas de lactación inducida (9,236 Kg.) que en las vacas de lactación natural (12,758 Kg.). En el mismo trabajo, se encontró que el 47.6% de los animales inducidos a lactar y que habían sido candidatos al desecho por problemas reproductivos, quedaron gestantes durante la lactación inducida, por lo que fueron recuperados para el hato reproductor (Yáñez, 2005).

Como se describió anteriormente, uno de los efectos secundarios indeseables de los tratamientos de inducción de lactación es la presencia continua o intermitente de actividad estral. Para tratar de reducir este problema, Espinosa (2005) determinó el efecto de la progesterona (25 mg/día) aplicada durante los primeros 7 días de lactación, pero no logró suprimir la conducta estral ya que las vacas tratadas mostraron celo intermitente durante al menos 23 días de lactación.

Valdez (2006) evaluó si el comportamiento de celo durante y después del tratamiento es mediado por la presencia de los ovarios o es debido por los componentes del tratamiento. Concluyó que la manifestación de celo esta mediada por los componentes del protocolo inductor de la lactación.

Los tratamientos de segunda generación han sido exitosos debido a que además de inducir lactaciones con un nivel de producción suficiente para mantener a las vacas en el hato; permiten que entre el 47.6% (Yáñez, 2005) y el 70% (Jewell, 2002) resulten gestantes y sean recuperadas para el hato reproductivo. Probablemente la actividad fagocitaria de las altas cantidades de

estradiol administrada elimina a los agentes patógenos causantes de la falta de fertilidad.

A pesar del relativo éxito obtenido al utilizar los tratamientos inductores de la lactación, se muestran varios inconvenientes que afectan la productividad del hato.

### **Inconvenientes del protocolo inductor de la lactación**

La inducción de la lactación es una práctica que se ha difundido ampliamente en México, alcanzando resultados provechosos en aquellos animales genéticamente superiores y en vacas infértiles con excelentes lactaciones previas. Sin embargo es necesario contrarrestar los efectos negativos que conllevan los tratamientos inductores de lactación, tanto de primera como de segunda generación, tales como: la inversión monetaria por tratamiento (Cuadro 7); el manejo repetido y estresante al que son sometidos los animales durante el periodo de aplicación del tratamiento; la posible presentación de quistes ováricos; la concentración elevada de estrógenos exógenos en suero y leche durante los primeros días de lactación y la manifestación de los signos de conducta estral durante aproximadamente las primeras tres semanas de lactación (Erb *et al.*, 1976; Espinosa, 2005; Yáñez, 2005; Valdez, 2006).

Actualmente el costo por tratamiento varía de \$1,500.00 a \$ 2,200.00, dependiendo del proveedor, siendo la progesterona (21%) y el cipionato de estradiol (60%) los fármacos que tienen mayor impacto en el costo. Rodríguez (2007) desarrolló un protocolo en el cual se utilizó un dispositivo intravaginal con progesterona (CIDR), en sustitución de la progesterona inyectada, obteniendo producciones lácteas similares a las alcanzadas con el protocolo original, con un ahorro por tratamiento del 12.8%.

Por otra parte, el problema de la inducción de quistes ováricos por los tratamientos no parece ser tan importante, ya que Valdez (2006) concluyó que la presencia de quistes ováricos posterior al tratamiento se resuelve espontáneamente antes de los 30 días de lactación (3 de 5 vacas). A los

animales que no los lograron eliminar antes del día 50 de lactación se les aplicó un tratamiento con GnRH para eliminar los quistes ováricos.

La concentración de estradiol en suero en los protocolos donde se administró  $17\beta$  estradiol durante siete días se mantiene por arriba de 25 pg/ml, disminuyendo entre los días 13 al 19 (Erb *et al.*, 1976; Willett *et al.*, 1976). Valdez (2006) utilizó el protocolo desarrollado por nuestro grupo, aplicó cipionato de estradiol y encontró las siguientes concentraciones en suero: el día 2 ( $102.82 \pm 9.55$  pg/ml); el día 14 ( $24.78 \pm 7.65$  pg/ml); el día 26 ( $7.59 \pm 4.84$  pg/ml) y el día 32 ( $7.38 \pm 5.93$  pg/ml). Harness *et al.* (1978) y Sawyer *et al.* (1986) utilizaron benzoato de estradiol durante 10 y 11 días, demostrando que la concentración de estradiol en leche disminuye hasta el día 30 de lactación con la posibilidad de ser nocivo para la salud pública al consumir la leche con altas concentraciones de estradiol.

La manifestación permanente o intermitente de los signos de conducta estral durante los primeros 29 días de lactación es un inconveniente significativo en los hatos lecheros que realizan inducción de la lactación, debido a que los animales se muestran nerviosos y efectúan y reciben un gran número de montas, con la latente posibilidad de lesionar o fracturar a sus compañeras o incluso a ellas mismas (Erb *et al.*, 1976; Chakriyarat, 1978; Sawyer *et al.*, 1986; Espinosa, 2005; Valdez, 2006; Rodríguez, 2007).

Se ha demostrado que el comportamiento estral es inducido directamente por la elevación de la concentración de estradiol en sangre, ya que al administrar estradiol a vacas, caballos, borregas y cerdas ovariectomizadas se les logra provocar la manifestación de conducta estral. Los receptores  $\alpha$  de estradiol que regulan la función gonadal y la conducta sexual se localizan en las áreas preóptica medial, núcleos hipotalámicos, arqueado y ventromedial, así como en la amígdala. Los receptores  $\beta$  se expresan en la corteza cerebral, hipocampo, así como en el núcleo paraventricular y supraóptico del hipotálamo (Arroyo *et al.*, 2005). Bajo la influencia de los estrógenos sobre el núcleo ventromedial del hipotálamo los estímulos externos (visión, audición, olfato y tacto) se envían directamente al hipotálamo en donde se efectúa la sinapsis con neuronas del

hipotálamo ventromedial, anterior, y preóptico. En este sitio las neuronas secretan péptidos específicos que sirven como neurotransmisores que actúan en el cerebro medio, produciendo una respuesta neuronal. Las respuestas se integran en la medula y se realizan sinapsis con neuronas motoras que inervan músculos para ejercer una respuesta muscular (Mc Ewen, 1999; Senger, 2003; Apostolakis *et al.*, 2004).

Durante la fase folicular del ciclo estral el aumento en la frecuencia de secreción de LH estimula la síntesis de estradiol en los folículos en desarrollo, incrementando la concentración de estradiol en la circulación general. Una vez que se alcanza el umbral de estradiol y cuando la progesterona se encuentra en niveles basales se manifiesta el comportamiento estral. En la fase pre-ovulatoria el estradiol favorece la liberación cíclica de GnRH, lo que induce el pico pre-ovulatorio de LH (Barrell *et al.*, 1992; Allrich, 1994; Blache *et al.*, 1994; Arroyo *et al.*, 2005; Caraty *et al.*, 2002).

La progesterona inhibe la conducta estral aún existiendo niveles de estradiol permisibles para la presentación del estro, probablemente debido a que la progesterona regula a la baja los receptores de estradiol (Alrich, 1994). Espinosa (2005) aplicó 25 mg diarios de progesterona durante los primeros siete días de una lactación inducida pero esa dosis no logró suprimir la manifestación de la conducta estral.

## **Estrógenos**

Los estrógenos son hormonas esteroides derivadas del colesterol sintetizados en los ovarios, placenta y en glándula adrenal. El colesterol libre en el citosol se utiliza para formar hormonas esteroides (esteroideogénesis); formación de membranas o esterificarse con ácidos grasos para formar ésteres de colesterol. El colesterol proviene de la dieta o incluso puede ser sintetizado a partir de Acetil-Co en la membrana externa de las mitocondrias de las células, principalmente en el hígado, corteza adrenal, piel, intestino, ovaros, testículos y placenta, aunque prácticamente se puede sintetizar en cualquier tejido. La síntesis del colesterol requiere una fuente de átomos de carbono y un gran

poder reductor para generar los enlaces carbono-hidrógeno y carbono-carbono. Todos los átomos de carbono del colesterol provienen del acetato. El colesterol tiene un esqueleto básico compuesto por 4 anillos internos y 27 carbonos. En general la ruta metabólica se da a partir de los pregnanos a los androstanos y de los androstanos a los estranos. Para que esta función se realice es necesario que existan enzimas y sustratos especiales en la membrana interior de la mitocondria de las células (Cóppola *et al.*, 2005)

La estructura de las hormonas esteroides es similar entre ellas, según el número de átomos de carbono se clasifican en progestágenos con 21 átomos de carbono; andrógenos con 19 átomos de carbono y estrógenos con 18 átomos de carbono. Los estrógenos se forman por aromatización de los andrógenos (Siiteri, 1982; Kuhl, 1990; Murray, 2004).

En los folículos ováricos se encuentran dos clases de células esteroidogénicas, con diferente actividad enzimática: las células de la teca interna y las células de la granulosa. Las células de la teca interna poseen receptores a LH y su función es realizar la conversión de colesterol a progesterona y de progesterona a testosterona. En contraste las células de la granulosa son incapaces de sintetizar andrógenos, por lo que importan los andrógenos sintetizados en las células de la teca para transformarlos en estrógenos. Las células de la granulosa poseen receptores a FSH, hormona que estimula la actividad de la enzima aromatasa que interviene en el proceso de aromatización para obtener  $17\beta$  estradiol (Bayliss, 2003; Murray, 2004).

Debido a su naturaleza lipídica las hormonas esteroides no se almacenan, sino que se secretan conforme se van produciendo. La tasa de secreción de los esteroides varía en dependencia de la etapa reproductiva y se relaciona directamente con su tasa de producción en el ovario (Murray, 2004). Los esteroides sexuales circulan en sangre unidos a proteínas transportadoras. Las globulinas transportadoras de hormonas sexuales (**SHBG**), son betaglobulinas que transportan principalmente al estradiol y a la testosterona proporcionando una reserva circulante de dichas hormonas. En menor cantidad los esteroides

se pueden unir en forma inespecífica a la albúmina para su transporte en sangre (Kuhl, 1990; Bayliss, 2003; Murray, 2004).

El metabolismo y la inactivación de los estrógenos ocurren principalmente en el hígado, donde el estradiol es convertido a estrona y la estrona a estriol. Este último se excreta en la orina. En el hígado también se conjugan los estrógenos para formar glucurónidos y sulfatos. Una parte de estos se eliminan por la bilis que es secretada al intestino en donde los compuestos se hidrolizan y se reabsorben o se pierden en las heces. En menor cantidad las hormonas sulfatadas y glucouronadas se eliminan por la orina (Bayliss, 2003; Murray, 2004).

Los estrógenos son liposolubles, por lo que tienen la capacidad de entrar a la célula blanco cruzando la membrana plasmática para alcanzar a su receptor y regular la transcripción de genes específicos. Los receptores son miembros de la superfamilia de receptores nucleares, los estrógenos tiene dos receptores diferentes los  $\alpha$  (ERa) y los  $\beta$  (ERb) (Zhu *et al*, 1998; Gustafsson, 1999; Murray; 2004; Teppa, 2005). Los receptores ERa se encuentran en el útero, glándula mamaria, placenta, hígado, sistema nervioso central, sistema cardiovascular y hueso. Los receptores ERb están presentes en ovario, pineal, tiroides, paratiroides, adrenal, vesícula biliar, piel, tejido urinario, tejido linfóide, tejido eritroide, pulmón y epitelio intestinal. En el tejido muscular estriado predomina el ERb y el ERa se encuentra en niveles muy bajos (Arroyo *et al.*, 2005).

El mecanismo de acción de los estrógenos es a nivel genómico, la respuesta de los tejidos resulta de activación simple directa de uno o algunos genes o de una activación compleja con la activación de genes que inician una cascada de procesos secundarios. La interacción se da en el DNA, al unirse el receptor con el estrógeno se disocia el complejo corepresor del receptor y se une a un compuesto coactivador, iniciando la transcripción (Murray, 2004; Arroyo *et al.*, 2005).

Los estrógenos naturales son estradiol, estrona y estriol. El estradiol es el más potente, seguido por la estrona con potencia media y el estriol que es el más débil (Bayliss, 2003). Los esteroides sintéticos cuentan con modificaciones químicas que les permita obtener efectos farmacológicos favorables, como mayor vida media o mayor potencia (Hochberg, 1998; Zhu y Conney, 1998; Murray, 2004).

### **Cipionato de estradiol**

El Cipionato de estradiol (estradiol 17 $\beta$  ciclopropionato) es un esteroide sintético de gran potencia. Se produce por esterificación del estradiol con ácido ciclofentanopropiónico con la finalidad de lograr una vida media superior y mayor potencia en comparación con los estrógenos naturales (Hochberg, 1998). Es un polvo blanco, cristalino inodoro; se funde entre 149-153 °C.; es soluble en alcohol y en aceite. La temperatura ideal de almacenaje es de 15-30 °C, se debe evitar la congelación y no se recomienda mezclar con otros fármacos. Las soluciones comerciales inyectables de cipionato del estradiol son soluciones estériles diluidas en aceite de la verdura, normalmente en aceite de semilla del algodón (Pharmacia & Upjohn, 2000; Pfizer, 2006).

Al administrar cipionato de estradiol por vía intramuscular se deposita en el tejido de la zona de inyección, desde donde es liberado gradualmente. En sangre se une a globulinas y albúmina para transportarse. El hígado lo desdobra a estradiol y es excretado por bilis y orina. Se ha documentado que la vida media del cipionato de estradiol aplicado intramuscularmente es de 7 a 10 días en vacas. (Vynckier *et al.*, 1990; Pharmacia & Upjohn, 2000; Pfizer, 2006). Los efectos adversos al aplicar este compuesto en vacas son: presentación de estros prolongados, irritación genital, quistes foliculares. En humanos está contraindicado en pacientes con cáncer de mama o endometrial (Pharmacia & Upjohn, 2000; Pfizer, 2006).



## Resumen

La inducción a la lactación intenta simular hormonalmente las etapas finales de la gestación y el parto con la finalidad de desarrollar a la glándula mamaria para obtener al menos una lactación más en vacas y vaquillas infértiles. Las hormonas comprendidas en este tratamiento de segunda generación son: estrógenos, progesterona, corticoesteroides y hormona del crecimiento. Los tratamientos de segunda generación han sido exitosos debido a que además de inducir lactaciones con un nivel de producción suficiente para mantener a las vacas en el hato; permiten que entre el 47.6% (Yáñez, 2005) y el 70% (Jewell, 2002) resulten gestantes y sean recuperadas para el hato reproductivo. Sin embargo existen inconvenientes al administrar el protocolo para la inducción a la lactación, ya que la administración de los estrógenos conlleva a mantener niveles de estradiol en suero por arriba de 25 pg/ml al menos hasta el día 13 de una lactación inducida, lo que origina la presentación permanente o intermitente de signos de estro durante las primeras cuatro semanas de una lactación inducida, Ni siquiera la aplicación de progesterona aplicada al inicio de la lactación logra anular los signos de conducta estral. Además la concentración de estrógenos en leche permanece elevada hasta el día 30 de la lactación inducida, lo que puede constituir un riesgo para la salud humana (Erb *et al.*, 1976; Chakriyarat *et al.*, 1978; Harness *et al.*, 1978; Narendran *et al.*, 1979; Sawyer *et al.*, 1986; Davis *et al.*, 1983; Espinosa, 2005; Valdez, 2005).

Considerando que la acción biológica de ECP dura hasta por más de 7 días (Vynckier *et al.*, 1990; Pharmacia & Upjohn, 2000; Pfizer, 2006) es factible una reducción en el número de aplicaciones y dosis aún logré desarrollar a la glándula mamaria para alcanzar producciones lácteas similares a las obtenidas con el protocolo normalmente utilizado. En la presente investigación evaluaremos si la reducción en el número de aplicaciones de ECP resulta en una disminución en las concentraciones de estradiol en sangre y en leche, acorta o evita el período durante el cual los animales lactoinducidos muestran comportamiento estral durante los primeros días de la lactación, y reduce los costos del tratamiento.

## **HIPÓTESIS**

Con relación a un protocolo lactoinductor aplicado a vacas y vaquillas destinadas al desecho por problemas reproductivos, y que incluye 14 inyecciones intramusculares (IM) de cipionato de estradiol (ECP), una diaria del día 1 al 14 del tratamiento:

1. La aplicación de 7 ó 3 inyecciones discontinuas de ECP (días 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 13 ó 1, 7 y 14) en el tratamiento inductor de la lactación, acorta el período durante el cual las concentraciones de estradiol en leche son superiores a los valores encontrados en leche de vacas con lactación natural (LN).
2. La aplicación de 7 ó 3 inyecciones de ECP en el tratamiento inductor de la lactación disminuye la duración y la actividad estral durante la lactación inducida, en comparación con los tratamientos de 14 inyecciones diarias de ECP.
3. La aplicación de 7 ó 3 inyecciones discontinuas de ECP en el tratamiento inductor de la lactación induce lactaciones similares a las producidas por 14 inyecciones de ECP suministradas diariamente.

## **OBJETIVOS**

Evaluar el efecto de la reducción de ECP en un protocolo inductor de la lactación, sobre la concentración de estradiol en leche, la conducta estral y el desempeño productivo de vacas y vaquillas Holstein destinadas al desecho por problemas reproductivos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó entre los meses de noviembre de 2006 y abril de 2007, en el establo “Las Palomas”, situado en el Km. 22 de la carretera Aguascalientes-Zacatecas, municipio Pabellón de Arteaga, en el estado de Aguascalientes. La empresa se localiza a 22° 05´ latitud norte 102° 16´ latitud oeste y a una altitud de 1880 msnm. (Gobierno del estado de Aguascalientes, 2007). El establo cuenta con 1366 vacas en línea, con una producción promedio de 28 Kg. de leche al día. Las vacas fueron ordeñadas 6 veces diarias entre los días 1 y 42 de la lactación; posteriormente se ordeñaron 3 veces al día.

Treinta y seis hembras fueron programadas para recibir uno de los tratamientos lactoinductores (vacas y vaquillas Holstein), que de no haber ingresado al experimento, hubieran sido eliminadas del hato por fallas reproductivas. Todas las vacas lactoinducidas tuvieron un período seco de 45 días. La edad de las vaquillas varió entre 18 y 24 meses y todas ellas superaron la edad establecida en el establo para quedar gestantes. Se incluyó un grupo testigo conformado por 3 vacas y 3 vaquillas de lactación natural (LN), cuyo parto se presentó  $\pm$  5 días con relación al inicio de la ordeña de las vacas inducidas y su periodo seco fue de 60 días. Todas las vacas y vaquillas se examinaron para constatar que se encontraban clínicamente sanas y recibieron una dieta integral de acuerdo a la etapa productiva en la que se encontraban. Las unidades experimentales se agruparon en las siguientes combinaciones de tratamientos (Figura 3):

### **\*Grupo ECP-14 (tratamiento usado como testigo lactoinductor):**

Constituido por 12 unidades experimentales (3 vaquillas y 9 vacas), quienes recibieron el tratamiento siguiente:

- Cipionato de estradiol (ECP): Del día 1 al 7, 30 mg/día y del día 8 al 14, 15 mg/día, por vía IM.
- Progesterona (P4): Del día 1 al 7, 375mg/día, por vía IM.

- Flumetasona (F): Del día 18 al 20, 2.5mg/día, por vía IM.
- Somatotropina recombinante bovina (rbST): Los días 1, 7, 14 y 21, 500mg, por vía subcutánea (SC).

**\*Grupo ECP-7:**

Constituido por 12 unidades experimentales (4 vaquillas y 8 vacas), tratadas de la manera siguiente: La aplicación de P4, F y rbST fue como en el protocolo del grupo ECP-14, la diferencia residió en la administración del ECP, ya que en los días 1, 3, 5, 7 se aplicaron 30mg/día por vía IM y en los días 9, 11, 13 se aplicaron 15mg/día por vía IM.

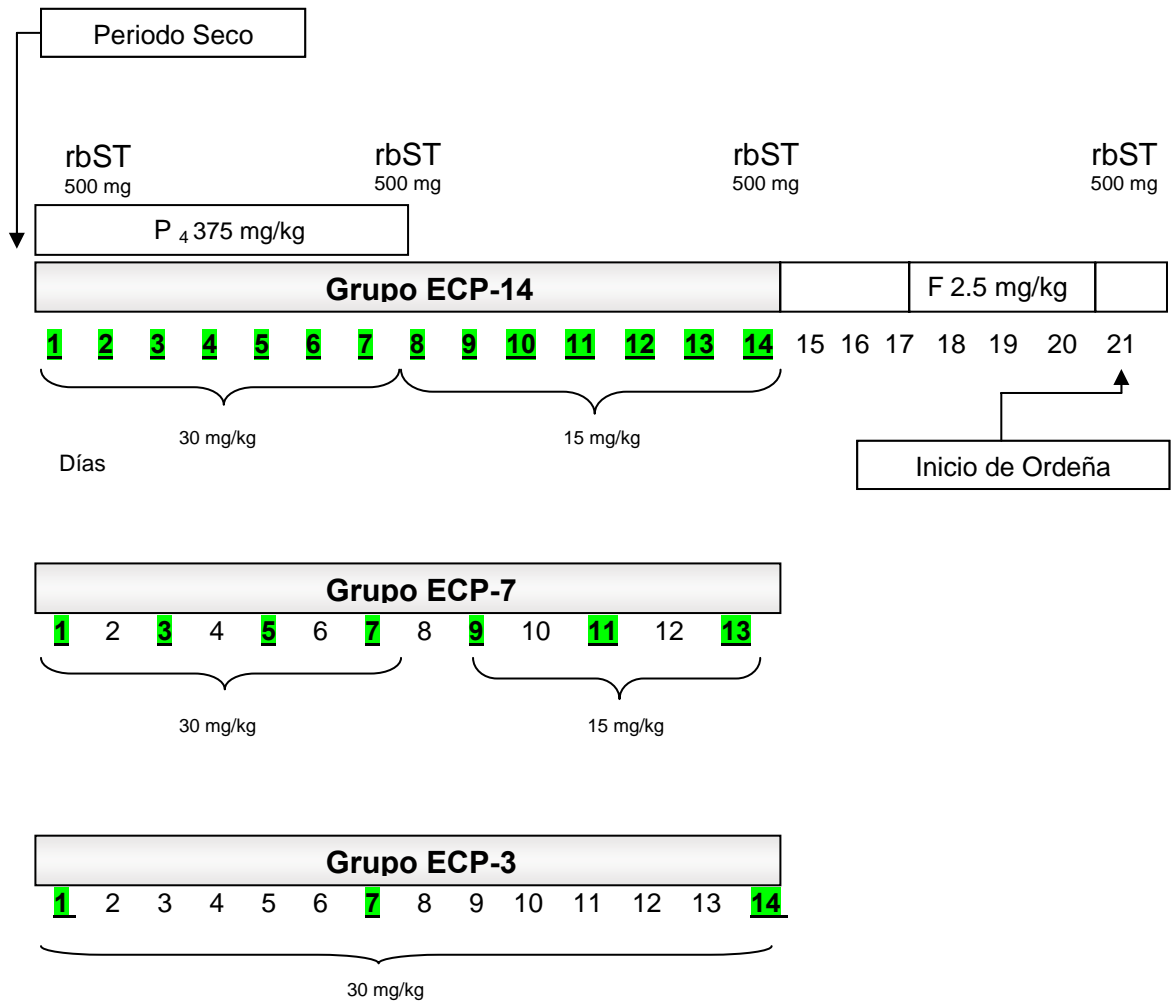
**\*Grupo ECP-3:**

Constituido por 12 unidades experimentales (3 vaquillas y 9 vacas), tratadas de la manera siguiente: La aplicación de P4, F y rbST fue como en el protocolo del grupo ECP-14, la diferencia residió en la administración del ECP, ya que se aplicaron 30 mg/día en los días 1, 7 y 14 exclusivamente.

**\*Grupo de lactación natural (LN; testigo absoluto):**

Constituido por 6 unidades experimentales (3 vaquillas y 3 vacas).

Vacas y vaquillas con lactación natural, cuyo parto se presentó  $\pm$  5 días con relación al inicio de la ordeña de las vacas inducidas. En este grupo se registró la concentración de estradiol en leche, el comportamiento estral y la tasa de desecho.



P<sub>4</sub>: (Progesterona); Fort Dodge, 50 mg/ml (375 mg/kg = 7.5 ml).  
 F: (Flumetasona); Fort Dodge 0.5 mg/ml (2.5 mg/kg = 5 ml).  
 ECP: (Cipionato de estradiol); Pfizer 2mg/ml (30 y 15 mg/kg = 15 y 7.5 ml).  
 rbST: (Somatotropina recombinante bovina); Elanco (500 mg).

**Figura. 3: Protocolos Inductores de la Lactación, utilizados en el presente trabajo.** El período seco fue de 45 días para todas las vacas. Las vaquillas presentaron una edad entre los 18 y 24 meses al inicio del tratamiento. Los únicos cambios se refieren a la aplicación de ECP y los días en que se aplicó dicha hormona se indican por el color gris.

## **Mediciones y toma de muestras**

Se tomaron muestras individuales de leche entera (5ml) a 6 animales seleccionados aleatoriamente de cada grupo, después del despunte, los días 1, 5, 10, 15, 20, 24 y 28 de lactación. Las muestras fueron congeladas para la posterior cuantificación de estradiol.

La concentración de estradiol en leche se determinó en el Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Reproducción (FMVZ-UNAM). El estradiol se cuantificó por medio del método de Radioinmunoanálisis ( $^{125}\text{I}$ ) en fase sólida (RIA), sin extracción, utilizando estuches comerciales Coat-A-Count (Diagnostic Products Corporation, Los Ángeles, CA, EUA). La sensibilidad del ensayo fue de 0.3 pg/ml, con un coeficiente de variación intraensayo de 4.33%.

Los animales se observaron durante dos períodos al día de una hora cada uno (08:00 y 17:00 horas) para registrar el número de montas realizadas y el número de montas recibidas, con la finalidad de detectar la actividad estral. La observación se realizó desde el día 1 al 30 de la lactación.

Se midió la producción láctea de cada animal, la medición se efectuó todos los días durante los primeros 150 días de lactación.

## **Variables de respuesta**

- **Concentración de Estradiol**

Concentración promedio de estradiol en leche por muestra (pg/ml) los días 1, 5, 10, 15, 20, 24 y 28 de lactación (**CEM**).

Promedio de la concentración de estradiol en leche acumulada (pg/ml) hasta el día 28 de lactación (**PCEA**).

- **Comportamiento Estral**

Montas efectuadas: Número de montas efectuadas diariamente por vaca entre los días 1 a 30 de lactación (**MED**).

Promedio del total de las montas efectuadas hasta el día 30 de lactación. (**PTME**).

Montas aceptadas: Número de montas aceptadas diariamente por vaca entre los días 1 a 30 de lactación (**MAD**).

Promedio del total de las montas aceptadas hasta el día 30 de lactación. (**PTMA**).

Tiempo en que las unidades experimentales efectuaron y aceptaron montas (día): Duración del período en que los animales efectuaron y aceptaron montas (**DE**).

- **Producción Láctea**

Porcentaje de vacas inducidas exitosamente a lactar (**VIE**): Se determinó el porcentaje de éxito utilizando dos criterios:

a) Los animales respondieron exitosamente si permanecieron dentro del rango de menos dos desviaciones estándar por debajo del promedio de producción láctea del grupo LN, durante 150 días de lactación (criterio productivo).

b) Los animales respondieron exitosamente si el promedio diario de producción láctea fue de  $\geq 9\text{Kg/día}$  (criterio arbitrario, empleado por la mayoría de los autores).

Producción de leche diaria (Kg) hasta el día 150 de lactación. (**PLD150**)

Producción de leche acumulada (Kg) hasta el día 150 de lactación (**PLA150**).

Promedio de producción de leche diaria (Kg) durante los períodos 1-30; 1-60; 1-90; 1-120 y 150 días de lactación. (**PPL30, PPL60, PPL90, PPL120, PPL150, respectivamente**).

Producción al pico de la lactación (kg): Producción de leche máxima (**PLP**).

Tiempo al pico de pico de lactación (día): Día de máxima producción de leche por animal (**TPL**).

Causas de desecho del hato (**CDH**).

### **Análisis Estadístico**

Los datos de las variables PLA150, PPL30, PPL60, PPL90, PPL120, PPL150, PCEA, PTME, PTMA, DE, PLP Y TPL se analizaron con Análisis de varianza (ANDEVA) para diseños de bloques completamente al azar, se utilizó el efecto vaca o vaquilla como bloque. El análisis se efectuó mediante el procedimiento GLM (SAS, 2001).

Para las variables PLD150, CEM, MED y MAD se utilizó un ANDEVA para mediciones repetidas en tiempo. Se usó el procedimiento GLM (SAS, 2001). La distribución del error de la variable MRD fue anormal (Shapiro-Wilk), por ello los datos fueron transformados a logaritmo natural para analizarse. Los resultados son mostrados con los números naturales.

Los datos referentes a las variables discretas (VIE) y (CDH) se analizaron por medio de tablas de contingencias de  $\chi^2$  (Gill, 1978).

Se consideró como criterio de diferencia estadística significativa entre medias  $P < 0.05$ ; por lo mismo, en el texto del capítulo resultados solo se indicará la probabilidad estadística cuando difiera de dicho criterio.



## RESULTADOS

Durante los primeros 30 días de lactación se eliminaron 4 animales antes de contar con los datos del primer mes de lactación, 2 vacas del grupo ECP-14 y 2 vacas del grupo ECP-7. Estos animales no fueron considerados en los análisis estadísticos ni se incluyen en los resultados. Al final de éste capítulo se analizan las causas de eliminación (Cuadro 6).

Posteriormente, conforme avanzó la lactación se eliminaron más animales (Cuadro 7) y por esa circunstancia los datos de la producción de leche se evaluaron por periodos de 30 días, indicando en cada caso el número de unidades experimentales.

- **Concentración de Estradiol en Leche**

La concentración promedio de estradiol en leche del día 1 al 28 de la lactación fue superior en los grupos ECP-14 y ECP-7 a los valores medios registrados por los grupos ECP-3 y LN (Cuadro 2).

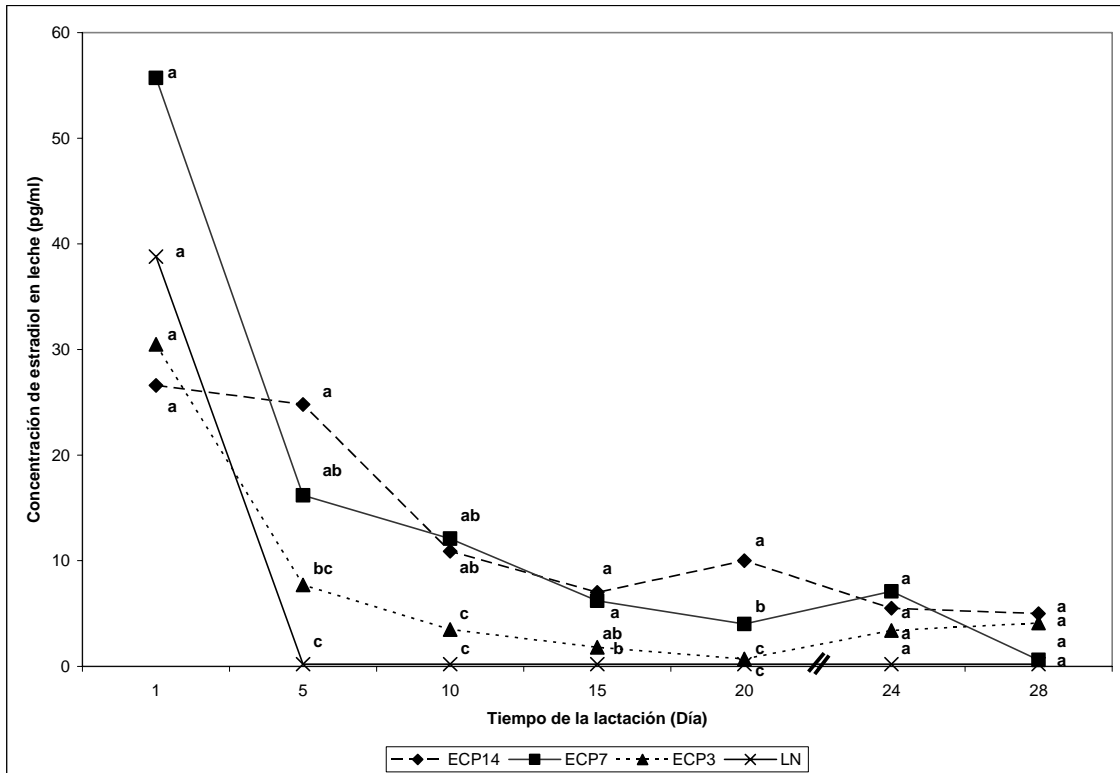
**Cuadro 2: Concentraciones de estradiol en leche (pg/ml), de las vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural (LN, n=6), hasta el día 28 de lactación.** A las vacas y vaquillas de los grupos de lactoinducción se les aplicaron 14 inyecciones (1/día) de cipionato de estradiol, los días 1 a 14 del tratamiento (ECP-14) ó 7 aplicaciones de cipionato de estradiol (1/día) los días 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 13 del tratamiento (ECP-7) ó 3 aplicaciones de cipionato de estradiol (1/día, los días 1, 7 y 14 del tratamiento; ECP-3), se incluyó un grupo de animales de lactación natural (LN).

Día de Producción	N	<sup>1</sup> ECP-14 n:6	<sup>1</sup> ECP-7 n:6	<sup>1</sup> ECP-3 N:6	<sup>1</sup> LN n:6
28	24	13.05 ± 2.2 <sup>a</sup>	14.56 ± 3.6 <sup>a</sup>	7.42 ± 1.2 <sup>b</sup>	6.35 ± 2.1 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> (Media ± e. e.). Literales distintas<sup>a, b</sup> indican diferencia entre medias (P<0.05).

Al analizar el perfil de la concentración de estradiol presente en leche durante los muestreos realizados los primeros 28 días de lactación, se encontró efecto significativo de los tratamientos en la variación de los valores registrados, así como en el día de observación (Figura 4). Además la interacción entre tratamientos y día de observación fue significativa y no se registraron diferencias debidas a la condición fisiológica [vacas (media  $\pm$  e. e;  $10.15 \pm 2.18$  pg/ml); vaquillas ( $14.01 \pm 2.4$  pg/ml)].

La mayor concentración de estradiol en leche se observó el primer día de lactación, momento en que los cuatro grupos experimentales fueron similares (Figura 4). La concentración de estradiol del grupo LN, disminuyó a niveles basales en el día 5 de lactación y así se mantuvo hasta el día 28. En las vacas y vaquillas del grupo ECP-3, el estradiol descendió a concentraciones similares a las registradas por los animales de LN el día 5 de la lactación y así mantuvo por el resto del período de muestreo; es decir, los grupos LN y ECP-3 mostraron un perfil similar de concentraciones de estradiol en leche durante los 28 días en que se examinó dicha variable. Por su parte, el contenido de estradiol en leche de los animales ECP-7 descendió y fue similar al de los animales de LN a partir del día 20 de la lactación. Finalmente, las concentraciones de estradiol en la leche de los animales ECP-14 fue superior a las de LN hasta el día 24 de la lactación, día a partir del cual los niveles de la hormona fueron similares en la leche de ambos grupos (Figura 4).



21.9±1.59, media general ± e. e.

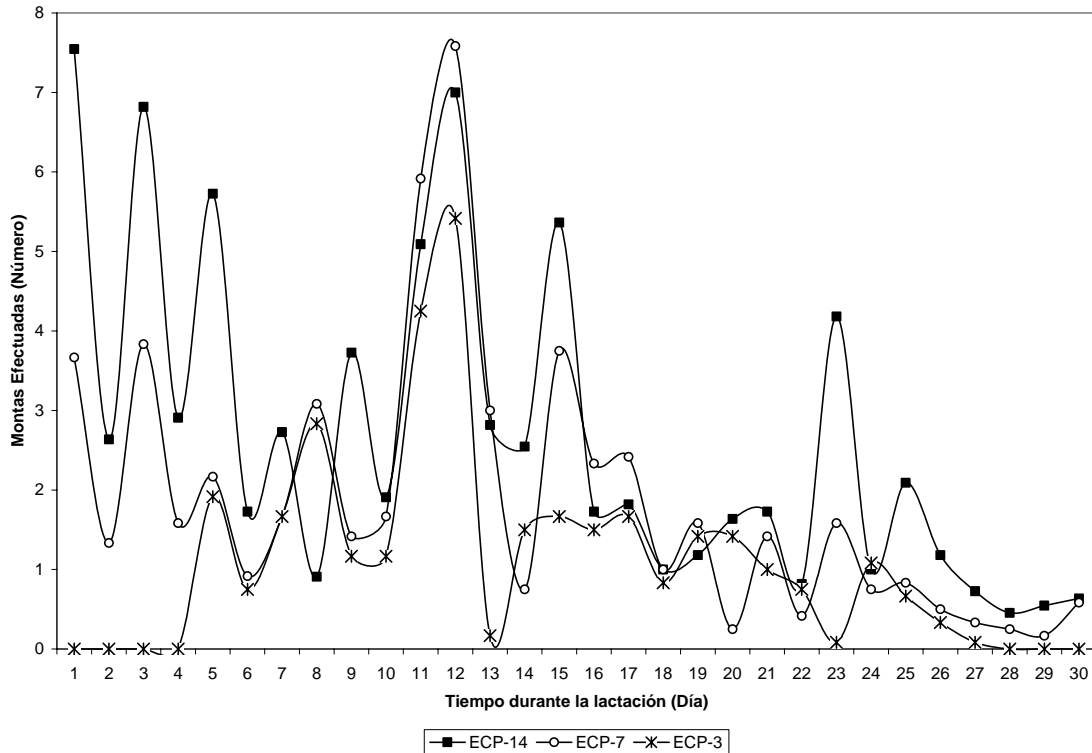
**Figura 4: Concentración de estradiol en leche, de vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural (LN, n=6), durante los días 1 a 28 de la lactación.** [ECP-14 (n: 6); ECP-7 (n: 6); ECP-3 (n: 6); LN (n: 6)]. Los animales fueron tratados como se indica en el cuadro 2. Literales distintas (a, b, c) indican diferencia entre medias;  $P < 0.05$ . Se detectaron efectos en el día de observación ( $P < 0.0001$ ) y la interacción entre tratamientos y tiempo de muestreo fue significativa ( $P < 0.01$ ). No se registraron diferencias imputables a la condición fisiológica (vaca, vaquilla)

- **Comportamiento Estral**

En el grupo testigo (vacas y vaquillas con lactación natural), no se presentó ningún tipo de actividad estral durante el periodo evaluado, por lo que todos los grupos experimentales presentaron una actividad estral superior a la natural. Por esta razón el resto de esta sección se refiere exclusivamente a comparaciones entre los distintos protocolos de lactoinducción.

Al analizar los perfiles derivados de las montas efectuadas diariamente por las

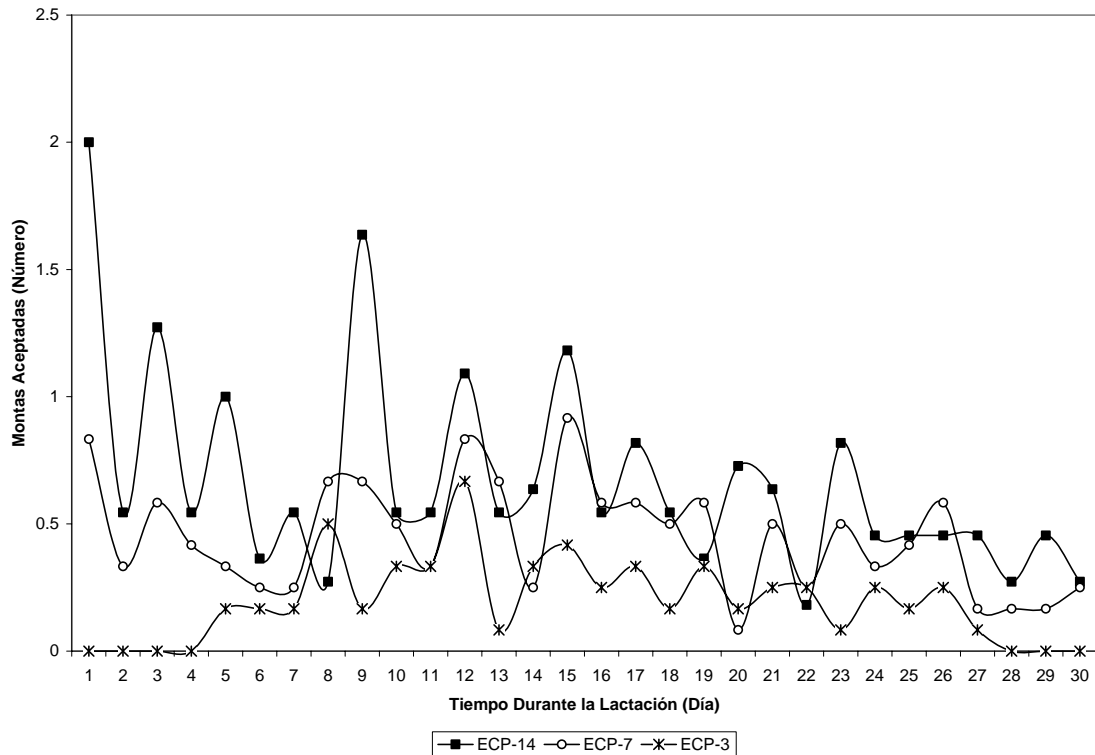
vacas y vaquillas lactoinducidas entre el día 1 y el día 30 de lactación, se detectó un efecto significativo en cuanto al día de observación y a la condición fisiológica [Número de monta/día  $\pm$  e. e. (Vacas:  $2.02 \pm 0.42$ ); (Vaquillas:  $1.4 \pm 0.3$ )]. No se registraron diferencias imputables a los tratamientos (Figura 5).



1.89 $\pm$ 0.3; media general  $\pm$  e. e.

**Figura 5: Perfil de montas efectuadas/día por las vacas y vaquillas lactoinducidas del día 1 al 30 de lactación.** [ECP-14 (n: 10); ECP-7 (n: 10); ECP-3 (n: 12); LN (n: 6)]. Los animales fueron tratados como se indica en el cuadro 2. Solo se detectó efecto en cuanto al día de observación ( $P < 0.0001$ ) y no se registraron efectos imputables a los tratamientos, condición fisiológica (vaca, vaquilla).

En contraste, el examen de los perfiles de la actividad de montas aceptadas diariamente por las vacas y vaquillas lactoinducidas del día 1 al 30 de lactación, revela la ausencia de efectos significativos tanto en el día de observación como de los tratamientos y la condición fisiológica [vacas:  $0.46 \pm 0.12$  montas aceptadas; vaquillas:  $0.42 \pm 0.8$  montas aceptadas (Figura 6).



0.4 ± 0.08, media general ± e. e.

**Figura 6: Perfil de montas aceptadas/día por las vacas y vaquillas lactoinducidas del día 1 al 30 de lactación.** [ECP-14 (n: 10); ECP-7 (n: 10); ECP-3 (n: 12); LN (n: 6)]. Los animales fueron tratados como se indica en el cuadro 2. Se detectó efecto en cuanto al día de observación (P=0.033). No se registraron diferencias imputables a los tratamientos, a la condición fisiológica (vaca, vaquilla).

Cuando se examinaron los promedios de las actividades estrales, no se detectaron diferencias atribuibles a los tratamientos en montas efectuadas ni en la duración de la actividad estral (tiempo en que los animales efectuaron y aceptaron montas; (Cuadro 3). Por el contrario, la actividad derivada de las montas aceptadas fue menor en las vacas y vaquillas del grupo ECP-3 en comparación con las de ECP-14 (Cuadro 3). Los animales del tratamiento ECP-7 fueron similares a los grupos ECP-3 y ECP-14, quienes presentaron medias similares (Cuadro 3). Al igual que en la frecuencia de montas, las vacas ( $8.8 \pm 1.4$  días; media ± e. e.) y las vaquillas ( $10.7 \pm 1.9$  días) fueron similares en cuanto al tiempo en que efectuaron y aceptaron montas.

**Cuadro 3: Promedio de las montas efectuadas y recibidas/día en vacas y vaquillas lactoinducidas durante los primeros 30 días de lactación y tiempo (día) en que las vacas y vaquillas efectuaron y aceptaron montas durante los primeros 30 días de la lactación.** [ECP-14 (n: 10); ECP-7 (n: 10); ECP-3 (n: 12); LN (n: 6)]. Los animales fueron tratados como se indica en el cuadro 2.

<b>Tipo de Actividad</b>	<b>N</b>	<b><sup>1</sup> ECP-14</b>	<b><sup>1</sup> ECP-7</b>	<b><sup>1</sup> ECP-3</b>
Montas efectuadas (Número)	38	2.8 ± 0.7 <sup>a</sup>	1.8 ± 0.4 <sup>a, b</sup>	1.1 ± 0.2 <sup>b</sup>
Montas aceptadas (Número)	38	0.72 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.48 ± 0.1 <sup>a, b</sup>	0.2 ± 0.5 <sup>b</sup>
Tiempo en que efectuaron y aceptaron montas (día)	38	11.3 ± 7.7 <sup>a</sup>	10.5 ± 7 <sup>a</sup>	6.4 ± 5.9 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> (Media ± e. e.)

<sup>a, b</sup> Literales distintas en un renglón indican diferencia entre medias (P<0.05).

- **Producción de Leche**

En el presente trabajo, con los dos criterios de éxito establecidos se logró inducir a la lactación en una mayor proporción de animales tratados con ECP-14 (60%; P < 0.05) o con ECP-7 (90%; P<0.005) que en el grupo que recibió ECP-3 (25%). No se registró una diferencia entre la proporción de animales que respondieron a los tratamientos lactoinductores ECP-14 y ECP-7.

Considerando la producción de leche total a los 150 días de lactación, el grupo LN fue superior a los grupos lactoinducidos (Cuadro 4), los cuales no difirieron entre ellos. En términos porcentuales, la producción acumulada en 150 días en leche de los grupos ECP-14, ECP-7 y ECP-3 representó el 68%, el 58% y el 67% respectivamente, con respecto al grupo LN (100%). La producción máxima en 150 días en leche (pico) no fue distinta entre los tratamientos (Cuadro 5); sin embargo el día de máxima producción se presentó antes (P<0.01) en los animales de LN que en los de ECP-7 y ECP-3. El día en que se

presentó el pico de producción en los animales de ECP-14 no difirió de los otros grupos experimentales (Cuadro 5).

**Cuadro 4: Producción de leche acumulada durante el período de 1 a 150 días de lactación de las vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural (LN, n=6).** [ECP-14 (n: 5); ECP-7 (n: 7); ECP-3 (n: 3); LN (n: 6)]. Los animales fueron tratados como se indica en el cuadro 2.

<b>Grupo</b>	<b><sup>1</sup>Producción de Leche</b>
ECP-14	3058 ± 468.9 <sup>a</sup> (68.0)
ECP-7	2629 ± 269.1 <sup>a</sup> (58.4)
ECP-3	3034 ± 568.6 <sup>a</sup> (67.5)
LN	4497 ± 293.1 <sup>b</sup> (100)

<sup>1</sup>Media ± e. e. (%).

<sup>a, b</sup> Literales distintas indican diferencia entre medias (P<0.05).

**Cuadro 5: Producción de leche máxima (pico) durante el período de 1 a 150 días de lactación de las vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural.** [ECP-14 (n: 5); ECP-7 (n: 7); ECP-3 (n: 3); LN (n: 6)]. Los animales fueron tratados como se indica en el cuadro 2.

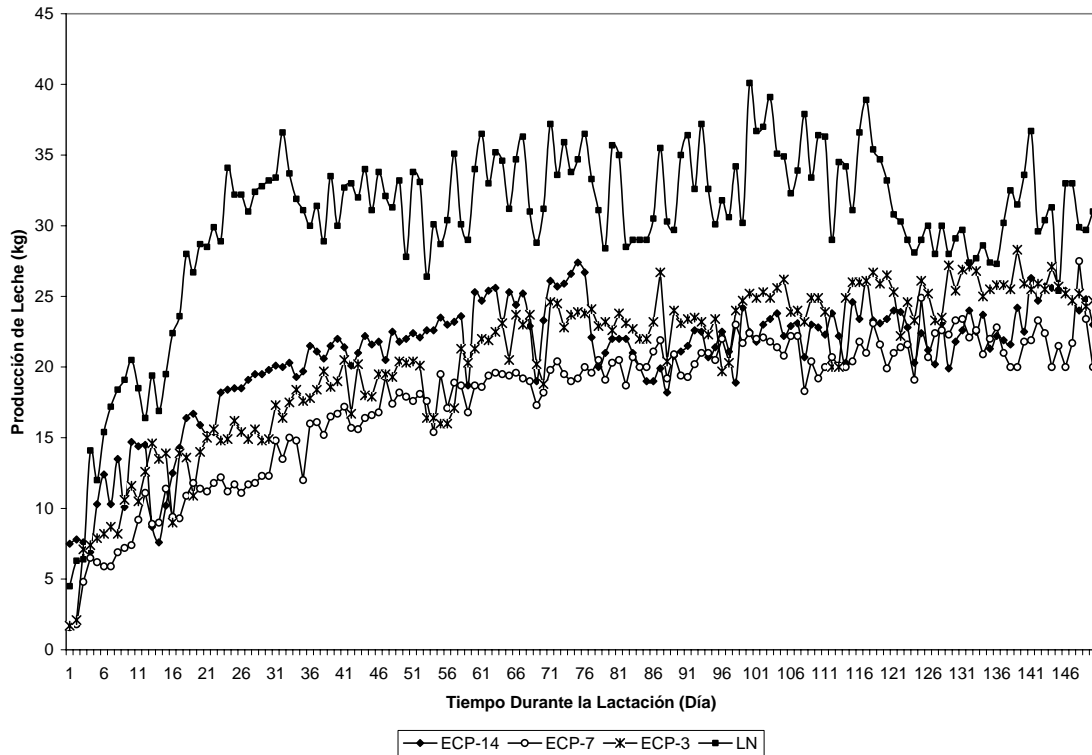
	Tratamiento			
	ECP-14	ECP-7	ECP-3	LN
<b>Producción al pico de la lactación (Kg)</b>	31.9±5.1 <sup>a</sup>	32.1±4.5 <sup>a</sup>	27.1±3.1 <sup>a</sup>	41.7±2.6 <sup>a</sup>
<b>Tiempo al pico de la lactación (Día)</b>	95.8±13.9 <sup>ab</sup>	129.3±11.7 <sup>a</sup>	126.3±17.9 <sup>a</sup>	76.2±12.6 <sup>b</sup>

Media ± e. e. a, b Literales distintas dentro de un renglón indican diferencia (P<0.01)

El perfil del nivel diario de producción láctea durante los 150 días de observación (Figura 7), confirma un nivel de producción superior de los animales de LN que en los tres grupos lactoinducidos, mismos que no difirieron entre ellos. Se detectaron efectos en el día de observación (P<0.0001) y de la interacción entre tratamientos y día de observación (P=0.03); Sin embargo, no se registraron diferencias imputables a la condición fisiológica [vacas (22.52 ± 2.8 Kg/día) y vaquillas (21.3 ± 1.74 Kg/día) con relación a la producción de leche diaria hasta el día 150. Se detectó un efecto de muestra y la interacción entre tratamiento y tiempo fue significativa. Cuando se analizó la producción diaria promedio durante segmentos de 30 días (Cuadro 6), se observó que las vacas y vaquillas de LN, produjeron más leche del día 1 al día 150 de la lactación, que las vacas y vaquillas de los tres grupos lactoinducidos. Del día 1 al 60, el grupo ECP-3 presentó una media inferior al resto de los grupos; mientras que las medias de los grupos ECP-14 y ECP-7 fueron similares

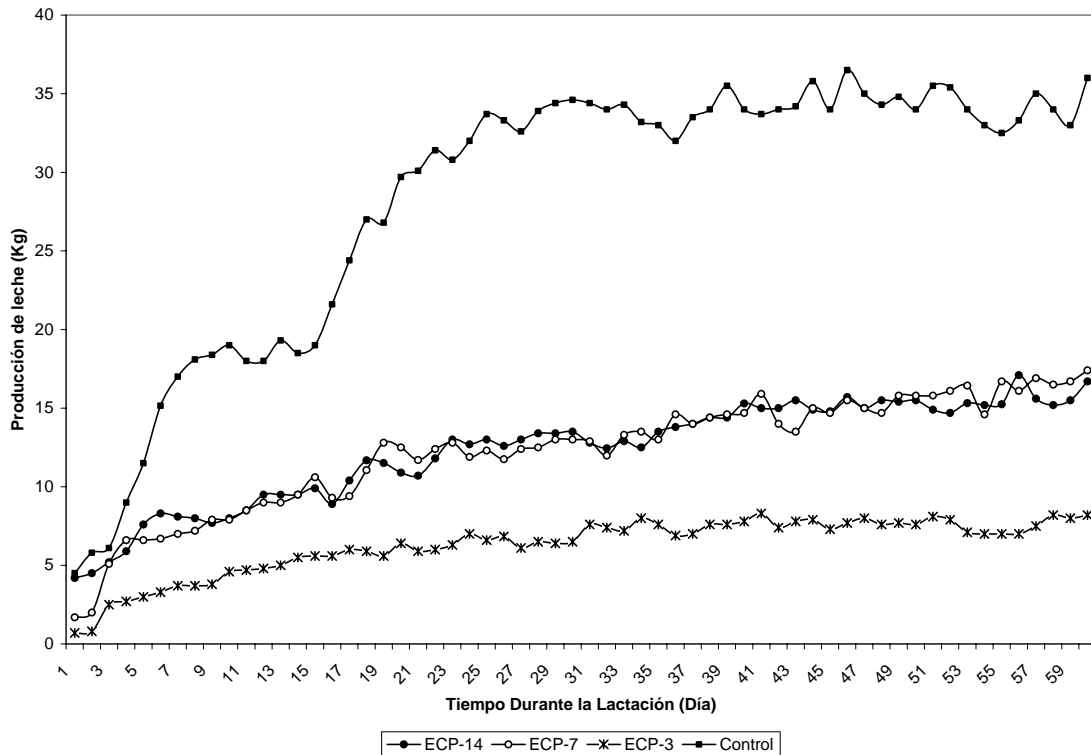


(Figura 8). Por el contrario, del día 60 al 150, las medias de los grupos lactoinducidos no difirieron (Cuadro 6).



21.9±1.59, media general ± e. e.

**Figura 7: Perfil de la producción de leche diaria de las vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural (LN, n=6), del día 1 al 150 de lactación. [ECP-14 (n: 5); ECP-7 (n: 7); ECP-3 (n: 3); LN (n: 6)]. Los animales fueron tratados como se indica en el cuadro 2.**



**Figura 8: Perfil de la producción de leche diaria de las vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural, del día 1 al 60 de lactación. [ECP-14 (n: 9); ECP-7 (n: 9); ECP-3 (n: 11); LN (n: 6)]. (ECP-14)  $12.69 \pm 2.82$ , media  $\pm$  e. e.; (ECP-7)  $12.30 \pm 1.43$ , media  $\pm$  e. e.; (ECP-3)  $6.32 \pm 1.72$ , media  $\pm$  e. e.; (LN)  $26.92 \pm 2.31$ , media  $\pm$  e. e.**

**Cuadro 6: Promedio de producción de leche diaria de las vacas y vaquillas lactoinducidas y de lactación natural, durante los periodos: 1-30, 1-60, 1-90, 1-120 y 1-150 días de lactación.** Los animales fueron tratados como se indica en el cuadro 2.

Variable	N	<sup>1</sup> ECP-14	<sup>1</sup> ECP-7	<sup>1</sup> ECP-3	<sup>1</sup> LN
PPLD30	38	9.7 ± 1.7 <sup>a</sup> n:10	10.2 ± 1.7 <sup>a</sup> n:10	4.7 ± 1.5 <sup>b</sup> n:12	22.2 ± 2.2 <sup>c</sup> n:6
PPLD60	35	12.6 ± 2 <sup>a</sup> n:9	12.3 ± 2 <sup>a</sup> n:9	6.3 ± 1.8 <sup>b</sup> n:11	26.9 ± 2.5 <sup>c</sup> n:6
PPLD90	22	16.3 ± 2.5 <sup>a</sup> n:6	15.1 ± 2.3 <sup>a</sup> n:7	15.4 ± 3.6 <sup>a</sup> n:3	28.6 ± 2.5 <sup>b</sup> n:6
PPLD120	21	19.2 ± 2.5 <sup>a</sup> n:5	16.6 ± 2.1 <sup>a</sup> n:7	17.1 ± 3.2 <sup>a</sup> n:3	30 ± 2.3 <sup>b</sup> n:6
PPLD150	21	20.1 ± 2.4 <sup>a</sup> n:5	17.7 ± 2 <sup>a</sup> n:7	18.4 ± 3.1 <sup>a</sup> n:3	29.9 ± 2.2 <sup>b</sup> n:6

<sup>1</sup>(Media ± e.e.).

a, b, c Literales distintas dentro del renglón, indican diferencia entre medias (P<0.05).

### Eliminación de Animales

Se examinaron las causas de eliminación de animales del hato (Cuadro 7) y se observó que la proporción de desechos totales no difirió entre tratamientos. No obstante, al evaluar la proporción de animales de desecho debido a baja producción ( $\leq 10.5$  Kg de leche/día), hubo una mayor eliminación (P=0.014) en los tratados con ECP-3 (58.3%) que en los que recibieron los tratamientos ECP-14 (16.7%) y ECP-7 (8.3%). Se detectó un efecto del número de lactación sobre la tasa de eliminación de animales (P=0.018). Una mayor proporción (P<0.001) de las hembras de segunda lactación (100%) fue eliminada en comparación que las de 0 lactaciones (vaquillas; 20%) y que las de 1 lactación (50%; P=0.33); pero no difirieron de las de 3 (67%) o  $\geq 4$  lactaciones (71.4%).

**Cuadro 7: Causas de desecho de vacas y vaquillas, durante los días 1 al 150 de lactación.** Se incluye además del mes y causa de desecho: el número de animales desechados, seguido por el grupo al que pertenecen y el número de lactación en paréntesis: 0= vaquillas; 1 a 5 de primera a quinta lactación.

Causa de desecho	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5
Baja producción ≤ 10.5 Kg			2 ECP-14 (3 y 4)  1 ECP-7 (1)  7 ECP-3 (0, 0, 1, 2, 2, 3 y 3)	1 ECP-14 (1)	
Neumonía	1 ECP-14 (2)*	1-ECP-7 (4)			
Reticulo pericarditis	1 ECP-7 (2)*				
Pododermatitis		1 ECP-14 (4)	1 ECP-3 (4)		
Mastitis		1 ECP-3 (2)			
Lesión músculo esquelética	1 ECP-14 (2)* 1 ECP-7 (3)*				
Paratuberculosis			1 ECP-14 (5)		
Causa no especificada			1 ECP-7 (2)		

\*Por haber sido removidas del hato antes del día 30 de la lactación, se eliminaron del estudio y no aparecen en análisis ni resultados, con excepción de los datos siguientes, mismos que fueron analizados por  $\chi^2$

Eliminadas/Total por tratamiento: ECP-14 = 7/12; ECP-7 = 5/12; ECP-3 = 9/12.

Eliminadas/Total por lactación: 0 = 2/10; 1 = 3/6; 2 = 7/7; 3 = 4/6; ≥ 4 = 5/7.

Ninguno de los animales de lactación natural fue eliminado del hato [3 vaquillas y 3 vacas (1, 3 y 5 lactaciones)].

## Costo de los Diferentes Tratamientos Lactoinductores

El costo total de los tratamientos ECP-14, ECP-7 y ECP-3 fue de aproximadamente \$1,582.8, \$1,129.1 y \$902.2 respectivamente. Al emplear el tratamiento ECP-7 se obtuvo un ahorro de 28.7 % con respecto al ECP-14, mientras que al usar el tratamiento ECP-3 se ahorró un 43 % del costo total del tratamiento ECP-14 (Cuadro 8).

**Cuadro 8: Costo de los diferentes protocolos de lactoinducción de este trabajo.** Se incluye el nombre de la hormona; el costo de cada una por tratamiento; el costo total por tratamiento; el porcentaje del costo del cipionato de estradiol y el porcentaje del costo total, con respecto al grupo ECP-14.

<b>Hormona</b>	<b>ECP-14</b>	<b>ECP-7</b>	<b>ECP-3</b>
Progesterona	\$ 331.0	\$ 331.0	\$ 331.0
Cipionato de Estradiol	\$ 952.8 (100%)	\$499.1 (52.4%)	\$272.2 (28.6%)
Flumetasona	\$35.0	\$35.0	\$35.0
Somatotropina	\$264.0	\$264.0	\$264.0
Total	\$1,582.8 (100%)	\$1129.1 (71.3%)	\$902.2 (57.0%)

Precios actualizados al 01 de noviembre de 2006.

## DISCUSIÓN

Las hipótesis planteadas en la presente investigación fueron que la reducción en la frecuencia de inyecciones y del suministro total de ECP en el protocolo inductor de la lactación, permitiría disminuir el período durante el cual las concentraciones de estradiol en leche son superiores a los valores encontrados en leche de vacas con lactación natural (LN), así como reducir la manifestación de signos de estro, sin alterar el desempeño productivo de vacas y vaquillas Holstein, destinadas al desecho por problemas reproductivos.

Los resultados aquí informados, probaron que la primera hipótesis emitida es parcialmente cierta, ya que se obtuvieron concentraciones similares de estradiol al 5º día de lactación en la leche obtenida de vacas y vaquillas tratadas con ECP-3; al ser comparadas con las obtenidas en animales con LN. En contraste, el estradiol en la leche de los animales de los grupos ECP-7 y ECP-14 descendió a niveles similares a los encontrados en leche de animales de LN hasta el día 24 de la lactación. Es decir, la disminución del 52% en el suministro de ECP en los animales de ECP-7 con respecto al grupo ECP-14, no redujo el contenido de estradiol en leche. Por el contrario, la disminución hasta un 29% de ECP en los animales del grupo ECP-3, adelantó 19 días la reducción en las concentraciones de estradiol en leche.

Uno de los factores que indujo a nuestro grupo a proponer la citada hipótesis, fue el temor de algunos sectores de la sociedad en el sentido de que el contenido excesivo de estradiol en la leche de vaca pudiera promover el crecimiento de células sensibles a estrógenos, con potencial de desarrollar tumores cancerígenos en humanos, tales como el cáncer de seno. A este respecto, Pape-Zambito *et al.* (2007) demostraron que: a) en un hato típico de vacas lecheras, las concentraciones de  $17\beta$  estradiol en leche proveniente de vacas gestantes no supera los 23 pg/ml; b) que las concentraciones de estradiol en muestras de leche provenientes del tanque enfriador promedian 1.4 pg/ml, lo que determina que un vaso de leche (237 ml) contenga una masa de estradiol de 331.8 pg; y c) que el acto de beber un vaso de leche de vaca

con contenido promedio de estradiol, contribuye en forma insignificante al contenido de estradiol en el organismo de una persona cuyos rangos de estradiol en sangre son: en mujeres (fase folicular: 21-251 pg/ml; fase periovulatoria: 38-649 pg/ml; fase lútea: 21-312 pg/ml; etapa pos menopáusica: 10-144 pg/ml), en hombres: 11-44 pg/ml (Williams *et al.*, 2005). A pesar de lo anterior persiste sin una respuesta categórica la pregunta: ¿existen riesgos de salud para el humano que consume leche proveniente de vacas lactoinducidas? En un trabajo donde se aplicó  $17\beta$  estradiol, se observó que las concentraciones de estrógenos fueron similares en la leche proveniente de vacas lactoinducidas a las registradas en leche de vacas de LN, durante los primeros 21 días de lactación (Narendrán *et al.*, 1978). Por su parte Harness *et al.* (1978) observaron que en vacas y vaquillas lactoinducidas con benzoato de estradiol, las concentraciones máximas de estrógenos en leche se presentaron el día dos de la lactación y declinaron hasta lograr el valor mínimo, el día ocho. Hasta donde nuestra revisión de literatura lo permite, éste es el primer trabajo donde se evalúa la concentración de estradiol en leche obtenida de animales lactoinducidos con ECP. En esta investigación la concentración más elevada de estradiol en leche ocurrió el primer día de lactación para todos los grupos, sin encontrarse diferencia entre los animales lactoinducidos y los de LN. Quizá lo más sobresaliente de este trabajo es que a partir del día 5 de lactación, cuando la secreción mamaria es considerada leche y no calostro, se encuentran concentraciones menores a 30 pg/ml en la leche de los animales lactoinducidos, valores menores a los presentes en el suero de vacas en estro (31 pg/ml), Monk *et al.* (1975). Debido a que los valores de estradiol en leche son relativamente bajos, podemos deducir que el potencial de riesgo al consumir leche proveniente de vacas lactoinducidas con ECP parece no ser importante. No obstante, es necesario determinar la cantidad de estradiol presente en leche proveniente de vacas lactoinducidas con protocolos en los que se utiliza benzoato de estradiol y  $17\beta$  estradiol, ya que el tiempo de acción biológica y eliminación de los diferentes tipos de esteroides difieren (Pape-Zambito *et al.*, 2007).

En estudios anteriores, se demostró de manera categórica que las concentraciones de progesterona en suero sanguíneo (Espinosa, 2005; Valdez,

2006) y en leche (Erb *et al.*, 1977; Jewell, 2002) de vacas y vaquillas lactoinducidas presentan valores basales los primeros días de la lactación. Considerando que las concentraciones de progesterona en leche de vacas gestantes son aceptables para el consumo humano no existe riesgo al consumir leche proveniente de vacas lactoinducidas (Chenault *et al.* 2003).

Con relación a los glucocorticoides, Chakriyarat *et al.* (1978) observaron que después de aplicar tres inyecciones de dexametasona los días 18 al 20 de un protocolo lactoinductor, los niveles séricos de glucocorticoides disminuyeron a niveles basales entre los días 20 y 22 del tratamiento; por su parte, Reding *et al.* (1997) observaron que 12 horas después de aplicar una inyección intramuscular de flumetasona (13.5 µg/kg de peso), las concentraciones de dicho fármaco se encontraban entre 0.7 y 1.2 ng/ml. En lo que respecta a la somatotropina, en términos generales se detectan valores traza en leche de vaca y éstos no aumentan significativamente cuando se suministra rbST es suministrada (Bauman, 1992).

Propusimos la segunda hipótesis, esperando que al disminuir la concentración de ECP se lograría disminuir la manifestación de actividad estral y el tiempo de presentación de la misma. Esta hipótesis resultó parcialmente cierta, puesto que al disminuir el suministro de ECP al 29% en los animales del grupo ECP-3 con respecto a los del grupo ECP-14, la actividad estral disminuyó; mientras que al reducir el suministro de ECP al 52% en los animales de ECP-7, la actividad estral fue similar a la del grupo ECP-14. Sin embargo, en todos los grupos experimentales se presentó una actividad estral mucho mayor a la nula actividad presentada por los animales con LN durante el periodo evaluado. En la totalidad de trabajos revisados, donde los autores examinaron el comportamiento estral en animales inducidos a lactar con protocolos que incluyeron 17β E2 (Smith and Schanbacher, 1973; Erb *et al.*, 1976; Chakriyarat *et al.*, 1978) o BE2 (Sawyer *et al.*, 1986), no existe una presentación cuantitativa del número de montas emitidas o aceptadas, y no se presenta un informe claro relacionado con la proporción de animales en estro o la duración de las diferentes conductas estrales. En los trabajos de Espinosa (2005) y Valdez (2007), quienes aplicaron un protocolo similar al ECP-14, se encontró



manifestación de actividad estral semejante a la de este trabajo, pero de menor duración, ya que en el primero de los estudios mencionados los animales montaron y recibieron montas al menos hasta el día 23 de la lactación, cuando los autores detuvieron las observaciones; mientras que en el segundo experimento, los animales únicamente mostraron actividades de monta hasta el día 14 ó 16 de la lactación. En contraste, Rodríguez (2007) quien empleo el protocolo de ECP-14, observó que tanto las vacas como las vaquillas montaron y permitieron la monta hasta el día 29 de la lactación, valor muy similar al aquí documentado.

En condiciones de celo espontáneo se sabe que la intensidad y la duración de las conductas estrales varían en función de múltiples factores como instalaciones, ambiente, raza, número de vacas, presencia del observador, organización social del hato, condición fisiológica y metabólica del animal, etc. (Hurnik *et al.*, 1995; Van Vliet y Van Eedenburg., 1996; Diskin., 2000; Sepúlveda, 2003, López *et al.*, 2004; Landaeta *et al.*, 2005). Pero bajo condiciones de lactación inducida, donde los animales mantienen concentraciones de estradiol mucho más elevadas y por un período más largo que un animal que se encuentre ciclando, se ignora si todos, algunos o ninguno de los factores citados pueden modificar la presentación de signos de estro. Todos los trabajos comparados en la presente discusión donde se usó el protocolo ECP-14, se efectuaron en distintos ranchos; consecuentemente, con la información existente no se pueden explicar los factores que intervienen en las aparentes diferencias entre estudios. Si bien es posible que algunos factores ambientales o fisiológicos modulen la expresión del celo en los animales lactoinducidos; Valdez (2006) demostró que la conducta estral de dichos animales se debe al estradiol administrado, ya que en su trabajo, un grupo de vacas ovariectomizadas mostró un comportamiento estral similar al de vacas intactas. De los datos aquí documentados, es factible deducir que la reducción del estradiol exógeno (ECP-3) inhibe el número de montas aceptadas y efectuadas, pero no altera la duración del período en que los animales muestran dichas conductas.

Al igual que en las dos primeras hipótesis, la tercera fue también parcialmente cierta, puesto que por un lado no hubo diferencia en la producción láctea durante los 150 días de lactación aquí estudiados; pero por otro lado la pendiente inicial de la curva de producción del grupo ECP-3 ascendió más lentamente que en los otros grupos lactoinducidos, lo que determinó un nivel de producción inferior en los animales de ECP-3 con respecto a los de ECP-14 y ECP-7 durante los primeros 60 días en leche. Este comportamiento de la producción aumenta los riesgos de eliminación del hato ante demandas de liquidez de la empresa, como se observó en el presente estudio, donde ocurrió una mayor tasa de desecho por baja producción en el grupo ECP-3 en comparación con los otros (ECP-14, ECP-7 y LN).

En diversos estudios las curvas de producción de los animales lactoinducidos se comportan de manera similar a las del presente trabajo (Jewell, 2002; Isidro *et al.*, 2001; Rodríguez, 2007) con relación a un ascenso más lento que el de vacas de LN. Rodríguez (2007) atribuye este comportamiento a la falta de administración de prolactina en todos los protocolos lactoinductores hasta ahora publicados; o bien a la falta de un periodo progestacional relativamente prolongado, equivalente al observado en vacas gestantes, previo al tratamiento de progesterona + estradiol de los protocolos lactoinductores. Con los protocolos de segunda generación como el actual, se empieza a observar que las vacas y vaquillas inducidas a lactar presentan una lactogénesis reducida, sin embargo, al menos en el presente experimento y en el de Rodríguez (2007), llega el momento en que las curvas de lactación igualan a las de vacas de LN, de modo tal que aún la magnitud del pico de lactación es similar entre los animales inducidos y los de LN. Por lo antes dicho, sugerimos que se investigue con mayor énfasis este aspecto de la lactación inducida.

## CONCLUSIONES

En resumen, se observó que al reducir el suministro de ECP al 52% del empleado en los tratamientos tradicionales no se encontraron diferencias en el período durante el cual las concentraciones de estradiol en leche son superiores a los valores encontrados en leche de vacas de lactación natural, en la conducta estral ni en la producción láctea hasta el día 150, con respecto al grupo ECP-14 (100% de ECP). Por lo anterior, la primera conclusión es que al reducir el suministro de ECP al 52% del empleado en los tratamientos tradicionales no se resuelven los problemas derivados del estradiol con relación a su contenido en leche y al comportamiento estral de los animales, pero si se logran resultados similares en cuanto a la producción láctea y se reduce el costo del tratamiento al 71.3%.

Por otro lado, al reducir la concentración de ECP al 29% de la dosis tradicional se redujo significativamente el período durante el cual las concentraciones de estradiol en leche son superiores a los valores encontrados en leche de vacas con lactación natural y se redujo la actividad estral; sin embargo la producción de leche disminuyó durante los primeros 60 días de lactación. Consecuentemente la segunda conclusión es que al reducir la concentración de ECP al 29% de la dosis tradicional, se resuelven parcialmente los problemas derivados del estradiol con relación a su contenido en leche y al comportamiento estral de los animales, pero eleva los riesgos de eliminación del hato de los animales que reciban este protocolo lactoinductor.

## **REPERCUSIONES**

Debido a que el estímulo para la producción láctea es menor en el tratamiento ECP-3 aumenta la tasa de eliminación de animales por causas voluntarias, no se recomienda su uso; sin embargo el tratamiento ECP-7 que no altera el tiempo de niveles elevados de estradiol en leche, ni reduce la actividad estral, puede sustituir con ventajas al ECP-14 debido a la reducción de 28.7% en el costo del protocolo.

El hecho de que la reducción a 29% del suministro de ECP, resuelve parte de los problemas relacionados con el estradiol, mientras que la disminución del ECP a 52% no resuelve ninguno de los problemas planteados, se puede proponer la factibilidad de que la dosis adecuada de ECP se encuentre entre estas dos. Es decir, que la presente investigación nos aproxima a la determinación de una cantidad de ECP que no nada más disminuya el período en que la leche tiene valores elevados de estradiol y el número de montas efectuadas y recibidas, sino que disminuya también el periodo en el que se manifiesta la actividad estral sin reducir la producción láctea.

## LITERATURA CITADA

- Akers RM. 2002. Lactation and the mammary gland. 1<sup>o</sup> ed, Editorial Iowa State Press, USA.
- Allrich RD. 1994. Symposium: estrus new devices, and monitoring. Endocrine and neural control of estrus in dairy cows. J.Dairy Sci. 77:2738-2744.
- Apostolakis EM, Lanz R, O'Malley B. 2004. Pituitary adenylate cyclase-activating peptide: a pivotal modulator of steroid-induced reproductive behavior in female rodents. Mol. Endocrinol. 18: 173-183.
- Arroyo J, Gallegos J, Villa A, Valencia J. 2006. Sistemas neurales de retroalimentación durante del ciclo reproductivo anual de la oveja: una revisión. Interciencia. 31:8-15.
- Ayalon N. 1978. Review of embryonic mortality in cattle. J. Reprod. Fertil. 54:483-493.
- Bachelot A, Binart N. 2007. Reproductive role of prolactin. Reproduction. 133: 361-369.
- Barrell GK, Moenter SM, Caraty A, Karschl FJ. 1992. Seasonal changes of gonadotropin releasing hormone secretion in the ewe. Biol Reprod. 46: 1130-1135.
- Bascom SS, Young AJ. 1998. A summary of the reasons why farmers cull cows. J Dairy Sci. 81:2299- 2305.
- Bauman DE. 1992. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. J Dairy Sci. 75:3432-3451.

- Bayliss, D. 2003. Gonadal steroid hormones, Medical Pharmacology. Med. Bull. Univ. of Virginia. EUA.
- Blache D, Batailler M, Fabre-Nys C. 1994. Oestrogen receptors in the preoptic hypothalamic continuum: immunohistochemical study of the distribution and cell density during oestrous cycle in ovariectomized Ewe. J Neuroendocrinol. 6: 329-339.
- Bocchinfuso WP, Lindzey JK, Hewitt SC, Clark, J A, Myers PH, Cooper R, and Korach KS. 2000. Induction of mammary gland development in estrogen receptor- $\alpha$  knockout mice. Endocrinol. 141:2982-2994.
- Butler WR. 1998. Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. J Dairy Sci. 81:2533-2539.
- Capuco AV. 2001. Mammary cell number, proliferation, and apoptosis during a bovine lactation: relation to milk production and effect of bST1. J Dairy Sci. 84:2177-2187.
- Caraty A, Delaleu B, Chesneau D, Fabre-Nys C. 2002. Sequential role of  $E_2$  and GnRH for the expression of estrus behavior in ewes. Endocrinology. 143: 139-145.
- Chabbert-Buffeta N, Skinner A, Caraty A, Bouchard P. 2000. Neuroendocrine effects of progesterone. Steroids. 65:613-620.
- Chakravarty BN, Razdan MN and Pandey JN. 1981. Udder development induced lactational performance and economics of milk production following short duration estradiol- $17\beta$  and progesterone treatment in non producing crossbred cattle. Indian J Dairy Sci. 34: 27- 35.

- Chakriyarat S, Head HH, Thatcher WW, Neal FC, Wilcox CJ. 1978. Induction of lactation: lactational, physiological, and hormonal response in the bovine. *J Dairy Sci.* 61:1715-1724.
- Chenault JR, Hornish RE, Anderson YC, Krabill LF, Boucher JF, Prough MJ. 2003. Concentrations of Progesterone in Milk of Cows Administered an Intravaginal Progesterone Insert. *J. Dairy Sci.* 86:2050-2060.
- Coleman DA, Thayne WV, Dailey RA. 1985. Factors affecting reproductive performance of dairy cows. *J Dairy Sci.* 68:1793-1803.
- Collier RJ, Bauman DE, and Hays RL. 1976. Effect of reserpin on milk production and serum prolactin of cows hormonally induced into lactation. *J Dairy Sci;* 60:896-901.
- Collier RJ, Bauman DE, Hays RL. 1975. Milk production and reproductive performance of cows hormonally induced into lactation. *J Dairy Sci.* 58:1524-1527.
- Cóppola F, Nader J, Aguirre, R. 2005. Metabolismo de los estrógenos endógenos y cáncer de mama. *Rev Med Uruguay.* 21:15-22.
- Davis SR, Welch RA, Pearce MG, Peterson A.J. 1983. Inducción of lactation in nonpregnant cows by estradiol $17\text{-}\beta$  and progesterone from an intravaginal sponge. *J Dairy Sci.* 66:450-457.
- Dickson C, Spencer-Dene, B, Dillon C, and Fantl V. 2000. Tyrosine kinase signalling in breast cancer: fibroblast growth factors and their receptors. *Breast Cancer Res.* 2:191-196.

- Dijkstra J, France J, Dhanoa MS, Maas JA, Hanigan MD. 1997. A model to describe growth patterns of the mammary gland during pregnancy and lactation. *J Dairy Sci.* 80:2340-2354.
- Diskin MG, Screenan JM. 1980. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *J Reprod Fertil.* 59:463-468.
- Erb RE, Monk EL, Mollet TA, Malven PV, Callahan CJ. 1976. Estrogen, progesterone, prolactin, and other changes associated with bovine lactation induced with estradiol-17 $\beta$  and progesterone. *J Anim Sci.* 42:644-654.
- Erb RE, Malven EL, Monk EL, Mollett TA. 1976. Hormonal induced lactation in cow. Iv. Relationships between lactational performance and hormone concentrations in blood plasma. *J Dairy Sci.* 59(8): 1420-1426.
- Espinosa UJ. 2005. Evaluación reproductiva de vacas y vaquillas holstein con problemas de infertilidad, tratadas o no con progesterona al inicio de una lactación inducida hormonalmente. Tesis maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México, D. F.
- Fetrow J, Nordlund KV. 2006. Invited review: culling: nomenclature, definitions, and recommendations. *J Dairy Sci.* 89:1896-1905.
- Gobierno del estado de Aguascalientes (en línea). México.  
<http://www.aguascalientes.gob.mx/estado/sfrancisco.aspx> (Consulta: noviembre 2006).
- Grill JL. 1978. Design and análisis of experiments in the animal and medical sciences. 1<sup>o</sup> ed, Ed. The Iowa State University Press.



- Gröhn YT, Eicker SW. 1998. Effect of diseases on the culling of Holstein dairy cows in New York State. *J Dairy Sci.* 81:966-978.
- Gustafsson JA. 1999. Estrogen receptor  $\beta$ - a new dimension in estrogen mechanism of action. *J Endoc.* 163:379-383
- Hammond J. Day T. 1994. Oestrogen treatment of cattle: induced lactation and other effects. *J Endocrinol.* 4:53
- Hancock J, Brumby PJ and Turner CW. 1954. Hormonal induction of lactation in identical twin dairy cattle. *NZ J Sci Technol.* 36:111.
- Harness RJ, Anderson RR, Thompson LJ, Early DM, Younis AK. 1978. Induction of lactation by two techniques: success rate, milk composition, estrogen and progesterone in serum and milk, and ovarian effects. *J Dairy Sci.* 61(12):1725-1735.
- Haslam, S., Shyamala, G. 1979. Effect of oestadiol on progesterone receptors in normal mammary glands and its relationship with lactation. *Biochem J.* 182:127-131.
- Head HH, Delouis C, Fèvre J, Kann G, Terqui M, Djiane J. 1982. Hormone levels in plasma of ewes induced into lactation. *Reprod Nutr Dev.* 22:641-50.
- Hein KG, Allrich RD. 1992. Hancock J, Brumby PJ and Turner CW. 1954. Hormonal induction of lactation in identical twin dairy cattle. *NZ J Sci Technol.* 36:111. *J Anim Sci.* 70:243-247.
- Hernández J, Morales JS. 2001. Falla en la concepción en el ganado lechero: evaluación de terapias hormonales. *Vet Mex.* 32(4):279-287.

- Hochberg RB.1998. Biological esterification of steroids. *Endocrine Reviews*. 19:331-348.
- Hurley WL. 2003. ANSCI 308. Lactation biology. Department of Animal Sciences. University of Illinois, Urbana-Champaign, EUA.
- Hurnik JF, King GJ and Robertson HA. 1975. Oestrus and related behaviour in postpartum Holstein cows. *Appl. Anim. Ethol.* 2: 55-58.
- Isidro VR, Villa-Godoy A, González PE y Ruiz DR. 2001. Inducción de la lactancia por medios hormonales en vacas Holstein. Datos Preliminares. XXV Congreso Internacional de Buiatría. Veracruz, Ver. México. Agosto.
- Jewell T. 2002. Artificial induction of lactation in nonbreeder dairy cows. Master of Science Thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University. Virginia, USA.
- Joachim G. 2000. Is estradiol a genotoxic mutagenic carcinogen? *Endocrine Review*. 21:40-54.
- Koprowski JA, Tucker HA. 1973. Bovine serum growth hormone, corticoids and insulin during lactation. *Endocrinology* 92:645- 651.
- Kuhl H. 1990. Pharmacokinetics of estrogens and. Progestogens. *Maturitas* 12:171–197.
- Landaeta-Hernandez AJ, Yelich JV, Lemaster JW, Fields MJ, Tran T, Chase CC, Rae DO, and Chenoweth PJ. 2002. Environmental, genetic and social factors affecting the expression of estrus in beef cows. *Theriogenology* 57:1357–1370.

- Lehenbauer TW, Oltjen JW. 1998. Dairy cow culling strategies: making economical culling decisions. *J Dairy Sci.* 81:264-271.
- López H, Satter LD, Wiltbank MC. 2004. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Animal Reproduction Sci.* 81:209-223.
- Lucy MC. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci.* 84:1277-1293.
- Magliaro AL, Kensinger RS, Ford SA, O'Connor MI. 2004. Induced lactation in nonpregnant cows; profitability and response to bovine somatotropin. *J Dairy Sci.* 87:3290-3297.
- Mcewen B, Alves E. 1999. Estrogen actions in the central nervous system. *Endocrine Review.* 20:279-307.
- Monk EL, Erb RE, Mollet TA. 1975. Relationships between immunoreactive estrone and estradiol in milk, blood, and urine of dairy cows. *J Dairy Sci.* 58:34-40.
- Murray RK, Mayes PA, Granner DK., Rodwell VW. 2001. *Bioquímica de Harper.* ed 1º, Ed El Manual Moderno, México.
- Naredran R, Hacker RR, Smith VG, Lun A. 1979. Hormonal induction of lactation: estrogen and progesterone in milk. *J Dairy Sci.* 62:1069-1075.
- Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush WE. 2000. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev.* 80:1-29.

- Orrego J, Delgado A. 2003. Vida productiva y principales causas de descarte de vacas Holstein en la Cuenca de Lima. Rev. Inv Vet Perú. 14:68-73.
- Pape-Zambito DA, Malgiaro AL, Kesinger RS. 2007. Concentrations of 17 $\beta$ -estradiol in Holstein whole milk. J Dairy Sci. 90:3308-3313.
- Peel CJ, Taylor JW, Robinson IB, Mc Gozan AA, Hooley RD and Findlay JK. 1978. The importance of prolactin and the milking stimulus in the artificial induction of lactation in cows. Australian J Biol Sci. 31:187.
- Pfizer ECP® Sterile Solution. 2006. A reactions, in cattle, how supplied. (En línea) [www.pfizerah.com/PAHimages/compliance\\_pdfs/US\\_EN\\_EC\\_compliance.pdf](http://www.pfizerah.com/PAHimages/compliance_pdfs/US_EN_EC_compliance.pdf). (Consulta: octubre 2006).
- Pharmacia & Upjohn Company. 2000. Cypionate estradiol. Kalamazoo, EUA. (En línea) [www.pfizer.com/pfizer/download/uspi\\_depo\\_testadiol.pdf](http://www.pfizer.com/pfizer/download/uspi_depo_testadiol.pdf). (Consulta: junio 2006).
- Reding J, Sahin A, Schlatter J, Naegeli H. 1997. Dexamethasone and flumethasone residues in milk of intramuscularly dosed cows. J Vet Pharm Thera. 20:198–203.
- Reichardt HM, Horsch K, Grone HJ, Kolbus A, Beug H, Hynes N, and Schutz G. 2001. Mammary gland development and lactation are controlled by different glucocorticoid receptor activities. European Journal of Endocrinology. 145: 519-527.
- Robinson GW, McKnight RA, Smith GH and Hennighausen L. 1995. Mammary epithelial cells undergo secretory differentiation in cycling virgins but require pregnancy for the establishment of terminal differentiation. Development. 121: 2079-2090.

- Rodríguez H.K. 2007. Diferentes esquemas de aplicación de progesterona como parte de un protocolo lactoinductor y sus efectos en la producción de vacas Holstein. Tesis maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México D.F.
- SAS System. Version 8. Cary, NC: SAS Institute Inc; 2001.
- Sawyer G.J, Fulkerson GB, Gow C. 1986. Artificial induction of lactation in cattle: initiation of lactation and estrogen and progesterone concentrations in milk. J Dairy Sci. 69:1536.
- Schams D, Kohlenberg S, Amselgruber W, Berisha B, Pfaffl and Sinowatz F. 2003. Expression and localization of oestrogen and progesterone receptors in bovine mammary gland during development, function and involution. J. Endoc. 177: 305-317.
- Senger PL. 2003. Pathways to pregnancy and parturition. ed 2<sup>o</sup>, Ed Currents Conceptions. EUA.
- Sepulveda N, Rodero E. 2003. Comportamiento sexual durante el estro en vacas lecheras. Interciencia. 28: 500-503.
- Siiteri PK.1982. Review of studies on estrogen biosíntesis in the human<sup>1</sup>.Cancer Research (Suppl.) 42:3269s-3273s.
- Silvia WS, 1998. Changes in reproductive performance of Holstein dairy cows in Kentucky from 1972. J Dairy Sci. 81(Suppl.1):244.
- Smith KL, and Schanbacher FL. 1973. Hormone induced lactation in the bovine.1. Lactational performance following injections of 17- $\beta$  estradiol and progesterone. J.Dairy Sci 56: 738-743.

- Svennersten-Sjaunja K. 2005. Endocrinology of milk production. *Domestic Animal Endocrinology* 29:241-258.
- Teppa GA, Terán DJ. 2005. Nuevos aspectos bioquímicos y moleculares de la acción de los estrógenos. *Ginecol. Obstet. Mex.* 73:436-442.
- Tucker HA. 2000. Hormones, mammary growth, and lactation: a 41-year perspective. *J. Dairy Sci* 83:875-885.
- Turner CW, Yamamoto H and Ruppert HL. 1956. The experimental induction of growth of the cow's udder and the initiation of milk secretion. *J Dairy Sci.* 39:1717-1729.
- Valdespino OJR. 1993. Pérdidas por desecho prematuro de vacas en un hato lechero en México. *Revista Mundial de Zootecnia.* 64:115
- Valdez MG. 2006. Efecto de la inducción de la lactación en vacas Holstein Friesian ovariectomizadas y completas. Tesis maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México D.F.
- Van Vliet, J, Van Eedenburg. 1996. Sexual activities and oestrus detection in lactation Holstein cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 50:57-69.
- Vitela MI, Cruz-Vázquez C, Ramos MP. 2004. Identificación de las causas de desecho en cinco establos lecheros de Aguascalientes, México. *Téc Pecu Méx.* 42:437-444.
- Vynckier L, Debackere M, De Kruif A, and Corny M. 1990. Plasma estradiol 17 $\beta$  concentrations in the cow during induced estrus and after injection of estradiol 17 $\beta$  benzoate and estradiol 17 $\beta$  cypionate. a preliminary study. *J. Vet Pharmacol Therap.* 13:36-42.

- Weigel KA and Palmer RW. 2003. Investigation of factors affecting voluntary and involuntary culling in expanding dairy herds in Wisconsin using survival analysis. *J.Dairy Sci.* 86:1482-1486.
- Willett LB, Smith KL, Schanbacher FL, Erb RE and Malven PV. 1976. Hormone induced lactation in the bovine. III. *J.Dairy Sci.* 59: 504.
- Williams G, Hayes F, Frost S, Ramp J, Pacenti D, Barnes W, Doss R, Crowley W, Lehotay DC, George S, Eichhorst J, Ramsay C, Sluss P. 2005. Performance evaluation of an immunoassay for the measurement of estradiol on the abbot architect analyzer. 16<sup>th</sup> Ifcc-fescc European congress of clinical chemistry and laboratory medicine. May 8-12, 2005. Glasgow, Scotland.
- Woodward TL, Beal WE and Akers RM. 1993. Cell interaction in initiation of mammary epithelial proliferation by oestradiol and progesterona in prepubertad heifers. *J. Endoc.* 136: 149-157.
- Yáñez MA. 2005. Efectos de la aplicación de progesterona durante las etapas tempranas de una lactación inducida sobre el desarrollo mamario y la producción láctea de vacas y vaquillas Holstein. Tesis maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Ajuchitlán, Querétaro.
- Zhu BT and Conney AH. 1998. Functional role of estrogen metabolism in target cells. Review and perspectives. *Carcinogenesis* 19:1-27.