

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DIARIA DE OXITOCINA Y DE LA
SUPLEMENTACIÓN CON PROGESTERONA, SOBRE LOS PORCENTAJES DE
GESTACIÓN EN VACAS F1 (Holstein x Cebú)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
**MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD Y
LA PRODUCCIÓN ANIMAL**

PRESENTA

AXEL RICARDO MEZA MALDONADO

TUTOR:

CARLOS GUILLERMO GUTIÉRREZ AGUILAR

COMITÉ TUTORAL:

HÉCTOR BASURTO CAMBEROS

ALEJANDRO VILLA GODOY

HÉCTOR VERA ÁVILA

MÉXICO D.F.

MAYO 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIAS

A mi abuelo
Eleazar Maldonado Vargas †
quien no pudo ver concluido este proyecto

AGRADECIMIENTOS

- Al PAPIIT (DGAPA-UNAM) por el apoyo financiero brindado al Proyecto PAPIIT No. IN217707, del cual el presente estudio es parte.

- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico al becario 207283.

- Al MVZ, MPA, CERT. Héctor Basurto Camberos y al MVZ MPA PhD. Carlos Gutiérrez Aguilar, tutores del presente trabajo.

- A la MVZ, MPA. Adriana Saharrea Medina, Corresponsable del Proyecto PAPIIT No. IN217707, con un especial agradecimiento por su apoyo en el trabajo de campo.

- Al Dr. Héctor Vera Ávila y al Dr. Alejandro Villa Godoy, integrantes del comité tutorial.

RESUMEN

MEZA MALDONADO AXEL RICARDO. Efecto de la administración diaria de oxitocina y de la suplementación con progesterona, sobre los porcentajes de gestación en vacas F1 (Holstein x Cebú) (Bajo la dirección del MPA. Basurto Camberos Héctor y el Dr. Gutiérrez Aguilar Carlos Guillermo).

La oxitocina se utiliza en sistemas de producción bovina de doble propósito para estimular el bajado de leche, sin considerar su efecto en la función reproductiva. Para evaluar el efecto de la administración diaria de oxitocina sobre la concentración sérica de progesterona y el porcentaje de gestación, y el efecto de la suplementación con progesterona en vacas tratadas diariamente con oxitocina, el Grupo OX (n=14), se trató diariamente con 20 UI de oxitocina IM; el Grupo OX-P4 (n=10), se trató diariamente con 20 UI de oxitocina IM y se suplementó con progesterona del día 5 al 24 después de detectado el celo; el Grupo Testigo (TSTG) (n=13), se le administró diariamente 1 ml de solución salina IM. Se obtuvieron muestras sanguíneas diariamente para determinar la concentración sérica de progesterona. En otro experimento las vacas fueron inseminadas 12 h después de detectado el celo y distribuidas en los grupos OX (n=20), OX-P4 (n=14) y TSTG (n=14). También se realizó un análisis retrospectivo con vacas asignadas a los grupos OX (n=148) y TSTG (n=91).

La concentración sérica de progesterona en los días 16 al 18, fue mayor para OX, respecto del TSTG. En los días 6 al 13 y 16 al 20, fue mayor para OX-P4, respecto al TSTG. En los días 6 al 13, 19 y 20, fue mayor en OX-P4 respecto a OX. El total de progesterona de los días en que esta fue mayor a 1 ng/ml no difirió entre OX y TSTG. Los porcentajes de gestación no difieren entre grupos.

Se concluye que la administración diaria de oxitocina no disminuye los porcentajes de gestación; y la suplementación con progesterona del día 5 al 24 post inseminación, no mejora los porcentajes de gestación.

Palabras clave: Oxitocina, progesterona, gestación, vacas.

ABSTRACT

Oxytocin is used in dual purpose cattle to stimulate milk ejection. However, its effect in reproductive function has not been evaluated. Thus, the effect of daily oxytocin administration on progesterone serum concentration during estrous cycle and pregnancy rate and also the effect of progesterone supplementation in cows treated daily with oxytocin were evaluated on Holstein-Zebu cattle. The OX group (n = 14) was treated daily with 20 IU of intramuscular (IM) oxytocin; group OX-P4 (n = 10) was treated daily with 20 IU of IM oxytocin and supplemented with progesterone from day 5 to 24 after being detected on estrous, the control group (n = 13) was dosed with 1 ml of IM saline daily. Blood samples were collected daily to determine serum progesterone concentration. In another experiment, cows were inseminated 12 h after estrus detection and allocated to the OX group (n = 20), OX-P4 (n = 14) and control group (n = 14). Further, a retrospective analysis of pregnancy rates for cows treated (OX; n = 148) or not with oxytocin (control group; n = 91) during their lactation was performed. Serum progesterone on days 16 to 18 was higher for OX ($P < 0.05$) with respect to control group. Pregnancy rate of did not differ between groups. We concluded that a daily administration of oxytocin did not diminish pregnancy rates and progesterone supplementation on days 5 to 24 post insemination does not improve pregnancy rates.

Key words: Oxytocin, progesterone, pregnancy, cows.

INDICE

RESUMEN.	III
ABSTRACT.	IV
LISTA DE FIGURAS.	VI
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.	5
2.1. LA OXITOCINA.	5
2.1.1. Síntesis y mecanismos de acción de la oxitocina.	5
2.1.2. Funciones de la oxitocina.	7
2.1.2.1. Liberación de oxitocina en el ordeño y el amamantamiento.	7
2.1.2.2. Funciones de la oxitocina en el parto.	9
2.1.2.3. Funciones de la oxitocina en la luteólisis.	10
2.2. LA PROGESTERONA.	13
2.2.1. Síntesis y mecanismos de acción de la progesterona.	13
2.2.2. Funciones de la progesterona.	14
2.2.2.1. Funciones de la progesterona en el ciclo estral.	14
2.2.2.2. Funciones de la progesterona en la gestación.	16
2.3. GESTACIÓN.	17
2.3.1. Reconocimiento materno de la gestación.	19
3. MATERIAL Y MÉTODOS.	21
3.1. Localización.	21
3.2. Animales.	21
3.3. Diseño experimental.	22
3.4. Análisis estadístico.	25
4. RESULTADOS.	26
5. DISCUSIÓN.	31
6. CONCLUSIÓN.	35
7. REFERENCIAS.	36

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Tratamiento que recibió cada grupo de animales. Vacas del grupo OX (n=14), tratadas con oxitocina; vacas del grupo OX-P4 (n=10), tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona; y vacas del grupo TSTG (n=13), tratadas con solución salina. 23
- Figura 2.** Tratamiento que recibió cada grupo de animales y días post-inseminación en los que se realizó el diagnóstico de gestación. Vacas del grupo OX (n=20), tratadas con oxitocina; vacas del grupo OX-P4 (n=14), tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona; y vacas del grupo TSTG (n=14), tratadas con solución salina. 24
- Figura 3.** Concentración sérica de progesterona durante el ciclo estral, en vacas del grupo TSTG (n=13), tratadas con solución salina (Δ); vacas de OX (n=14), tratadas con oxitocina (\bullet); vacas del grupo OX-P4 (n=10), tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona (\square). El Error Srandar de la diferencia fue de ± 0.678 ng/ml. La concentración sérica de progesterona en los días 16 al 18, fue mayor ($P < 0.05$) para OX, respecto del TSTG. En los días 6 al 13 y 16 al 20, la concentración sérica de progesterona fue mayor ($P < 0.05$) para OX-P4, respecto al TSTG. En los días 6 al 13, 19 y 20, la concentración sérica de progesterona fue mayor ($P < 0.05$) en OX-P4 respecto a OX. 27
- Figura 4.** Duración del ciclo estral en vacas del grupo TSTG (n=9), tratadas con solución salina (\blacksquare) y en vacas del grupo OX (n=6), tratadas con oxitocina (\blacksquare). Días del diestro con concentración sérica de progesterona mayor a 1 ng/ml en vacas del grupo TSTG (n=13), vacas del grupo OX (n=14) y vacas del grupo OX-P4 (n=10) tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona (\square). Distinta literal indica diferencia ($P < 0.05$) entre tratamientos. 28
- Figura 5.** Total de progesterona de los días en que esta fue mayor a 1 ng/ml en vacas del grupo TSTG (n=13) tratadas con solución salina (\blacksquare), vacas del grupo OX (n=14) tratadas con oxitocina (\blacksquare) y vacas del grupo OX-P4 (n=10) tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona (\square). Distinta literal indica diferencia ($P < 0.05$) entre tratamientos. 29
- Figura 6.** Porcentajes de gestación en los días 24, 27, 35, 45 y 60 después de la IA, en vacas del grupo TSTG (n=14), tratadas con solución salina (\blacksquare); vacas del grupo OX (n=20), tratadas con oxitocina (\blacksquare); vacas del grupo OX-P4 (n=14), tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona (\square). No se encontró diferencia ($P > 0.05$) en los porcentajes de gestación, entre tratamientos. 30

1. INTRODUCCIÓN

En las explotaciones bovinas de doble propósito de las zonas tropicales de México, se utiliza el ganado cebú (*Bos indicus*) para el cruzamiento con ganado tipo europeo (*Bos taurus*) a fin de que hereden de los primeros la resistencia a las condiciones climáticas de la zona y de los segundos (Holstein y Pardo Suizo, principalmente), para transferir las características de precocidad y producción lechera (Hansen, 2004). La descendencia de esta cruce, conocida comúnmente como ganado F1 (*Bos taurus x Bos indicus*), por su influencia genética cebuína retiene cantidades variables de leche residual en cada ordeño; por tal motivo, tradicionalmente se ordeña utilizando al becerro como apoyo para estimular la eyección completa de la leche (Murugaiyah *et al.*, 2001). La modernización y en particular la mecanización del ordeño, ha traído consigo la eliminación de la práctica tradicional de usar al becerro para estimular la eyección de la leche; sin embargo, el no utilizar al becerro como apoyo, ha ocasionado que disminuya la cantidad de leche ordeñada. Lo anterior ha generado que uno de los procedimientos más utilizados actualmente para estimular la expulsión de la leche sin presencia del becerro consista en inyectar oxitocina en cada ordeño (Villa *et al.*, 2003).

Durante el amamantamiento, se establece un arco reflejo que se inicia con el estímulo del pezón por el becerro, y viaja por vía aferente al sistema nervioso central hasta el hipotálamo. La respuesta es la síntesis y secreción de oxitocina en forma de gránulos desde los núcleos supraóptica y paraventricular hacia la neurohipófisis de donde será vertida a la circulación sanguínea y transportada hasta la glándula mamaria; ahí, estimula a las células mioepiteliales que rodean a los lactotrópos (Lollivier *et al.*, 2002), causando la eyección de la leche (Bruckmaier y Blum, 1998).

En vacas Holstein, la administración de 20 UI de oxitocina antes del ordeño si presencia de becerro, causa aumentos en la producción de leche hasta del 11.6% por lactancia como un efecto directo en la eyección de la leche (Nostrand *et al.*, 1991). Este incremento en la producción de leche es independiente de la capacidad sintética de la glándula mamaria ya que se ha observado que la

oxitocina no tiene acción estimulante directa en el metabolismo mamario (Knight, 1994; Ballou *et al.*, 1993).

En vacas Gyr, durante el amamantamiento, el pico de oxitocina sérica es de 120 pg/ml y en el ordeño mecánico alcanza un máximo de 80 pg/ml (Negrao 2007) mientras que administrando 20 UI de oxitocina se sobrepasan los valores normales de una lactación (Macuhova *et al.*, 2004). Sin embargo, debe considerarse que la hormona participa en diversos procesos fisiológicos del organismo, la mayoría de ellos vinculados con la reproducción, donde se incluyen la función ovárica, el parto, la lactación (contracción de células mioepiteliales) y el establecimiento de conductas como el instinto materno (Hafez, 2000) y los efectos del uso de la oxitocina no se han evaluado en estos procesos.

En particular en la fisiología reproductiva, la oxitocina es la hormona mediadora del proceso de luteólisis actuando como regulador de la amplitud de la secreción pulsátil de prostaglandina F₂α (PGF₂α) (Kotwica *et al.*, 1999). Para que se de este proceso, la neurohipófisis aumenta la secreción de oxitocina por el estímulo de los estrógenos; la interacción de oxitocina hipofisiaria con los receptores de oxitocina en el endometrio, evoca la secreción de pulsos luteolíticos de PGF₂α por parte del útero, el cuerpo lúteo (CL) responde a los pulsos uterinos de PGF₂α con pulsos de oxitocina que van a actuar en el útero estimulando a la vez los pulsos de PGF₂α, generando un sistema de retroalimentación positiva que se mantiene hasta ocasionar la luteólisis (Niswender *et al.*, 2000; McCracken *et al.*, 1999). Además del útero, el CL también se ha reconocido como sitio de la producción de PGF₂α, aunque la importancia fisiológica del CL como productor de PGF₂α parece ser restringida a un papel autocrino/paracrino que amplifica la acción luteolítica de la PGF₂α uterina (Shirasuna *et al.*, 2004).

El CL es una glándula transitoria, cuya función principal es la producción de progesterona (Niswender *et al.*, 2000; McCracken *et al.*, 1999). La progesterona regula las secreciones uterinas y oviductuales, de las cuales, el embrión es dependiente totalmente durante los primeros días de desarrollo (Roberts y Bazer,

1988) El desarrollo embrionario temprano y por lo tanto el reconocimiento de la gestación se favorecen por las altas concentraciones de progesterona entre los días 14 - 17 del ciclo estral (Mann y Lamming, 1999). Por consiguiente, las anomalías en la función del CL o bien, un retraso en el inicio de la fase lútea, ocasionarían bajos niveles de progesterona, siendo esto, una causa importante del fracaso de la gestación (Larson *et al.*, 1996).

Hay evidencia de que una cantidad adicional de progesterona a la que produce el cuerpo lúteo mejora las tasa de gestación (Cavaliere *et al.*, 1998), es por ello que para mejorar los parámetros reproductivos en vacas Holstein, se ha empleado la suplementación de progesterona en los días 3.5 al 10 después de la inseminación resultan con un aumento de 18% de gestación en los animales tratados (Larson *et al.*, 2007). El efecto positivo de la progesterona sobre el porcentaje de gestación se atribuye a que suprime la capacidad de la oxitocina de inducir la secreción endometrial de PGF2 α , inhibiendo la expresión del gen del receptor de la oxitocina en el útero, evitando así el proceso de luteólisis (Robinson *et al.*, 2001).

En los sistemas de producción bovina de doble propósito, la administración de oxitocina para estimular la bajada de la leche pudiera parecer inocua, ya que es una hormona que se elimina rápidamente del organismo (Villa *et al.*, 2003); sin embargo, recientemente se documentó que la administración diaria de oxitocina para estimular el bajado de la leche en vacas F1, aumenta los días abiertos (Lavin y Basurto, 2005). Esto podría deberse a que la oxitocina disminuye las concentraciones séricas de progesterona durante el ciclo estral (Meza *et al.*, 2006), lo cual podría explicar el decremento en la tasa de preñez. Por lo que, en el presente trabajo, se estudió el efecto de la administración diaria de oxitocina sobre la concentración sérica de progesterona y el porcentaje de gestación; así como el efecto de la suplementación con progesterona los días 5 al 24 después de la inseminación en vacas tratadas diariamente con oxitocina, sobre los perfiles sanguíneos de progesterona y el porcentaje de gestación.

HIPÓTESIS

La administración diaria de oxitocina afecta la funcionalidad del cuerpo lúteo disminuyendo la concentración sérica de progesterona y el porcentaje de gestación. Mientras que la suplementación con progesterona los días 5 al 24 después de la inseminación contrarresta el efecto de la administración diaria de oxitocina y se eleva la tasa de gestación.

OBJETIVOS

GENERAL: Determinar el efecto de la administración diaria de oxitocina sobre la vida y funcionalidad del cuerpo lúteo y el efecto de la suplementación con progesterona en vacas tratadas diariamente con oxitocina, sobre el porcentaje de gestación.

ESPECÍFICOS:

- Determinar el efecto de la administración diaria de oxitocina sobre las concentraciones séricas de progesterona y el porcentaje de gestación.
- Determinar el efecto de la suplementación con progesterona, en vacas tratadas diariamente con oxitocina, sobre las concentraciones séricas de progesterona y el porcentaje de gestación.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. LA OXITOCINA

La oxitocina (del griego "nacimiento rápido") es una hormona relacionada con la conducta maternal. En las hembras, la oxitocina se libera en grandes cantidades tras la distensión del cérvix uterino y la vagina durante el parto, así como en respuesta a la estimulación del pezón por la succión de la cría. (Hafez, 2000). Existe evidencia de que la oxitocina está asociada con la afectividad, la ternura, el contacto y el orgasmo en ambos sexos (Zak *et al.*, 2007). En el cerebro parece estar involucrada en el reconocimiento y establecimiento de relaciones sociales y podría estar involucrada en la formación de relaciones de confianza (Kosfeld *et al.*, 2005) y generosidad (Zak *et al.*, 2007) entre personas.

2.1.1. Síntesis y mecanismos de acción de la oxitocina

La oxitocina es un nonapéptido constituido por una estructura cíclica formada por un puente de disulfuro entre los residuos cistina que ocupan las posiciones 1 y 6, y un tripéptido residual, en el extremo carboxilo, formado por prolina, leucina y glicina alfa amida (Murray *et al.*, 2001).

La oxitocina se sintetizan como una pre-prohormona, que es un polipéptido mayor, que incluye: a la hormona, al péptido señal para dirigir la síntesis del polipéptido hacia la luz del retículo endoplasmico, al tripéptido que señala el sitio de procesamiento enzimático para la separación de la hormona de su neurofisisina, y ésta última, que constituye la mayor porción del polipéptido. La oxitocina y su neurofisisina son incluidos juntos en vesículas neurosecretoras en el aparato de Golgi, donde se mantienen unidas mediante interacciones iónicas y puentes de hidrógeno en el medio ácido de la vesícula secretora y se separan al ser secretadas al plasma sanguíneo, donde el pH es ligeramente alcalino (González *et al.*, 2003).

La síntesis de oxitocina en los núcleos magnocelulares se hace en el soma de las neuronas y de allí se transporta en vesículas neurosecretoras, que contienen a la oxitocina y a su neurofisisina, a lo largo del axón no mielinado, hasta las

dilataciones terminales de axón, ubicadas en la pituitaria posterior o neurohipófisis. Las vesículas no secretadas en forma inmediata, son almacenadas en una dilatación preterminal del axón, denominada cuerpo de Herring, que representa un reservorio donde se acumulan alrededor del 70% de las vesículas disponibles para secreción. En el axón se establece un flujo constante de vesículas secretoras, entre la dilatación terminal y el cuerpo de Herring, donde parte de las vesículas son englobadas por lisosomas, degradadas y reciclados sus contenidos (González *et al.*, 2003).

En la neurohipófisis, la secreción de la oxitocina se da en un patrón pulsátil, y ocurre por exocitosis, mediante despolarización de la membrana y aumento en la terminación nerviosa del ingreso de iones de calcio. Se han identificado como estímulos para la secreción de oxitocina, a la acetilcolina, la serotonina, los estrógenos y la noradrenalina (González *et al.*, 2003).

Para que la oxitocina ejerza su efecto, tiene que unirse a su receptor en la célula blanco. El receptor para oxitocina es un péptido de 389 aminoácidos, con siete dominios de hélice transmembranales, que se acopla a una proteína Gq. El acoplamiento con la proteína Gq es en la porción carboxi-terminal, intracitoplasmática del receptor (Gimpl y Fahrenholz, 2001).

El mecanismo de transducción intracelular de la señal, se da por la activación de fosfolipasa C β , que al actuar en los fosfolípidos de la membrana, induce la formación de inositol trifosfato (IP $_3$) y diacil-glicerol. (DAG). El IP $_3$ actúa sobre canales iónicos de calcio en el retículo endoplasmático, incrementando las concentraciones intracelulares del ión en tanto que el DAG activa la proteína cinasa C, que fosforila varias proteínas, no completamente identificadas, que entre otros efectos, refuerzan la inclusión de iones de calcio al interior de la célula. El calcio intracelular incrementado, forma complejos con calmodulinas, que desencadenan la activación de sintetasas de óxido nítrico (ON). La formación de ON a partir de arginina, estimula a su vez la activación de guanilato-ciclasa soluble, que aumenta la formación de ciclo guanidina monofosfato (cGMP), que activa diversos sistemas enzimáticos en las células. En el músculo liso, la

presencia de Ca^{++} -Calmodulina activa la miosina-cinasa de las cadenas ligeras, con lo que se inicia la contracción del músculo liso. En los bovinos, en los tejidos periféricos, se han identificado receptores o la unión específica de oxitocina, únicamente en el miometrio, endometrio, placenta, ovario, cuerpo lúteo, testículo, glándula mamaria y adrenales (Gimpl y Fahrenholz, 2001)

2.1.2. Funciones de la oxitocina

La oxitocina participa en la regulación de diversos procesos fisiológicos, destacando los procesos vinculados con la reproducción y con la producción láctea. En los procesos vinculados con la reproducción se encuentran la inducción del parto por medio de la estimulación de la contracción de la musculatura lisa uterina (Murray *et al.*, 2001) y la estimulación de la secreción de prostaglandina $\text{F2}\alpha$ ($\text{PGF2}\alpha$) en el útero, para que se lleve a cabo el proceso de luteólisis (Kotwica *et al.*, 1999). En cuanto a la producción láctea, la eyección de la leche se lleva a cabo por la contracción de las células mioepiteliales que rodean los alvéolos en la glándula mamaria, (Murray *et al.*, 2001)

2.1.2.1. Liberación de oxitocina en el ordeño y el amamantamiento

En el proceso del amamantamiento, la cría estimula los pezones de la madre desencadenando el reflejo neuroendocrino de Ferguson, en donde la oxitocina juega un papel de suma importancia para culminar con la bajada de la leche (Hafez, 2000). El estímulo nervioso que llega a las neuronas endocrinas de los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo provoca su activación sincronizada, que produce la secreción de oxitocina en forma de pulsos, que le permite alcanzar tejidos periféricos, como la glándula mamaria. Esta liberación masiva de oxitocina causa la contracción de las células mioepiteliales que rodean los alvéolos y las paredes de los ductos galactóforos (Lollivier *et al.*, 2002).

Las concentraciones plasmáticas de oxitocina en vacas lecheras dependen del estímulo a que se someten, siendo las que amamantan las que alcanzan mayores concentraciones plasmáticas de oxitocina, seguidas de las que son ordeñadas a

mano y por ultimo, las ordeñadas mecánicamente (Uvnäs-Moberg *et al.*, 2001). La composición racial, también esta involucrada en las concentraciones plasmáticas de oxitocina al momento del ordeño. En vacas Holstein, vacas Gir y vacas F1 (Ho x Gir) la concentración plasmática de oxitocina es similar antes del ordeño, sin embargo, aumenta mas rápido durante el ordeño en vacas Holstein, seguido de la craza Holstein x Gir y al final la raza Gir (Negrao y Marnet, 2006).

Durante la ordeña de las vacas lecheras, las concentraciones plasmáticas máximas de oxitocina se alcanzan durante los primeros dos minutos a partir que se colocan las pezoneras, debido a los pulsos de alta frecuencia que se establecen. Posteriormente, la concentración en plasma es decreciente, retornando a los niveles basales entre 10 y 15 minutos después (Lollivier *et al.*, 2002).

Conocer el comportamiento de las concentraciones plasmáticas de la oxitocina a lo largo de la ordeña, dio pauta a tratar de aumentar la producción láctea administrando oxitocina exógena que magnificara el efecto de la oxitocina endógena. La oxitocina administrada intramuscularmente (a dosis de 50 unidades internacionales, UI) un minuto antes de iniciar el ordeño, aumenta los niveles plasmáticos alcanzando su máximo (135 ± 10 pg/ml) nueve minutos después de iniciado el ordeño, mientras que en los animales testigo, la mayor concentración plasmática de oxitocina se alcanza a los seis minutos después de iniciada la ordeña, siendo de 25 ± 13 pg/ml; en animales que se les administra oxitocina (a dosis de 50 UI), sin ser sometidos a ordeña, la curva de oxitocina plasmática fue muy similar a los tratados, alcanzando su máxima concentración (95 ± 15 pg/ml) ocho minutos después de la administración (Macuhova *et al.*, 2004). Entonces, la oxitocina exógena, no suprime la liberación de oxitocina endógena, si no que se suma a esta, para alcanzar niveles plasmáticos mayores, además el retiro del tratamiento crónico de oxitocina no tiene efecto sobre la secreción de oxitocina endógena en ordeñas posteriores (Macuhova *et al.*, 2004).

La administración de oxitocina para estimular la bajada de la leche, se refleja en un aumento de la producción. Nostrand *et al.* (1991), a lo largo de 305 d, administraron 20 UI de oxitocina vía intramuscular a 35 vacas Holstein, inmediatamente antes de colocarles las mamilas para el ordeño, y manteniendo 38 vacas como testigo, encontraron que el grupo tratado produjo 11.6% más leche que el testigo, derivado de una mejor persistencia, sin registrar efectos negativos en la salud o reproducción de los animales, atribuibles al tratamiento. Por su parte, Luna *et al.* (2007b) dicen que la administración de oxitocina para estimular el bajado de la leche, promovió mayor producción de leche vendible en un 8%, en ganado doble propósito (*B. taurus* x *B. indicus*).

El aumento de la producción láctea, como efecto de la administración exógena de oxitocina en vacas, se da por la obtención de la leche residual resultante de la contracción de las células mioepiteliales que rodean los alvéolos. Sin embargo, Ballou *et al.* (1993), sugieren que además podría haber un aumento real de síntesis de leche. Knight (1994), encontró que los tratamientos con oxitocina inyectada en vacas lecheras, por vía intramuscular a razón de 20 UI, cuatro minutos antes de cada ordeño, aumentó la producción de leche en 12% con relación a lo observado en las vacas ordeñadas tres horas después de la administración de oxitocina por lo que concluye que el aumento de producción láctea que se obtiene con la aplicación de oxitocina exógena, se debe solamente a la mejor eyección de la leche, sin que se puedan atribuir al tratamiento efectos directos de estimulación de la síntesis de leche o en el metabolismo de la glándula mamaria. Además al administrar oxitocina en vacas lecheras, a un grupo antes del ordeño, a otro grupo después del ordeño y solución salina al grupo testigo, no se encontraron cambios en la cantidad de grasa, proteína y lactosa, por lo que se concluye que la oxitocina exógena, no tiene ningún efecto en la composición de la leche (Ballou *et al.*, 1993).

2.1.2.2. Funciones de la oxitocina en el parto

Al momento del parto, la presión de la cría ocasiona distensión vaginal y uterina y estimula la liberación de oxitocina por parte de la hipófisis (Murray *et al.*, 2001). Durante embarazo bovino, se secreta oxitocina de manera intermitente. La amplitud y la frecuencia de los niveles plasmáticos de oxitocina son bajos hasta dos semanas antes del parto. El patrón de secreción de oxitocina, aumenta por etapas de manera gradual; los primeros dos aumentos coinciden con el cambio en la secreción de esteroides ováricos, sugiriendo que estas hormonas pueden regular la secreción de oxitocina alrededor del parto. El tercer aumento en oxitocina no se asocia a ningún cambio en niveles esteroides y se atribuyen a un estímulo nervioso causado por la presión del feto sobre el canal del parto. El hecho de que exista substancial aumento en los niveles plasmáticos de oxitocina dos semanas antes del inicio del trabajo de parto, sugiere que la oxitocina también participa en la preparación de las estructuras reproductivas asociadas al parto. Este aumento en los niveles plasmáticos de oxitocina se debe a una mayor secreción de la hormona por parte de la pituitaria posterior o neurohipófisis. Sin embargo, se han detectado picos en la concentración plasmática de la vena útero – ovárica, lo que sugiere que una cantidad menor de oxitocina, puede ser de origen lútea y posiblemente de origen caruncular (Fuchs *et al.*, 2001).

Al estudiar el comportamiento de los niveles plasmáticos de oxitocina durante el parto de vacas *B. taurus*, Fuchs *et al.* (2001) encontraron que se da una oleada de oxitocina al momento de iniciar el trabajo de parto en donde los niveles plasmáticos se elevan en promedio a 40.4 ± 12.6 $\mu\text{U/ml}$ en la vena yugular, y a 84.5 ± 19.1 $\mu\text{U/ml}$ en la vena útero – ovárica (Fuchs *et al.*, 2001).

Después del parto, los niveles plasmáticos de oxitocina siguen siendo altos, disminuyendo hasta que la placenta es expulsada (Fuchs *et al.*, 2001).

2.1.2.3. Funciones de la oxitocina en la luteólisis

La luteólisis es un proceso en el cual, el cuerpo lúteo pierde su funcionalidad y su estructura, siendo la oxitocina la moduladora de la síntesis y liberación de $\text{PGF}_{2\alpha}$,

que es la hormona encargada del proceso luteolítico (kotwica *et al.*, 1999). Este mecanismo natural de regresión lútea actúa en el último tercio del diestro, siendo en el ganado bovino, alrededor de los días 14 al 16 del ciclo estral (Niswender *et al.*, 2000).

Conforme avanza el diestro, sobre el útero y el hipotálamo se incrementa el efecto de los estrógenos, al tiempo que disminuye el efecto de la progesterona. La mayor actividad estrogénica estimula la generación de pulsos hipotalámicos intermitentes de secreción de oxitocina, la formación de receptores para oxitocina en el útero. Como resultado de lo anterior, se liberan pulsos de cantidades sub-luteolíticas de PGF2 α en el útero. Estos pulsos de PGF2 α aunque bajos, son suficientes para iniciar la secreción de oxitocina del cuerpo lúteo que cuenta con receptores que se encuentran en alto estado de sensibilidad a PGF2 α . La oxitocina secretada por el cuerpo lúteo amplifica la secreción de PGF2 α del endometrio. Esa cantidad aumentada de PGF2 α es suficiente para activar sus receptores, aún aquellos en estado de baja sensibilidad del cuerpo lúteo, para inhibir la secreción de progesterona y aumentar la de oxitocina, que a su vez refuerza la síntesis de PGF2 α . Los siguientes pulsos de PGF2 α , probablemente se deben a la activación del generador hipotalámico de pulsos de oxitocina, sin tener que seguir dependiendo del cuerpo lúteo que pasa por un estado de refractoriedad y ha iniciado su proceso de regresión (McCracken *et al.*, 1999). Además, en la vaca, se ha identificado al cuerpo lúteo como una glándula que secreta PGF2 α durante la luteólisis, aunque la importancia fisiológica de la PGF2 α proveniente del cuerpo lúteo, parece estar restringida a un papel local que amplifica la acción luteolítica de la PGF2 α del útero (Shirasuna *et al.*, 2004). Entonces, el útero aparece como transductor que convierte señales neurales (pulsos de oxitocina), en pulsos de PGF2 α que se encargan de la luteólisis mientras que la oxitocina ovárica actúa en forma complementaria a la hipotalámica para aumentar la magnitud de los pulsos de PGF2 α (McCracken *et al.*, 1999).

Para que se lleve a cabo el proceso de luteólisis, deben existir los receptores necesarios. A través del ciclo estral la concentración de receptores a oxitocina en el útero es dinámica; después del estro, las concentraciones de mRNA del receptor de la oxitocina disminuyen hasta volverse imperceptibles entre el día 6 y día 15 del ciclo estral. Las concentraciones de mRNA del receptor de la oxitocina se perciben otra vez en el epitelio luminal el día 16. Las concentraciones de mRNA del receptor de la oxitocina continúan en aumento durante la fase folicular hasta el día 21, para disminuir después del estro (Robinson *et al.*, 2001).

Aunado a la presencia de receptores para oxitocina en el útero, es necesario que el cuerpo lúteo sea responsivo a la acción de la PGF2 α . A mediados de la fase lútea, la PGF2 α induce un aumento agudo del flujo de sangre seguido por una disminución dentro del cuerpo lúteo; sin embargo, al inicio de la fase lútea, la PGF2 α no es capaz de desencadenar este efecto. La carencia de la respuesta vascular dentro del cuerpo lúteo, a la inyección de PGF2 α en la fase lútea temprana, parece estar correlacionado directamente con la capacidad de ser resistente a la PGF2 α (Acosta *et al.*, 2002).

La capacidad del cuerpo lúteo de producir oxitocina, también es dinámica a través de la fase lútea. En el cuerpo lúteo bovino, se encuentra transcrito el gen de la oxitocina a partir de la mitad de la fase lútea, lo que implica que el cuerpo lúteo interviene en la determinación del momento de la luteólisis (Ivell y Richter, 1984).

Kotwica *et al.* (1999) postulan que la oxitocina exógena puede amplificar y modular el curso de la luteólisis participando como regulador de la amplitud de la secreción pulsátil de PGF2 α , siempre que existan las condiciones de los componentes participantes en el proceso. La oxitocina va a inducir la liberación de PGF2 α si se cumplen las condiciones antes mencionadas y además, el útero haya estado expuesto a progesterona y estradiol. Por lo tanto, el estradiol y la progesterona están asociadas a la sincronización de la secreción de PGF2 α ganado bovino (Kieborz-Loos *et al.*, 2003).

Luego entonces, la oxitocina exógena va a ejercer su efecto luteolítico, mediado por PGF2 α , dependiendo de la etapa del ciclo estral en que se administre y la

dosis administrada, ya que su acción depende de la expresión de los receptores endometriales que es regulada por la relación de progesterona: estrógenos, y de la sensibilidad del cuerpo lúteo a la acción de la PGF2 α (González *et al.*, 2003).

2.2. LA PROGESTERONA

La progesterona es una hormona esteroide, que se produce principalmente en el cuerpo lúteo. Esta hormona se requiere para la preparación y mantenimiento del endometrio secretor, que proporciona nutrición temprana al blastocito (Murray *et al.*, 2001).

2.2.1. Síntesis y mecanismos de acción de la progesterona

Los mecanismos involucrados en la síntesis y secreción de progesterona son complejos, aunque esta hormona es el primer componente biológicamente activo producido en la vía de la biosíntesis esteroide (Bao *et al.*, 1997).

El substrato para la esteroidogénesis es el colesterol, que se sintetiza en el hígado y se transporta a los tejidos esteroideogénicos en forma de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de alta densidad (HDL) (Murray *et al.*, 2001). Una vez que el colesterol está presente en el citosol de la célula. La síntesis de todos los esteroides depende del transporte del colesterol a la mitocondria; este paso parece ser el regulador de la esteroidogénesis (Niswender *et al.*, 2000). En la mitocondria, las acciones del complejo enzimático P450_{scc}, rompen la cadena lateral del colesterol para formar la pregnenolona, la cual se transporta al retículo endoplásmico liso, donde es convertida a progesterona por acción de la enzima P450_{c17} (Schams y Berisha, 2004).

No existe evidencia de que la progesterona se puede almacenar en altas cantidades en los tejidos secretores, es por eso que aunque la progesterona es la hormona esteroide primaria secretada por el cuerpo lúteo, la producción es constante mientras se mantenga funcional (Niswender *et al.*, 2000).

Para que la progesterona ejerza su acción, debe unirse a su receptor que se encuentra dentro de la célula. La función del receptor es reconocer a su ligando;

después de unirse a él transmite una señal que resulta en una respuesta biológica (Holt, 1989).

Las hormonas esteroideas son transportadas rápidamente a través de la membrana celular por difusión simple. Se desconocen los factores responsables de esta transferencia pero se cree que depende de la concentración plasmática de la hormona. Una vez en la célula la hormona se une a su receptor, esto implica transformación o activación del receptor. El término de transformación hace referencia a un cambio en la conformación del complejo hormona-receptor que produce o revela un sitio de unión necesario para ligarse a la cromatina. En otros casos el receptor se encuentra unido a proteínas; al unirse la hormona se disocia este complejo, lo cual se conoce como activación del receptor (Liebermann y Schams, 1994).

La unión de la hormona al receptor es un proceso saturable. En la mayoría de los casos la máxima respuesta biológica se observa con concentraciones de hormona menores a aquellas necesarias para ocupar la totalidad de los receptores. La actividad biológica se mantiene mientras que el sitio nuclear se encuentre ocupado por el complejo hormona-receptor. En parte la actividad depende del tiempo de exposición más que de la dosis. En los estrógenos el complejo hormona-receptor tiene una vida media prolongada, a diferencia de la progesterona que debe circular en mayor cantidad porque su complejo se disocia rápidamente (Conneely y Lydon, 2000).

2.2.2. Funciones de la progesterona

La progesterona es la hormona que participa en la regulación de los procesos reproductivos asociados al establecimiento y mantenimiento de la gestación, desarrollo de la glándula mamaria y regularidad del proceso de ovulación (Leonhardt y Edwards, 2002).

2.2.2.1. Funciones de la progesterona en el ciclo estral

Con el proceso de luteinización del folículo ovulatorio, se comienza a producir progesterona desde niveles no detectables, hasta el día 4 después de detectado el

celo, donde se registran niveles mayores a 1ng/ml considerando entonces la existencia de un cuerpo lúteo funcional (Niswender *et al.*, 2000). Las concentraciones máximas de progesterona, se alcanzan entre los días 12 al 18 después de detectado el celo y comienzan a disminuir en el día 19 (Robinson *et al.*, 2001).

La progesterona producida durante los 10 días posteriores al celo, inhiben el mecanismo luteolítico, debido a la relación existente entre los receptores de estrógenos y los de progesterona en el endometrio (Spencer y Bazer, 2004). La unión de la progesterona a su receptor, inhibe a los receptores de estrógenos, impidiendo que la unión de los estrógenos a su receptor sirva como factor de transcripción para la síntesis de los receptores a oxitocina (Gimpl *et al.*, 2001), los cuales son necesarios en el mecanismo de producción de PGF2 α ; pero una exposición continua de progesterona sobre el endometrio, resulta en una saturación de los receptores de progesterona entre los días 11 y 12 posteriores al estro, deprimiendo así su función. (Spencer y Bazer, 2004).

La acción de la progesterona sobre los receptores de oxitocina no se manifiesta exclusivamente limitando su síntesis y expresión, sino además, modificando su afinidad por la hormona e interfiriendo con los mecanismos de transducción. Los receptores de oxitocina necesitan de la presencia de cationes divalentes como Mg⁺⁺ o Mn⁺⁺ y de colesterol para unirse con alta afinidad a la hormona. El colesterol actúa como un modulador alostérico que estabiliza al receptor en su forma de mayor afinidad y los iones metálicos aumentan la respuesta de las células a la oxitocina. Las membranas plasmáticas con poco colesterol muestran una menor capacidad de respuesta a la oxitocina. La progesterona bloquea el transporte intracelular de colesterol y su esterificación, con lo que se concentra en los lisosomas. A pesar de que la progesterona activa algunas enzimas para la síntesis de colesterol, este proceso es suspendido en un paso intermedio, acumulando metabolitos como el lanosterol. El retiro de progesterona o bien, la saturación de los receptores de progesterona debido a una constante exposición,

libera estos procesos y se restablece la alta afinidad de los receptores y el procesamiento a colesterol de los precursores acumulados (Gimpl y Fahrenholz, 2001).

Entonces, durante el ciclo estral, la expresión del receptor de oxitocina, del receptor de estrógeno y del receptor de progesterona, es generalmente más alta en el estro y más baja durante la fase lútea, indicando que el estradiol tiene una acción estimulante y la progesterona tiene una acción inhibitoria en la expresión de estos genes en el ganado bovino (Robinson *et al.*, 2001).

2.2.2.2. Funciones de la progesterona en la gestación

En cada ciclo estral, la presencia de la fase lútea se caracteriza por altos niveles de progesterona, la cual va a mantener en óptimas condiciones el micro ambiente en el cual se desarrollará el embrión, ya que su presencia en el tracto materno, tiene acción sobre las secreciones uterinas que mejoran el desarrollo embrionario temprano y por tanto favorecen la producción de INF- τ , molécula fundamental en el reconocimiento materno embrionario (Mann *et al.*, 2001).

Para que se rescate el cuerpo lúteo del proceso de luteólisis el embrión debe lograr que se lleve a cabo el reconocimiento materno de la preñez, con lo que asegura la producción de progesterona necesaria para la gestación, de lo contrario, el cuerpo lúteo sufrirá lisis con la consecuente disminución de los niveles de progesterona y la pérdida del embrión (López *et al.*, 2008). La concentración de progesterona es fundamental para determinar la viabilidad del embrión. Stronge *et al.* (2004), encontraron que bajas concentraciones de progesterona durante los días 5 al 7 después de la inseminación, se asocia a baja fertilidad en vacas lecheras.

Buscando mantener los niveles óptimos de progesterona en vacas candidatas a gestación, se ha administrado progesterona exógena para, obtener las condiciones necesarias para la implantación del embrión. Robinson *et al.* (1988) encontraron que la administración de progesterona entre los días 10 al 17 después de la inseminación en vacas Holstein, resulta en 60% de gestación en el grupo

tratado, comparado con 30% del grupo testigo. Larson *et al.* (2007), suplementaron con progesterona mediante un dispositivo intravaginal liberador de progesterona y obtuvieron un 51% de gestación en los animales tratados, comparado contra 33% de gestación en el grupo testigo en vacas Holstein.

El efecto positivo de la progesterona sobre el porcentaje de gestación se atribuye a que suprime la capacidad de la oxitocina de inducir la secreción endometrial de PGF2 α , inhibiendo la expresión del gen del receptor de la oxitocina en el útero, evitando así el proceso de luteólisis y permitiendo la implantación del embrión (Robinson *et al.*, 1999). Luego entonces, concentraciones sub - óptimas de progesterona a partir en los días 4 al 7 después de la AI se asocian negativamente al porcentaje de supervivencia del embrión (Stronge *et al.*, 2004).

2.3. GESTACIÓN

Después de la fertilización, entre los días 3 y 4 (mórula con 8 a 16 células), el embrión migra del oviducto hacia el cuerno uterino en donde la glucosa es utilizada como sustrato energético (Bearden *et al.*, 1992). El Factor de crecimiento parecido a la insulina tipo 1 (IGF-I) podría estar involucrado en este proceso de descenso embrionario, ya que el ARNm que codifica para IGF-I ha sido encontrado en el oviducto bovino durante esta fase de migración (Matsui *et al.*, 1997). A los 5 ó 6 días de vida embrionaria (fase de 16 a 32 células), se lleva a cabo el proceso de compactación celular, formándose contactos que desarrollan uniones firmes entre las células (Bearden *et al.*, 1992; Hafez, 2000). En esta etapa el embrión comienza a funcionar como un organismo llamado mórula, el cual es relativamente independiente del ambiente uterino (Araújo *et al.*, 2005).

El desarrollo de uniones intracelulares estrechas en el estadio de mórula durante la compactación, es seguido de la acumulación de líquido formando una cavidad central que recibe el nombre de blastocele, la cual también acumula líquido proveniente del metabolismo mitocondrial (Araújo *et al.*, 2005).

La bomba sodio-potasio (Na⁺/K⁺) se activa en la membrana basal del trofoblastodermo para transporte iónico activo, esto establece un gradiente que induce movimiento de líquido hacia adentro del blastocele, provocando expansión

con lo cual se forma el trofoblasto y el embrioblasto, originándose de esta manera el estadio de blastocisto (Watson *et al.*, 1992).

Aproximadamente al 9º o 10º día de vida (fase de 160 células) el blastocisto eclosiona de la zona pelúcida por combinación de acciones físicas y enzimáticas de la vesícula en expansión. Las enzimas plasmina y tripsina activan al blastocisto lo cual causa reblandecimiento de su zona matriz permitiendo la expansión y ruptura a lo largo del plano ecuatorial para la salida de la masa celular (Jonson, 1979). Inmediatamente, se establece el primer contacto del embrión y el epitelio uterino materno, lo cual desencadena un intercambio de nutrientes y prepara el ambiente para un estado de preimplantación embrionaria (Thatcher *et al.*, 1983). La regulación de la receptividad del útero a la implantación del blastocisto, podría estar ejercida por una glucoproteína transmembranosa denominada Muc-1. Esta es abundante en la fase no receptiva y se reduce notablemente o puede estar ausente para el momento de la implantación (Watson *et al.*, 1992). Como la síntesis epitelial de Muc-1 esta regulada por la P4, la perdida de receptores nucleares para progesterona del epitelio uterino (día 8 – 10) reduciría la producción de Muc-1 y se abriría un estado receptivo para la adhesión del embrión. Para el día 10 se reduce la producción de la progesterona, lo que conlleva igualmente a la reducción de la concentración de Muc-1 (Jonson, 1979). Esta reducción permite la interacción y contacto entre factores adhesivos como las integrinas y sus receptores, acercando el embrión a la superficie uterina y formando un tipo de placentación epiteliochorial (Roberts *et al.*, 1999)

Se ha observado durante el fenómeno de adhesión del embrión bovino y ovino el desarrollo de microvellosidades, las cuales son proyectadas hacia el interior de la luz de las glándulas uterinas (Johnson *et al.*, 1999). Estas vellosidades proporcionan un anclaje transitorio y una estructura absorbente para el embrión mientras sigue completándose la implantación. Posteriormente estas microvellosidades se reducen en longitud lo que conlleva a un contacto mas cercano entre estas y el epitelio uterino (Johnson *et al.*, 1999).

2.3.1. Reconocimiento materno de la gestación

El reconocimiento materno de la gestación se define como el periodo crítico en el cual el embrión da señales de su presencia a la madre (Spencer y Bazer, 2004). En rumiantes este reconocimiento requiere que el embrión se transforme de esférico hacia una forma elongada para generar una mayor superficie de contacto (precontacto) con el epitelio uterino, además de producir el factor antiluteolítico INF-*t* (Dailey *et al.*, 2002).

El INF-*t* es una proteína perteneciente a la familia de los interferones tipo 1 producida en embriones rumiantes (Araujo *et al.*, 2005), se ha determinado su secreción hacia el lumen uterino entre los días 10 y 21 después de presentado el celo, con una producción máxima entre los días 14 y 16 (Spencer y Bazer, 2004). El INF-*t* actúa como agente antiluteolítico interfiriendo en la síntesis de los receptores para oxitocina en el útero (Gimpl y Fahrenholz, 2001). El INF-*t* se une a su receptor en las células endometriales para inducir una señal intracelular que genera la producción de proteínas tales como el IRF-2 (factor regulador de interferón 2) que va a actuar como un inhibidor del receptor de estrógenos en la célula endometrial, evitando la unión hormona-receptor necesaria para la síntesis de receptores de oxitocina, así no habrá receptor que reciba el estímulo para la producción de PGF2 α (Demmers *et al.*, 2001). Mediante este mecanismo de señalización por el INF-*t*, se mantiene la producción de progesterona por parte del cuerpo lúteo, necesaria para el mantenimiento de la gestación (Farin *et al.*, 1990).

Robinson *et al.* (1999), reportaron que la presencia del embrión no tiene ningún efecto en el patrón de la expresión o la concentración del mRNA y de la proteína del receptor de estrógeno o de la progesterona; pero la liberación de PGF2 α y la concentración de receptores de oxitocina, fue suprimida por la presencia del embrión, por lo concluyen, que la inhibición del receptor de oxitocina en vacas, no implica una disminución de la expresión del receptor de estrógeno.

Además de regular a la baja los receptores de oxitocina en el útero, el INF-*t*, aumenta la biosíntesis PGE2; la cual puede desempeñar papeles fundamentales

en cuanto a la receptividad del útero promoviendo la quietud del miometrio; por lo tanto, el reconocimiento materno de la gestación, depende en entre otros factores, de la inhibición de la secreción de $\text{PGF2}\alpha$ y de la producción creciente PGE2 (Arosh *et al.*, 2007).

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Localización

El experimento se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT), perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), localizado en el Km 5.5 de la Carretera Federal Martínez de la Torre-Tlapacoyan, municipio de Tlapacoyan, estado de Veracruz, a una altura de 151m.SNM. El clima de esta zona es cálido – húmedo con una temperatura y precipitación media anual de 23.4°C y 1840 mm, respectivamente. Este campo experimental está definido en términos agro ecológicos dentro de un bosque subtropical semi siempre verde, localizado en una zona de transición climática, entre la zona costera sub-húmeda al oeste y la zona húmeda hacia la Sierra Madre Oriental.

3.2. Animales

Se utilizaron vacas F1 (Holstein x Brahman), con 75 días posparto en promedio, mantenidas bajo condiciones de pastoreo intensivo en praderas empastadas con Estrella africana (*Cynodon plectostachyus*), gramas nativas (*Axonopus* spp y *Paspalum* spp) y pastos introducidos (*Brachiaria brizanta* y *B. humidicola*), asociadas con leguminosa (*Arachis pintoii*). Durante el ordeño, las vacas eran suplementadas con 2 kg de alimento concentrado con 18% de PC y sales minerales *ad libitum*. Al parir las vacas amamantaron a su cría durante el primer

día posparto y posteriormente, se sometieron a ordeño mecánico una vez por día, sin apoyo de becerro durante el resto de la lactación.

3.3. Diseño experimental

Experimento 1. Concentración sérica de progesterona en vacas tratadas con oxitocina y suplementadas o no con progesterona.

Se utilizaron 37 vacas a las cuales se les sincronizó el celo mediante inserción de un dispositivo de control interno liberador de drogas (CIDR-B, Pfizer Animal Health, EUA) que contiene 1.9g de progesterona (día 0); el día 8, se retiró el CIDR-B y se aplicó 300 UI de Gonadotropina sérica (PMSG, Folligon, Intervet, Holanda) y 25 mg de prostaglandina F_{2α} (Lutalyse, Pfizer Animal Health, EUA) a los animales que se les detectó cuerpo lúteo mediante ultrasonografía. Al finalizar la sincronización, las vacas se asignaron al azar a tres grupos: Grupo OX (n=14), se trató diariamente con 20 UI de oxitocina IM, aproximadamente un minuto antes de la ordeña; Grupo OX-P4 (n=10), se trató diariamente con 20 UI de oxitocina IM, aproximadamente un minuto antes de la ordeña y se suplementó con progesterona del día 5 al 24 después de detectado el celo, reinsertando el mismo CIDR-B que se utilizó en la sincronización. Grupo Testigo (TSTG) (n=13), se le administró diariamente 1 ml de solución salina fisiológica IM.

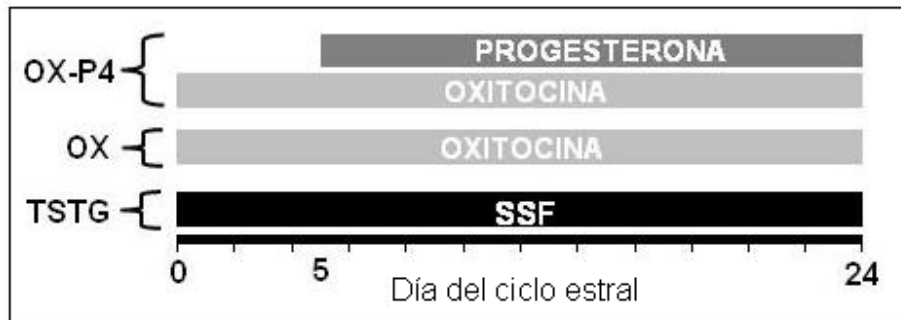


Figura 1. Tratamiento que recibió cada grupo de animales. Vacas del grupo OX (n=14), tratadas con oxitocina; vacas del grupo OX-P4 (n=10), tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona; y vacas del grupo TSTG (n=13), tratadas con solución salina.

El muestreo sanguíneo de todas las vacas, se realizó diariamente por punción de la vena coccígea, comenzando 48 horas después de finalizar la sincronización, concluyendo el día 25 después de detectado el celo. Las muestras de sangre se colectaron en tubos sin anticoagulante dejándose reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos; posteriormente, se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 minutos para extraer el suero, el cual se conservó mediante congelación a -4°C hasta la determinación de la concentración de progesterona por radioinmunoanálisis en fase sólida, utilizando el Tes Kit Coat-a-Count Progesterone In-vitro Diagnostic (Diagnostic Products Corporation, EUA).

Experimento 2. Porcentajes de gestación en vacas tratadas con oxitocina y suplementadas o no con progesterona.

Se utilizaron 48 vacas, a las cuales se les sincronizó el celo utilizando el protocolo descrito en el experimento 1. Posteriormente las vacas se asignaron al azar a tres grupos: Grupo OX (n=20), Grupo OX-P4 (n=14) y Grupo Testigo (TSTG) (n=14), los cuales recibieron el tratamiento descrito en el experimento 1.

Todos los animales fueron inseminados aproximadamente 12 horas después de detectado el celo. El diagnóstico de gestación se realizó a 24, 27, 35, 45 y 60 días post-IA mediante ultrasonografía transrectal.

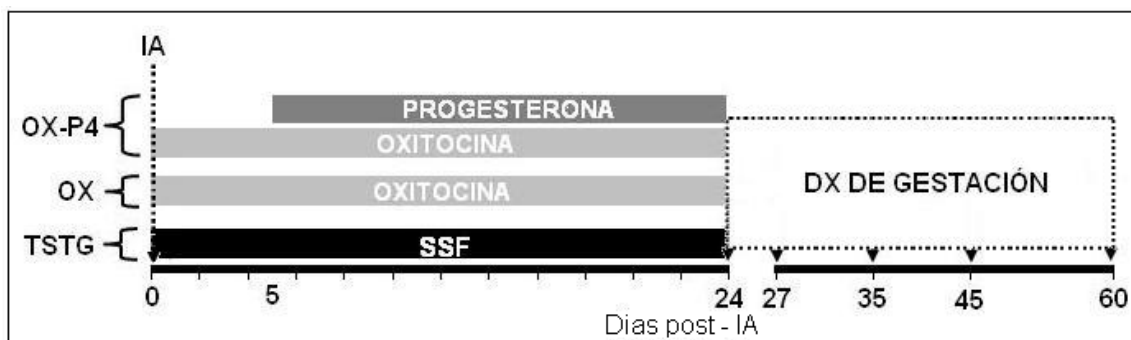


Figura 2. Tratamiento que recibió cada grupo de animales y días post-inseminación en los que se realizó el diagnóstico de gestación. Vacas del grupo OX (n=20), tratadas con oxitocina; vacas del grupo OX-P4 (n=14), tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona; y vacas del grupo TSTG (n=14), tratadas con solución salina.

Experimento 3. Porcentaje de gestación y servicios por concepción en vacas tratadas con oxitocina.

Se realizó un análisis retrospectivo en la misma explotación bovina con vacas F1 (Holstein x Brahman) tratadas diariamente con 20 UI de oxitocina (OX, n=148) y vacas F1 (Holstein x Brahman) que no fueron tratadas con oxitocina (TSTG, n=91). Las variables de respuesta fueron: porcentaje de gestación y servicios por concepción. Se realizaron dos empadres estacionales por año, en los meses de Febrero – Marzo y Agosto – Septiembre. Las vacas se inseminaron aproximadamente 12 horas después de detectado el celo. Durante el empadre las vacas que repetían celo eran inseminadas nuevamente.

3.4. Análisis estadístico

Experimento 1: Los datos de concentración sérica de progesterona, se procesaron utilizando un análisis de varianza para modelos con mediciones repetidas, considerando como variables independientes la administración de oxitocina, la suplementación con progesterona y el día de muestreo; como variable dependiente la concentración sérica de progesterona (ng/ml); y como variable aleatoria el animal anidado dentro del grupo. Se determinó el error estándar de la diferencia para establecer las diferencias en la concentración sérica de progesterona entre tratamientos dentro de cada día.

La concentración sérica de progesterona de los días en que esta fue mayor a 1 ng/ml, duración del ciclo estral y duración del diestro con concentración sérica de progesterona mayor a 1 ng/ml, se procesaron utilizando el análisis de varianza para modelos completamente al azar, considerando como variables independientes la administración de oxitocina y la suplementación con progesterona, y como variables dependientes la concentración sérica de progesterona, duración del ciclo estral y número de días del ciclo estral con concentración sérica de progesterona mayor a 1 ng/ml.

Experimento 2 y 3: Los datos de porcentaje de gestación se procesaron mediante la prueba "ji" cuadrada.

Los datos de servicios por concepción se procesaron utilizando un análisis de varianza, considerando como variable independiente la administración de oxitocina y como variable dependiente los servicios por concepción.

4. RESULTADOS

Experimento 1. Concentración sérica de progesterona en vacas tratadas con oxitocina y suplementadas o no con progesterona.

En la figura 3 se presenta la concentración sérica de progesterona (ng/ml) durante el ciclo estral en vacas testigo tratadas con solución salina (TSTG), vacas tratadas con oxitocina (OX) y vacas tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona (OX-P4). El error estándar de la diferencia fue de ± 0.678 ng/ml.

En los días 16 al 18 del ciclo estral, la concentración sérica de progesterona, fue mayor ($P < 0.05$) para las vacas del grupo OX, respecto de las del grupo TSTG. En los días 6 al 13 y 16 al 20 del ciclo estral, la concentración sérica de progesterona fue mayor ($P < 0.05$) para las vacas del grupo OX-P4, respecto de las del grupo TSTG. En los días 6 al 13, 19 y 20 del ciclo estral, la concentración sérica de progesterona fue mayor para las vacas del grupo OX-P4, respecto de las del grupo OX.

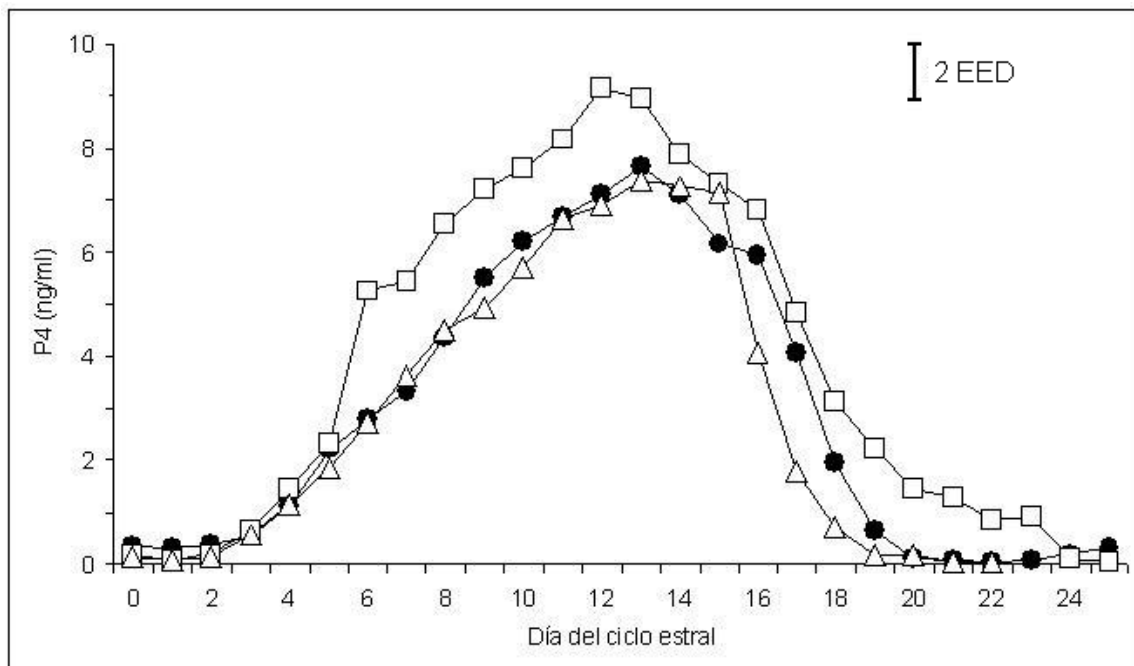


Figura 3. Concentración sérica de progesterona durante el ciclo estral, en vacas del grupo TSTG (n=13), tratadas con solución salina (Δ); vacas deOX (n=14), tratadas con oxitocina (●); vacas del grupo OX-P4 (n=10), tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona (□). El Error Standard de la diferencia fue de ± 0.678 ng/ml. La concentración sérica de progesterona en los días 16 al 18, fue mayor ($P<0.05$) para OX, respecto del TSTG. En los días 6 al 13 y 16 al 20, la concentración sérica de progesterona fue mayor ($P<0.05$) para OX-P4, respecto al TSTG. En los días 6 al 13, 19 y 20, la concentración sérica de progesterona fue mayor ($P<0.05$) en OX-P4 respecto a OX.

En la figura 4 se presenta la duración del ciclo estral en vacas del grupo TSTG (n=9), tratadas con solución salina y vacas del grupo OX (n=6), tratadas con oxitocina y los días del diestro con concentración sérica de progesterona mayor a 1 ng/ml en vacas del grupo TSTG (n=13), tratadas con solución salina, vacas del grupo OX (n=14), tratadas con oxitocina y vacas del grupo OX-P4 (n=10), tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona.

No se encontró diferencia ($P>0.05$) entre tratamientos, respecto a la duración del ciclo estral. Respecto a los días del diestro con concentración sérica de progesterona mayor a 1 ng/ml, fue mayor ($P<0.05$) para las vacas del grupo OX-P4 respecto de las de los grupos OX y TSTG, sin que existiera diferencia ($P>0.05$) al comparar las vacas del grupo OX con las del grupo TSTG.

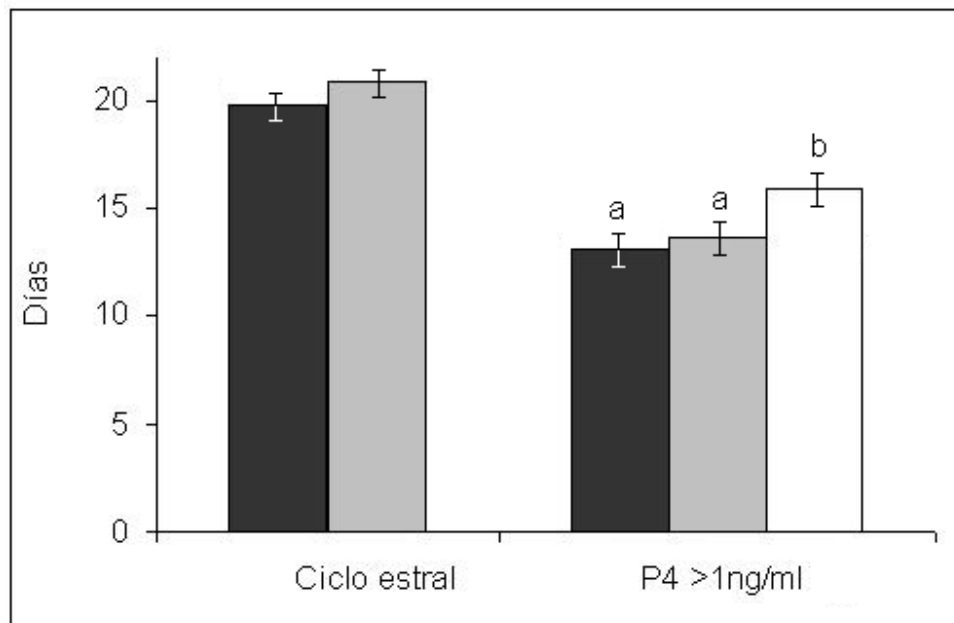


Figura 4. Duración del ciclo estral en vacas del grupo TSTG (n=9), tratadas con solución salina (■) y en vacas del grupo OX (n=6), tratadas con oxitocina (■). Días del diestro con concentración sérica de progesterona mayor a 1 ng/ml en vacas del grupo TSTG (n=13), vacas del grupo OX (n=14) y vacas del grupo OX-P4 (n=10) tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona (□). Distinta literal indica diferencia ($P < 0.05$) entre tratamientos.

En la figura 5 se presentan y el total de progesterona de los días en que esta fue mayor a 1 ng/ml en vacas del grupo TSTG (n=13), tratadas con solución salina, vacas del grupo OX (n=14), tratadas con oxitocina, vacas del grupo OX-P4 (n=10), tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona.

El total de progesterona de los días en que esta fue > a 1 ng/ml, fue mayor para las vacas del grupo OX-P4 en comparación de las de los grupos OX y TSTG, sin que existiera diferencia ($P > 0.05$) entre las vacas del grupo OX y las del grupo TSTG.

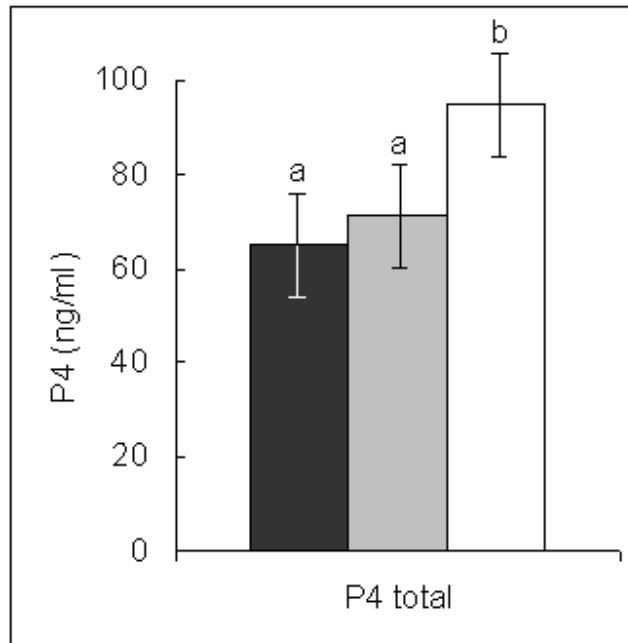


Figura 5. Total de progesterona de los días en que esta fue mayor a 1 ng/ml en vacas del grupo TSTG (n=13) tratadas con solución salina (■), vacas del grupo OX (n=14) tratadas con oxitocina (■) y vacas del grupo OX-P4 (n=10) tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona (□). Distinta literal indica diferencia ($P < 0.05$) entre tratamientos.

Experimento 2. Porcentajes de gestación en vacas tratadas con oxitocina y suplementadas o no con progesterona.

En la figura 6 se presentan los resultados de los porcentajes de gestación en los días 24, 27, 35, 45 y 60 después de la IA, en vacas testigo (TSTG), vacas tratadas con oxitocina (OX) y vacas tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona (OX-P4).

No se encontró diferencia ($P > 0.05$) entre los grupo.

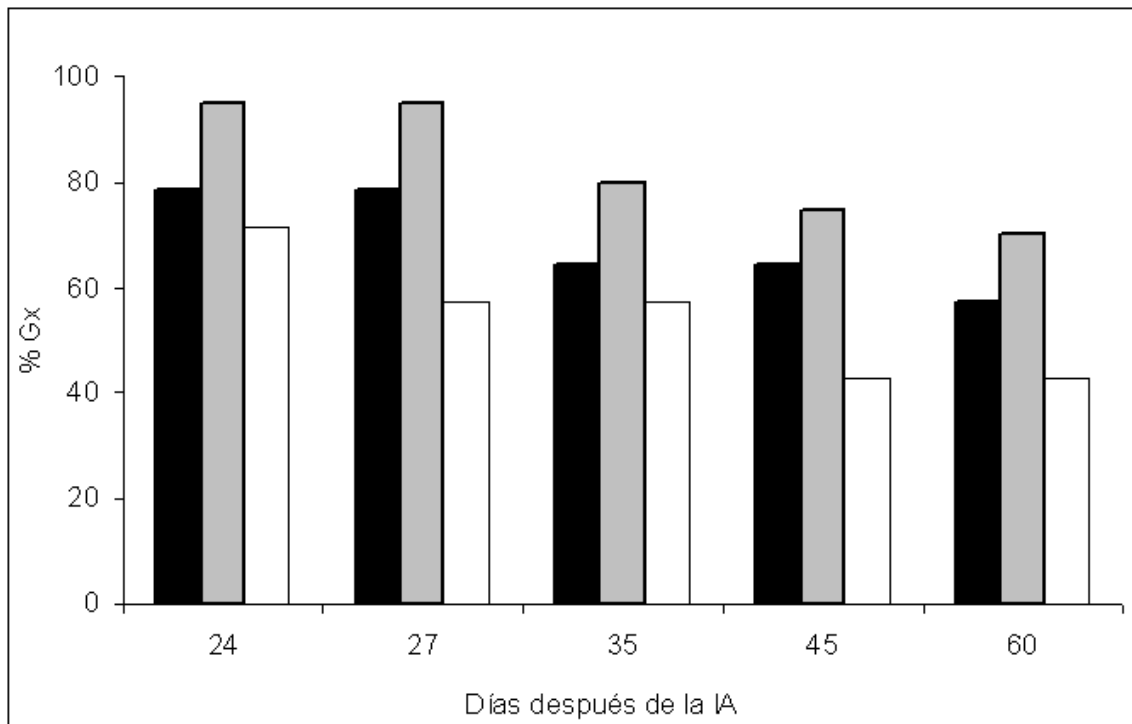


Figura 6. Porcentajes de gestación en los días 24, 27, 35, 45 y 60 después de la IA, en vacas del grupo TSTG (n=14), tratadas con solución salina (■); vacas del grupo OX (n=20), tratadas con oxitocina (■); vacas del grupo OX-P4 (n=14), tratadas con oxitocina y suplementadas con progesterona (□). No se encontró diferencia ($P>0.05$) en los porcentajes de gestación, entre tratamientos.

Experimento 3. Porcentaje de testación y servicios por concepción en vacas tratadas con oxitocina.

Al comparar el grupo tratado con oxitocina (OX) y el grupo testigo (TSTG) no se encontró diferencia ($P>0.05$) en el porcentaje de gestación y los servicios por concepción, siendo para OX de 75 por ciento y 1.72 servicios por concepción, respectivamente y para TSTG de 74 por ciento y 1.85 servicios por concepción, respectivamente.

5. DISCUSIÓN

En este estudio se analizó el efecto de la administración diaria de oxitocina, sobre los porcentajes de gestación. La resistencia del cuerpo lúteo a la acción diaria de oxitocina se reflejó en los porcentajes de gestación de las vacas del grupo tratado con oxitocina, que no difirieron del grupo testigo. Coincidente con nuestros resultados, Nostrand *et al.*, (1991) informan que no existe diferencia en porcentajes de gestación en vacas Holstein tratadas 2 veces al día con 20 UI de oxitocina. Sin embargo, hay trabajos que contradicen los resultados obtenidos en el presente estudio, como los de Lemaster *et al.*, (1999) quienes sostienen que la administración de oxitocina (100 UI cada 8h, los días 5 a 8 post inseminación) disminuye la supervivencia embrionaria (de 80% en el grupo testigo, a 33.3% en el grupo tratado con oxitocina), al estimular la secreción de PGF_{2α}; siendo la posible causa de estos resultados, la utilización de dosis elevadas de oxitocina. Resultados similares reportan Yildiz y Erisir (2005) quienes dicen que la administración de oxitocina (100 IU, del día 4 al 7 post inseminación) resultó en porcentajes de gestación de 62.5% en el grupo tratado con oxitocina, comparado con 87.5% del grupo control.

En el presente estudio se evaluaron los porcentajes de gestación en animales F1 (Holstein x Cebú) mantenidas bajo condiciones de trópico, lo cual podría explicar las diferencias encontradas al compararse con trabajos realizados en vacas lecheras, pues en la gestación influyen variables diversas según el tipo de explotación al que son sometidos los animales.

Buscando mejorar los porcentajes de gestación, se evaluó la suplementación de progesterona del día 5 al 24 post inseminación ya que se ha informado que altas concentraciones de progesterona entre los días 14 - 17 del ciclo estral, favorecen el desarrollo embrionario temprano y por lo tanto el reconocimiento materno de la gestación (Mann y Lamming, 1999). Resultados similares encontraron Robinson *et al.*, (1988) quienes mediante la suplementación de progesterona del día 10 al 17 post inseminación, incrementaron el porcentaje de gestación, sin embargo, los

resultados obtenidos en el presente trabajo difieren de los anteriores ya que la suplementación de progesterona no mejoró los porcentajes de gestación. Tal como lo indicaron los resultados de Cleeff *et al.*, (1991) quienes observaron que el porcentaje de concepción en animales suplementados con progesterona del día 7 al 13 pos inseminación, no mejoró en comparación con el grupo testigo. Cleeff *et al.* (1996) encontraron que la administración de progesterona del día 1 al 9 después de la inseminación disminuye el porcentaje de gestación a primer servicio de 46.5% a 18.2% en vacas lecheras. Hasta el momento no hay evidencia suficiente para justificar el uso de progesterona para mejorar los porcentajes de gestación ya que en la literatura disponible existen trabajos que indican que el suministro de progesterona aumenta (Cavalieri *et al.*, 1998; Beltman *et al.*, 2009), otros que disminuye (cleeff *et al.*, 1996) y otros que no afecta (Cleff *et al.*, 1991) la tasa de gestación por lo que convendría continuar examinando este efecto, cuyos resultados podrían depender de la condición fisiológica del animal, las condiciones ambientales o sus interacciones.

En este estudio se analizó el efecto de la administración diaria de oxitocina, sobre la concentración sérica de progesterona durante el ciclo estral en vacas F1 encontrándose que la administración diaria de oxitocina, aumenta la concentración sérica de progesterona los días 16 al 18 del ciclo estral.

Antes del día 16 del ciclo estral, la concentración sérica de progesterona no difiere entre el grupo tratado con oxitocina y el grupo testigo. Resultados similares se documentan en un estudio realizado con animales F1 (*Bos taurus* x *Bos indicus*), bajo condiciones de pastoreo y administrando 20 UI de oxitocina, en donde Luna *et al.* (2007) encontró que no existe diferencia en cuanto a la concentración sérica de progesterona entre vaquillas tratadas con oxitocina y vaquillas testigo en la fase lútea temprana. En el ciclo estral, la acción luteolítica de la oxitocina mediada por PGF_{2α} depende de la presencia de receptores para oxitocina en el endometrio (Kieborz *et al.*, 1991; Niswender *et al.*, 2000) y estos son regulados por los esteroides gonadales; de hecho, la densidad de receptores varía según la etapa (Kieborz *et al.*, 1991), particularmente en el diestro temprano, las concentraciones

de estos receptores son casi indetectables, (Gonzalez *et al.*, 2003). Robinson *et al.* (2001) encontró que después del estro, las concentraciones del mRNA del receptor de la oxitocina disminuyen hasta volverse imperceptibles del día 6 al 15 del ciclo estral, aunado a esto Acosta *et al.* (2002) encontraron que durante la primera mitad del ciclo estral el cuerpo lúteo es resistente a la acción de la $\text{PGF}_{2\alpha}$, lo que sugiere que al no haber receptores para oxitocina en el útero, la oxitocina exógena no puede estimular la secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ y de hacerlo, el cuerpo lúteo aun no responde a la acción luteolítica de esta, por lo que la función del cuerpo lúteo no se ve afectada y los niveles de progesterona no difieren del grupo tratado con oxitocina respecto del testigo hasta el día 16 del ciclo estral.

A mediados del diestro, aumenta el número de receptores endometriales para oxitocina (Flint *et al.*, 1994; Niswender *et al.*, 2000). Robinson *et al.* (2001) encontraron que el día 16 se percibe en el útero el mRNA del receptor de la oxitocina y que su concentración aumenta hasta alcanzar su máximo el día 21 del ciclo estral. Los receptores de oxitocina al ser activados por la hormona correspondiente, estimulan la secreción uterina de $\text{PGF}_{2\alpha}$ con la consecuente lisis del cuerpo lúteo que se ve reflejada en la disminución en los niveles séricos de progesterona (Robinson *et al.*, 2001). Estos antecedentes sugieren que la administración de oxitocina una vez que el útero cuenta con receptores para oxitocina, podría desencadenar el proceso de luteólisis con la consecuente disminución de los niveles séricos de progesterona, sin embargo en nuestro estudio al final del diestro, las concentraciones séricas de progesterona en vacas del grupo tratado con oxitocina, fuerpn mayores que la del grupo testigo los días 16 al 18 del ciclo estral.

McCracken *et al.* (1999) y Robinson *et al.*, (2001). Informan que el día 15 del ciclo estral se desencadena el proceso de luteólisis lo que coincide con el comportamiento del grupo testigo que tiene una caída de los niveles de progesterona a partir del día 16 del ciclo estral, sin embargo, aunque se esperaba que en ese momento la caída del grupo tratado con oxitocina fuera aun mas drástica que la del grupo testigo, esto no sucedió. Resultados similares publicaron

Tallam *et al.*, (2000) quienes administraron oxitocina de manera continua del día 14 al 26 del ciclo estral, observando un retraso en la regresión lútea y un aumento en la duración del ciclo estral. Gilbert *et al.*, (1989) observaron también un retraso en la luteólisis al administrar continuamente oxitocina durante la segunda mitad del ciclo estral, debido, probablemente, a que la oxitocina satura sus receptores retrasando el proceso de luteólisis y el cuerpo lúteo mantiene la producción de progesterona.

Nuestros datos junto con los de Luna *et al.*, (2007) parecen indicar que la oxitocina en inyecciones diarias de 20 UI aumenta la vida del cuerpo lúteo al igual que cuando fue administrada de manera continua, tal vez porque al administrar oxitocina diariamente, se saturan los receptores y el proceso de luteólisis se da de manera gradual.

6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio nos permiten concluir lo siguiente:

- La administración diaria de 20 unidades internacionales de oxitocina para estimular la eyección de la leche en vacas F1 (Ho x Ce) no disminuye la concentración sérica de progesterona en el ciclo estral.
- La administración diaria de 20 unidades internacionales de oxitocina para estimular la eyección de la leche en vacas F1 (Ho x Ce) no tiene efecto en los porcentajes de gestación y los servicios por concepción.
- La administración diaria de 20 unidades internacionales de oxitocina para estimular la eyección de la leche en vacas F1 (Ho x Ce) no modifica la duración del ciclo estral, ni los días del ciclo estral con concertación sérica de progesterona mayor a 1 ng/ml.
- La suplementación con progesterona del día 5 al 17 post inseminación, en vacas tratadas diariamente con 20 unidades internacionales de oxitocina, no mejora los porcentajes de gestación.

7. REFERENCIAS

- Acosta T, Yoshizawa N, Ohtani M, Miyamoto A. Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F_{2α} injection in the cow. *Biol Reprod* 2002; 66:651–658.
- Araújo MC, Vale VR, Ferreira AM, Sá WF, Barreto JB, Camargo LS, Serapião RV, Silva GB. Interferon tau secretion in cattle embryos in vitro fertilized before and after cryopreservation. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2005; 57:751-756.
- Arosh JA, Banu SK, Kimmins S, Chapdelaine P, Maclaren LA, Fortier MA. Effect of Interferon-*t* on Prostaglandin Biosynthesis, Transport, and Signaling at the Time of Maternal Recognition of Pregnancy in Cattle: Evidence of Polycrine Actions of Prostaglandin E₂. *Endocrinology* 2004; 145(11):5280–5293.
- Ballou LU, Bleck JL, Bleck GT, Bremen RD. The effects of daily oxytocin injections before and after milk production, milk plasmin, and milk composition. *J Dairy Sci* 1993; 76:1544-1549.
- Bao B, Thomas MG, Williams GL. Regulatory roles of high-density and low-density lipoproteins in cellular proliferation and secretion of progesterone and insulin-like growth factor I by enriched cultures of bovine small and large luteal cells. *J Anim Sci* 1997; 75:3235–3 245.
- Bearden HJ, Fuguay JW, Willard ST. *Applied animal reproduction*. 3^{ra} ed. USA: Prentice Hall, 1992.
- Beltman ME, Lonergan P, Diskin MG, Roche JF, Crowe MA. Effect of progesterone supplementation in the first week post conception on embryo survival in beef heifers. *Theriogenology* 2009; 71:1173–1179.
- Bruckmaier RM, Blum JW. Oxytocin release and milk removal in ruminants. *J Dairy Sci* 1998; 81:939–949.
- Cavaliere J, Kinder JE, De'ath G, Fitzpatrick LA. Effects of short-term treatment with progesterone superimposed on 11 or 17 days of norgestomet treatment on the interval to oestrus and fertility in *Bos indicus* heifers. *Anim Reprod Sci* 1998; 51:169–183.
- Cleff JV, Drost M, Thatcher WW. Effects of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. *Theriogenology* 1991; 36:795–807.
- Cleff JV, Macmillan KL, Drost M, Lucy MC, Thatcher WW. Effects of administering progesterone at selected intervals after insemination of synchronized heifers on pregnancy rates and resynchronization of returns to service. *Theriogenology* 1996; 46:1117–1 130.
- Conneely OM, Lydon JP. Progesterone receptors in reproduction: functional impact of the A and B isoforms. *Steroids* 2000; 65:571-7.
- Dailey RA, Inskeep EK, Lewis PL. Pregnancy failures in cattle: a perspective on embryo loss. XVIIIth International Conference on Reproduction of Farm Animals, Slovakia, May 30, 2002, pp. 1–8.
- Demmers KJ, Derecka K, Flint A. Trophoblast interferon and pregnancy. *Reproduction* 2001; 121:41–49.
- early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 2001; 121:175–180.
- Farin CE, ARIN, Imakawa K, Hansen R, McDonnell J, Murphy C. Expression of Trophoblastic Interferon Genes in Sheep and Cattle. *Biol Reprod* 1990; 43:210–218.
- Flint PF, Lamming GE, Stewart HJ, Abayasekara RE. The role of the endometrial oxytocin receptor in determining the length of the sterile oestrous cycle and ensuring maintenance of luteal function in early pregnancy in ruminants. *Philos Trans R Lond B Biol Sci* 1994; 344: 291–304.
- Fuchs A, Ivell R, Ganz N, Fields M, Gimenez T. Secretion of Oxytocin in Pregnant and Parturient Cows: Corpus Luteum May Contribute to Plasma Oxytocin at Term. *Biol Reprod* 2001; 65:1135–1141.
- Gilbert CL, Lamming GE, Parkinson TJ, Flint AP, Wathes DC. Oxytocin infusion from day 10 after oestrus extends the luteal phase in non-pregnant cattle. *J Reprod Fertil* 1989; 86:203–210.
- Gimpl G, Fahrenholz K. The Oxytocin Receptor System: Structure, Function, and Regulation. *Physiol Rev* 2001; 81:629-683.
- González PE, Espinosa MM, Villa GA. Fisiología de la oxitocina en bovinos. Memorias de XXVII Congreso Nacional de Buiatría; 2003 junio; Villahermosa (Tabasco) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios especialistas en Bovinos, Ac, 2003.

- Hafez ESE, Hafez B, editor. Reproducción e inseminación artificial en los animales. 7^{ma} ed. México: McGraw-Hill, 2000.
- Hansen PJ. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Anim Reprod Sci* 2004; 82-83:349-360.
- Holt JA. Regulation of Progesterone Production in the Rabbit Corpus Luteum. *Biol Reprod* 1989; 40:201-208.
- Ivell R, Richter D. The gene for the hypothalamic peptide hormone oxytocin is highly expressed in the bovine corpus luteum: biosynthesis, structure and sequence analysis. *EMBO J* 1984; 3:2351-2354.
- Johnson G, Burghardt R, Spencer T, Newton G, Ott T, Bazer F. Ovine Osteopontin: II. Osteopontin and avb3 Integrin Expression in the Uterus and Conceptus During the Periimplantation Period. *Biol Reprod* 1999; 61:892-899.
- Johnson M. Intrinsic and extrinsic factors in preimplantation development. *J Reprod Fertil* 1979; 55:255-265.
- Kieborz KR, Silvia WJ, Edgerton LA. Changes in uterine secretion of prostaglandin F2 α and luteal secretion of progesterone in response to oxytocin during the porcine estrous cycle. *Biol Reprod* 1991; 45:950-954.
- Kieborz-Loos K, Garverick H, Keisler D, Hamilton S, Salfen B, Youngquist R, Smith M. Effects of progesterone and estradiol-17 β treatment Oxytocin-induced secretion of prostaglandin F2 α in postpartum beef cows: *J Anim Sci* 2003; 81:1830-1836.
- Knight CH. Short-term oxytocin treatment increases bovine milk yield by enhancing milk removal without any direct action on mammary metabolism. *J Endocrinol* 1994; 142:471-473.
- Kosfeld M, Heinrichs M, Zak P, Fischbacher U, Fehr E. Oxytocin increases trust in humans. *Nature* 2005; 435:673-676.
- Kotwica J, Skarzynski D, Miszkiel G, Mellin P, Okuda K. Oxytocin modulates the pulsatile secretion of prostaglandin F2 α in initiated luteolysis in cattle. *Vet Sci* 1999; 661:1-5.
- Larson SF, Butler WR, Currie WB. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 2007; 102:172-179.
- Larson SF, Butler WR, Currie WB. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. *J Dairy Sci* 1996. 80:1288-1295.
- Lavin MR, Basurto CH. Efecto de la aplicación diaria de oxitocina sobre la eficiencia reproductiva en vacas f1 (Holstein x Cebú) lactantes en el trópico húmedo. *Memorias de XXIX Congreso Nacional de Buiatría; 2005 Agosto: Puebla (Puebla) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios especialistas en Bovinos, Ac, 2005.*
- Lemaster JW, Seals RC, Hopkins FM, Schrick FN. Effects of administration of oxytocin on embryonic survival in progestogen supplemented cattle. *Elsevier Sci* 1999; 57:259-268.
- Leonhardt S, Dean P. Mechanism of Action of Progesterone Antagonists. *Exp Biol Med* 2002; 227:969-980.
- Liebermann J, Schams D. Actions of somatotrophin on oxytocin and progesterone release from the microdialysed bovine corpus luteum *in vitro*. *J Endocrinol* 1994. 143:243-250.
- Lollivier V, Guinard FJ, Ollivier BM, Pierre GM. Oxytocin and milk removal: two important sources of variation in milk production and milk quality during and between milkings. *Reprod Nutr Dev* 2002; 42: 173-186.
- López A, Gómez L, Ruiz C, Olivera M, Giraldo C. Reconocimiento materno de la preñez e implantación del embrión: modelo bovino. *Analecta Veterinaria*, 2008. 28:42-47.
- Leonhardt SA y Edwards DP. Mechanism of Action of Progesterone Antagonists *Exp Biol Med* 2002; 227:969-980.
- Luna PC, Ramírez GJ, Rodríguez AF. Producción de leche en vacas de doble propósito tratadas con oxitocina bajo condiciones de trópico húmedo mexicano. *Asociación Latinoamericana de Producción Animal*, 2007b. 15:15-24
- Luna PC, Ramírez GJ, Rodríguez AF, Gutiérrez AJ. Duración del ciclo estral y dinámica ovárica en vaquillas de doble propósito tratadas con oxitocina en el trópico. *Universidad y Ciencia*. 2007. 23:75-79.
- Macuhova J, Tanc V, Bruckmaier R. Effects of Oxytocin Administration on Oxytocin Release and Milk Ejection. *J Dairy Sci* 2004; 87:1236-1244.

- Mann GE, Lamming GE. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 2001; 121:175–180.
- Mann GE, Lamming GE. The Influence of Progesterone During Early Pregnancy in Cattle. *Reprod Dom Anim* 1999; 34:269–274.
- Matsui M, Takahashi Y, Hishinuma M, Kanagawa H. Stimulation of the development of bovine embryos by insulin and IGF-I is mediated through the IGF-I receptor. *Theriogenology* 1997; 48: 605-616.
- McCracken JA., Custer EE., Lamsa JC. Luteolysis: A Neuroendocrine-Mediated Event. *Physiol Rev* 1999; 79:263–3 23.
- Meza MA, Basurto CH, Gutiérrez AC. Efecto de diferentes dosis de oxitocina sobre la vida y funcionalidad del cuerpo lúteo en vacas F1. *Memorias de XXX Congreso Nacional de Buiatría; 2006 Agosto: Acapulco (Guerrero) México. Mexico (DF): Asociación de Medicos Veterinarios especialistas en Bovinos, Ac, 2006*
- Murray R, Mayes P, Granner D, Rodwell V. *Bioquímica de Harper*. 15ª. Edición, Mexico. El Manual Moderno, 2001.
- Murugaiyah M., Ramakrishnan A.R., Sheikh A.R., Knight C.H, Wilde C.J. Lactation failure in crossbred Sahiwal Friesian cattle. *J Dairy Res* 2001; 68:165–174.
- NEGRÃO J, MARNET P. Milk yield, residual milk, oxytocin and cortisol release during machine milking in Gir, Gir × Holstein and Holstein cows. *Reprod Nutr Dev* 2006; 46:77–85.
- Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW. Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiol Rev* 2000; 80:1–29.
- Nostrand SD, Galton DM, Ekb HN, Bauman DE. Effects of daily exogenous oxytocin on lactation milk yield and composition. *J Dairy Sci* 1991; 74:2119–2127.
- Roberts RM, Bazer FW. The functions of uterine secretions. *J Reprod Fertil* 1988. 82:875–8 92.
- Roberts RM, Ealy AD, Alexenko AP, Han CS, Ezashi T. Trophoblast interferons. *Placenta* 1999; 20:259–264.
- Robinson NA, Leslie KE, Walton JS. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *J Dairy Sci* 1988; 72:202–207.
- Robinson RS, Mann GE, Lamming GE, Wathes DC. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows. *Reproduction* 2001; 122:965–979.
- Robinson RS, Mann GE, Lamming GE, Wathes DC. The effect of pregnancy on the expression of uterine oxytocin, oestrogen and progesterone receptors during early pregnancy in the cow. *J Endocrinol* 1999; 160:21–33.
- Schams D, Berisha B. Regulation of corpus luteum function in cattle-an overview. *Reprod Dom Anim* 2004; 39(4):241-251.
- Shirasuna K, Asaoka H, Acosta T, Wijayagunawardane M, OTAN M, Hayashi K, Matsui M, Miyamoto A. Real-time dynamics of prostaglandin F2 α release from uterus and corpus luteum during spontaneous luteolysis in the cow. 2004. *Reproduction* 128:189–195.
- Spencer TE, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim Reprod Sci* 2004; 82-83:537-50.
- Stronge A, Sreenan J, Diskin M, Mee J, Kenny D, Morris D. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology* 2004; 64:1212–1224.
- Tallam SK, Walton JS, Jonson WH. Effects of oxytocin on follicular development and duration of the estrous cycle in heifers. *Theriogenology* 2000; 53:951–962.
- Thatcher W, Bartol F, Knickerbockers J, Curl J, Wolfenson D. Maternal Recognition of Pregnancy in Cattle. *J Dairy Sci* 1984; 67:2797-281.
- Thatcher W, Guzeloglu A, Binelli M, Hansed TR, Pru JK. Uterine conceptus interactions and reproductive failure in cattle. *Theriogenology* 2001; 56:1435–1450.
- Uvnas-Moberg K.; Johansson B.; Lupoli B.; Svennersten-Sjaunja K. Oxytocin facilitates behavioural, metabolic and physiological adaptations during lactation. *Applied Animal Behaviour Science*, 2001. 72:225-234.
- Villa GA, González PA, Ruiz DR. Oxitocina y somatotropina como método para incrementar la producción en ganado de trópico. *Memorias de XXVII Congreso Nacional de Buiatría; 2003 junio: Villahermosa (Tabasco) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios especialistas en Bovinos, Ac, 2003.*

Watson AJ, Hogan A, Hahnel A, Wiemer KE, Schultz GS. Expression of growth factor ligand and receptor genes in the preimplantation bovine embryo. *Mol Reprod Dev* 1992; 31:87-95.

Yildiz A, Erisir Z. Effects of exogenous oxytocin on embryonic survival in cows. *Acta Vet Brno* 2005; 75:73–78.

Zak P, Stanton A, Ahmadi S. Oxytocin Increases Generosity in Humans. *PLoS ONE*, 2007. Vol. 2, No. 1.