

01673



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y
Zootecnia
División de Estudios de Posgrado



**"EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE NALOXONA Y DESTETE
TEMPORAL POR 48 HORAS A VACAS DE DOBLE PROPOSITO
EN ANESTRO A LOS 28 Y 42 DIAS POSTPARTO EN EL TROPICO"**

T E S I S

Que para obtener el grado de:
MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL

P r e s e n t a :

M.V.Z. José Alfonso López García

Asesores: M.V.Z. Ph. D. Carlos Salvador Galina Hidalgo

M.V.Z. Ph. D. Luis Alberto Zarco Quintero

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

México, D. F., Septiembre de 1991.



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 está 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.

INDICE.

Resumen	1
I. Introducción	2
II. Revisión de literatura	5
2.1 Antecedentes	5
2.2 Endocrinología del anestro lactacional	6
2.3 Efectos del destete y condición corporal sobre el comportamiento reproductivo de los bovinos	9
2.4 Efecto del uso de Naloxona, destete temporal y condición corporal sobre el comportamiento reproductivo de bovinos	13
2.5 Opioides endógenos	16
2.5.1 Clasificación	16
2.5.2 Sitio de acción	18
2.5.3 Mecanismo de acción	18
2.6 Antagonistas de opioides	20
2.7 Naloxona	21
2.7.1 Estructura química	21
2.7.2 Mecanismo de acción	22
III. Materiales y Métodos	23
3.1 Animales y localización	23
3.2 Diseño experimental	23
3.3 Métodos y técnicas	24
3.4 Parámetros evaluados	25
3.5 Análisis estadístico	26
IV. Resultados	27
V. Discusión	38
VI. Bibliografía	43

LISTA DE GRAFICAS Y CUADROS.

Gráfica 1.	Niveles plasmáticos de progesterona en dos animales del grupo I (Naloxona) entre los 28 y 62 días postparto	34
Gráfica 2.	Niveles plasmáticos de progesterona en dos animales del grupo II (testigo) entre los 28 y 62 días postparto	35
Gráfica 3.	Niveles plasmáticos de progesterona en dos animales del grupo III - (N + DT x 48 hr) entre los 28 y 62 días postparto	36
Gráfica 4.	Niveles plasmáticos de progesterona en dos animales del grupo IV (DTx48hr) entre los 28 y 62 días postparto	37
Cuadro 1.	Condición corporal promedio de los - grupos experimentales	27
Cuadro 2.	Medias para las mediciones de leche en los cuatro grupos	28
Cuadro 3.	Porcentaje de animales con o sin - formación de cuerpo lúteo para los cuatro grupos	29
Cuadro 4.	Días del parto al primer estro para los cuatro grupos	30
Cuadro 5.	Valores promedio de progesterona - para cada grupo	32
Cuadro 6.	Coefficientes de determinación y - correlación para los parámetros - evaluados en relación a los días - parto-primer estro para todos los animales	33

RESUMEN.

El efecto de la administración de Naloxona y/o destete temporal por 48 horas fué investigado en 40 vacas de doble propósito en el trópico a los 28 y 42 días postparto, que fueron asignadas aleatoriamente a uno de cuatro grupos: Naloxona 100mg i.v. (N), Testigo (sol.salina) (T), Naloxona 100mg i.v. + Destete temporal x 48 horas(N+DT) o Destete temporal (DT). Se tomaron muestras sanguíneas para determinación de progesterona plasmática a partir del tratamiento, 3 veces por semana hasta los 62 días postparto. Así mismo, se midieron las concentraciones de Hormona Luteinizante (LH) en cuatro animales (uno de cada grupo). No se observó respuesta a los tratamientos y aunque N, N+DT y DT tuvieron un menor intervalo parto-primer estro con respecto a T (123.8, 120.1, 123.6 vs. 131.2), no se encontraron diferencias significativas ($P>.05$). Lo mismo ocurrió con los niveles de progesterona los cuales se mantuvieron bajos a lo largo del experimento, excepto en 2 vacas de N+DT, 3 de DT y 2 de T (sin diferencias significativas entre los tratamientos ($P>.05$). Sin embargo, se encontró una relación inversamente proporcional (altamente significativa $P<.01$) entre el número de partos y la condición corporal con el intervalo parto-primer estro.

Se concluye que la Naloxona y/o el destete temporal por 48 horas no fueron capaces de reducir el anestro postparto quizás por varios factores como pudieran ser una dosis insuficiente de Naloxona, lapso muy corto de destete temporal o una pobre condición corporal de los animales, lo cual impidió observar el efecto esperado de reinicio de actividad ovárica postparto.

I. INTRODUCCION.

La producción de leche en el trópico de México proviene principalmente de ganado de doble propósito formado mayormente por ganado cruzado de Cebú con razas europeas. Las vacas en estas regiones tienen intervalos muy amplios entre partos (Padilla et al.,1982), de 460 días en promedio e intervalos parto-primer estro hasta de 94 días en promedio (Rivera et al.,1989).

Después del parto, las vacas productoras de carne entran en un período de anestro antes de reiniciar su ciclicidad estral (Rodríguez et al.,1980; Humphrey et al.,1983; Piña et al.,1986). Durante este período hay una insuficiente secreción de Hormona Luteinizante (LH) por la adenohipófisis, lo que a su vez es el resultado de una inadecuada secreción de Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) (Rund et al.,1989).

Esto se debe en buena medida al tipo de alimentación que reciben los animales, el cual está basado en el pastoreo. Sin embargo, también puede ser debido a que en su mayoría las vacas son amamantadas y ordeñadas con apoyo del becerro, lo cual las lleva al anestro lactacional, mismo que es un importante factor involucrado en la inhibición de la reproducción en el postparto (Fallas,1987;Viker et al,1989). Cuando la glándula mamaria es estimulada por el amamantamiento se produce una supresión de la liberación hipotalámica de GnRH, lo que impide que las vacas reinicien su actividad ovárica (Williams,1990,1991). Para tratar de solucionar

este problema se han venido efectuando diversos estudios utilizando diferentes métodos de manejo del amamantamiento, entre los cuales se puede mencionar el destete precoz (Holloway y Totusek,1972); el destete temporal (Rodríguez et al.,1980; Píña et al.,1986); y el amamantamiento restringido o lactancia controlada (De los Santos et al.,1976; Pérez y González-Padilla,1976; Rodríguez y Rodríguez,1977; Fallas,1987).

Existen algunas evidencias de que el mecanismo mediante el cual la estimulación de la glándula mamaria causa una supresión en la liberación de GnRH actúa a través de opioides endógenos (Meister et al.,1987). Los opioides endógenos ejercen acciones supresivas sobre las concentraciones séricas de LH en las vacas postparto (Rund et al.,1989). Estas sustancias actúan en el hipotálamo o a través de neuronas relacionadas con él, mediando probablemente la retroalimentación negativa de los esteroides ováricos sobre la secreción de las gonadotropinas (Blank et al.,1979, Brooks et al.,1986,; Stumpf et al.,1988; Rund et al.,1989). El resultado es una disminución en la frecuencia de secreción de Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) (Leshin et al.,1988), lo que provoca una insuficiente liberación de LH, y con ello la hembra se mantiene en anestro (Leung et al.,1986).

Debido al papel inhibitorio de los opioides endógenos sobre la reproducción, se han utilizado fármacos antagonistas de los opioides, como la Naloxona o Naltrexona, para bloquear sus efectos a nivel hipotalámico provocando que haya liberación de GnRH en ovejas, cerdas y bovinos productores de carne de razas europeas. Los resultados,

aunque variados, han sido exitosos en el sentido de que se logra la supresión de inhibición por opioides y los animales reinician su actividad ovárica (Malven et al., 1984; Mattioli et al., 1986; Holloway et al., 1987; Whisnant y Goodman, 1987; Canfield et al., 1988; Fuentes, 1989; Rund et al., 1989).

En el ganado de doble propósito, dominante en los sistemas de producción bovina del trópico poco se ha hecho por tratar de resolver el problema del anestro postparto, por lo que es necesario implementar prácticas de manejo en dichas explotaciones que permitan reducir los intervalos entre partos. Una de ellas podría ser el uso de antagonistas de opioides para inducir el reinicio de la actividad ovárica postparto en estos animales.

Por ello, el objetivo de este trabajo fué estudiar la respuesta endócrina y ovárica (medidas a través de determinaciones de LH, progesterona, palpación de estructuras ováricas e intervalo parto-primer estro), de vacas de doble propósito a la administración de Naloxona (antagonista de opioides), con o sin destete temporal por 48 horas de los becerros, y plantear así una estrategia de acción con esos animales para acortar sus intervalos entre partos.

II. REVISION DE LITERATURA.

2.1 Antecedentes.

El anestro postparto es un problema que se presenta principalmente en el ganado productor de carne (Rodríguez et al.,1980) y en el de doble propósito (Piña et al.,1986; Fallas,1987). La principal causa de este anestro es el estímulo del amamantamiento (Wiltbank,1976; Fallas,1987), aunque también influye el hecho de que durante la lactación los requerimientos nutricionales de la vaca aumentan (Holloway et al.,1987).

Para tratar de solucionar este problema se han utilizado diferentes métodos de manejo, entre los que se pueden mencionar el uso de hormonas exógenas como GnRH (Archbald et al.,1990), progestágenos (Sheffel et al.,1982; Mikeska y Williams,1988) y estrógenos (De los Santos et al.,1976; Walters et al.,1982). También se han implementado prácticas de manejo como el amamantamiento restringido a cierto número de veces al día; (De los Santos et al.,1976; Pérez y González-Padilla,1976; Rodríguez y Rodríguez,1977; Piña et al.,1986; Fallas,1987; Bluntzer et al.,1989); destete precoz (Holloway y Totusek,1972; Salcedo et al.,1977); destete temporal por 48 horas (Rodríguez et al.,1980), por 72 horas (Meister et al.,1987), por 96 y hasta por 144 horas (Wood et al.,1987; Shively y Williams,1987,1989), y la separación completa de la cría y la madre (Fallas,1987). Los métodos de control del amamantamiento han tenido cierto éxito, ya que funcionan en buena parte de las vacas, pero

existe el inconveniente de que requieren de trabajo extra, mayor manejo de los animales y mucho cuidado con las crías.

2.2 Endocrinología del anestro lactacional.

En vacas productoras de leche el reinicio de la actividad ovárica postparto ocurre muy rápidamente ya que comienzan al liberar GnRH y LH en forma pulsátil hacia los 10 días postparto aproximadamente. Como resultado de ésto, hay una ovulación y subsecuente formación de un cuerpo lúteo entre los días 15 y 18 postparto (Archbald et al., 1990; Revah et al., 1989).

Lo anterior no es aplicable para vacas productoras de carne ya que los intervalos parto-primer estro en vacas productoras de carne amamantadas van de 46 a 168 días, lo que se debe a una menor liberación de LH (Humphrey et al., 1983). La disminución en la liberación de LH que está presente desde antes del parto debido a los efectos crónicos de los esteroides gestacionales se prolonga aún después de que éstos han desaparecido de la circulación. El estradiol juega un papel importante en la capacidad del amamantamiento para influenciar negativamente la liberación de gonadotropinas, lo cual puede ocurrir como resultado de una gran sensibilidad a los efectos negativos del estradiol, así como una relativa capacidad para responder a la retroalimentación positiva del estradiol dentro de las tres semanas posteriores al parto (Williams, 1990).

En vacas en anestro postparto está muy reducida la frecuencia de liberación de pulsos de LH, lo que a su vez se debe a una reducción en la frecuencia de liberación de GnRH (Blank et al., 1979;

Leung et al.,1986). En cambio, la secreción de FSH en vacas en anestro es esencialmente igual a la de vacas ciclando (Leung et al.,1986).

El anestro postparto se debe principalmente a una inhibición del mecanismo generador de pulsos de GnRH a nivel hipotalámico, ya que la hipófisis es capaz de responder a pulsos exógenos de GnRH, pero éstos no se producen endógenamente. Conforme avanza el postparto el hipotálamo recupera gradualmente la capacidad de secretar frecuentemente GnRH, con lo que aumenta la secreción pulsátil de LH y el crecimiento folicular hasta que se produce la primera ovulación (Webb et al.,1977).

La clave del anestro postparto, está entonces en los mecanismos mediante los cuales el estímulo del amamantamiento se traduce en una inhibición hipotalámica (Williams,1990). Son diversas hormonas las que pueden estar involucradas en esta inhibición. Aunque se ha reportado que los niveles de cortisol se mantienen basales hasta el día 56 postparto aproximadamente (Humphrey et al.,1983), con el amamantamiento hay liberación de cortisol, y en ganado no acostumbrado al manejo el stress provoca elevaciones marcadas del cortisol plasmático, lo que disminuye notablemente la secreción de LH (Armstrong,1986; Zarco,1991) incluyendo la frecuencia de sus pulsos. Además, debido a que la Hormona Adenocorticotrófica (ACTH) es co-secretada con β -endorfina (opioide endógeno) a partir de un precursor común llamado pro-opiomelanocorticotropina, un aumento en el cortisol puede reflejar un exagerado incremento en las concentraciones de β -endorfina después de una situación estresante

(Nanda et al.,1989). Por otro lado, la administración de cortisol exógeno suprime la respuesta de la LH, pero no la de FSH al GnRH (Ringstrom y Schwartz,1985).Esto indica que los esteroides adrenales pueden estar involucrados en el reinicio de la actividad ovárica postparto. Es importante que al realizar experimentos en los que los animales estén sometidos a stress se tome en cuenta el papel del cortisol en la inhibición de la liberación de LH.

Por otra parte, Leung y colaboradores (1986) han indicado que la adenohipófisis de vacas productoras de carne mantiene el número y afinidad de receptores para GnRH en el postparto temprano, por lo que no está limitada su capacidad de liberar gonadotropinas, sino que son los opioides los que se encuentran inhibiendo la liberación de GnRH, produciendo cambios morfológicos en las neuronas liberadoras de éste que reducen su síntesis (Leshin et al.,1988).

La liberación de LH de la hipófisis es inhibida por el amamantamiento en las vacas postparto, y el destete de los becerros es seguido por un abrupto aumento en la liberación de LH (Walters et al.,1982). Las vías neurales específicas a través de las cuales el amamantamiento inhibe la liberación de gonadotropinas se desconocen, aunque se ha comprobado que el amamantamiento altera la liberación o síntesis del GnRH en las vacas productoras de carne (Malven et al.,1986). Recientemente, Williams (1991) ha encontrado que la intervención neural a nivel de la teta de la vaca por el amamantamiento del becerro es irrelevante en la inhibición de la secreción de LH, y señala al comportamiento materno como el sistema de control involucrado. La sola presencia del becerro no puede

activar la supresión de los ciclos estrales, pero la interacción de la vaca con el becerro independientemente de la lactación y estímulo de succión sí puede suprimir los ciclos estrales por lo menos durante 50 días después del parto (Viker et al.,1989).

2.3 Efectos del destete y condición corporal sobre el comportamiento reproductivo de los bovinos.

Se ha observado que el intervalo parto-primer estro es afectado por el estímulo de amamantamiento del becerro (Odde, et al.,1986). Para tratar de evitar este efecto se ha utilizado el amamantamiento restringido, que consiste en solamente permitir el amamantamiento una o dos veces al día (De los Santos et al,1976; Pérez y González-Padilla,1976; Rodríguez y Rodríguez,1977; Fallas,1987). Sin embargo, Oide y colaboradores(1986) observaron que el amamantamiento restringido no reduce los días abiertos ni la tasa de concepción en las vacas productoras de carne. En el mismo sentido, Fallas (1987) trabajando con ganado F₁ (Holstein x cebú) para doble propósito, encontró que los animales con amamantamiento restringido tenían una significativa inhibición de la actividad ovárica en comparación con las vacas separadas definitivamente de la cría. Por otra parte, el destete temporal antes de iniciar la temporada reproductiva puede inducir estro en el postparto temprano (Holness et al.,1978; Dunn et al.,1985).

Después de destetar temporalmente a los becerros durante un mínimo de 96 horas, las vacas ovulan dentro de los siguientes 4 días y exhiben estro dentro de los siguientes diez (Williams,1990). Shively y colaboradores (1987,1989), encontraron que el regresar el

becerro a su madre antes de 96 horas atenúa marcadamente las respuestas endócrinas y ováricas del destete temporal, con lo que el regreso del becerro causa disminución en los pulsos de LH y falla en la ovulación. Debido a esto, Odde y cols., 1986 observaron que el destete temporal por 48 horas solamente, no reduce el número de días abiertos ni la tasa de concepción en vacas de carne de manera significativa. La sola presencia del becerro no puede causar la supresión de los ciclos estrales, pero la interacción de la vaca con el becerro, independientemente de la lactación y estímulo de succión sí puede suprimir los ciclos estrales por lo menos durante 50 días después del parto (Viker et al., 1989).

Williams (1991), observó que el destetar a vacas y amamantarlas con un becerro ajeno no afecta los centros neuroendócrinos que controlan la liberación de LH, a menos que el becerro sea reconocido como propio. Como resultado de este destete, el 85% de las vacas muestran un cuerpo lúteo a los 12 días posteriores al tratamiento, lo que indica que la vaca debe tener a un becerro que reconozca como propio para inhibir su actividad ovárica. Durante el primer ciclo estral de vacas productoras de carne destetadas precozmente se presenta un ciclo estral corto en el que se observa una falla en la elevación en las concentraciones séricas de progesterona después del estro, menor concentración de FSH y un estro más corto y menos evidente. Los niveles séricos de LH no difieren antes, durante y después del pico preovulatorio en comparación con lo que ocurre en etapas preovulatorias de ciclos posteriores. Antes del primer ciclo postparto el animal no ha estado expuesto a concentraciones elevadas de progesterona provenientes de un ciclo anterior, lo que sugiere que

se necesita una presensibilización con progesterona para que se forme un cuerpo lúteo funcionalmente normal (Ramírez-Godínez et al.,1982). Los pequeños incrementos de progesterona plasmática asociados a la formación de estructuras lúteas transitorias después de la primera ovulación potencian un aumento en la frecuencia de los pulsos de LH ya que los pequeños y breves incrementos de progesterona pueden organizar el eje hipotálamo-hipófisis-ovarios durante la transición del anestro a los ciclos estrales normales (Williams,1990).

Con respecto al plano nutricional, Richards y colaboradores (1988) encontraron que la presencia o ausencia de los ovarios no influyen las concentraciones de LH en vacas con pobre condición corporal, indicando que este tipo de vacas tienen una inhibición hipotálamo-hipofisiaria independiente de la retroalimentación negativa por esteroides. También se ha encontrado que las vacas productoras de carne que paren con una condición corporal (BCS) mayor de 5, pero son mantenidas después con un nivel nutricional bajo, tienen una fertilidad comparable a la de vacas con régimen nutricional alto (Richards et al.,1988). Esto indica que la condición corporal al momento del parto puede influir el reinicio de la actividad ovárica postparto independientemente de los niveles de nutrición durante el postparto. Hay algunas indicaciones de que el efecto del destete temporal sobre el comportamiento reproductivo puede estar influido por la condición corporal de la vaca (Fogwell et al.,1986). El destete temporal por 48 horas parece no mejorar el comportamiento reproductivo cuando las vacas paren con condición corporal mayor de 5 (Warren y Spitzer, 1986,1988). Debido posiblemente a que en ese tipo de vacas el amamantamiento provoca poca inhibición

sobre la actividad ovárica. Igualmente, Makarechian y Arthur (1990) estudiaron los efectos de la condición corporal y el destete temporal de vacas de carne y vacas de leche sobre su comportamiento reproductivo y encontraron que las vacas con una condición corporal de 3 al parto tuvieron un intervalo entre partos más corto y mayor tasa de gestación que las que tenían una condición corporal menor de 3. El destete temporal por 48 horas antes de empezar la estación reproductiva no influyeron significativamente el intervalo entre partos ni la tasa de gestación. El comportamiento reproductivo de ambos grupos de vacas no tuvieron diferencias significativas. No obstante, se ha sugerido una posible interacción entre el nivel energético dietario y los péptidos opioides endógenos sobre el control de la liberación de LH en vacas de carne postparto (Holloway et al., 1987).

Se considera que la condición corporal de las vacas al parto y durante el puerperio dependiente de el manejo nutricional antes y después del parto, así como la producción láctea, ejercen una influencia significativa sobre el intervalo parto-primer estro así como la tasa de gestación al primer servicio (Makarechian y Arthur, 1990).

Durante la lactación temprana, la deficiencia en el consumo de energía necesaria para la producción de leche resulta en un balance negativo de esta energía (relación entre el consumo de energía y la utilización de la misma). Esta condición puede persistir por semanas y generalmente alcanza su máximo durante las primeras dos semanas de lactación. La nutrición inadecuada en las vacas de carne exacerba el

anestro inducido por amamantamiento (Archbald et al.,1990). En las vacas lecheras, el balance de energía se relaciona directamente con el intervalo parto-primera ovulación. Los mecanismos exactos por los cuales el balance negativo de energía afecta adversamente la ovulación en la vaca postparto no se han aclarado completamente. Sin embargo, se ha postulado que pueden operar a través de un número de vías relacionadas entre sí que involucran a los opioides endógenos y los niveles sanguíneos de insulina (Butler y Smith,1989).

2.4 Efecto del uso de Naloxona, destete temporal y condición corporal sobre el comportamiento reproductivo de los bovinos.

Hay una cantidad considerable de información publicada sobre el uso de antagonistas de opioides, como la Naloxona, para estudiar el funcionamiento de los opioides endógenos en una variedad de situaciones fisiológicas y en diferentes especies domésticas; con ellos se han logrado avances en este campo que sientan las bases para el estudio futuro de dichos antagonistas.

En 1986, Whisnant y colaboradores probaron 3 dosis diferentes de Naloxona (200, 400 y 800 mg, en dosis única) administrada a los 14, 28 y 42 días postparto en vacas productoras de carne, y encontraron que a partir de los 28 días las 3 dosis probadas indujeron pulsos de LH. En cambio, a los 14 días solamente las dosis de 400 y 800 mg, pero no la de 200 mg fueron capaces de inducir la secreción de LH. Con esto se sugirió que durante el postparto de la vaca productora de carne se producen opioides que inhiben la secreción de LH, y que esta

inhibición disminuye conforme avanzan los días postparto en las vacas de carne.

En otro experimento, Short y cols. (1987) utilizaron Quadazocine (210 mg/inyección), un antagonista de opioides más potente que la Naloxona, para tratar de aumentar la secreción de LH durante la fase lútea del ciclo de vaquillas Hereford x Holstein, y encontraron que no pudieron ser revertidos los bajos niveles de LH durante esta fase del ciclo concluyendo que posiblemente se requería una dosis mayor del antagonista.

Al tratar de revertir los efectos negativos del stress por transporte sobre la liberación de LH inducida por estradiol en vacas productoras de leche postparto, Nanda y colaboradores (1989) utilizaron Naloxona (250 mg dosis única). Ellos encontraron que la Naloxona no evitó la inhibición de la liberación de LH sino que pareció agravar aún más la liberación de opioides endógenos, ya que la Naloxona afecta la liberación de ACTH que es co-secreta con B-endorfina, sugiriendo que al aumentar los niveles de cortisol, aumentan también los de este opioide endógeno. Esto podría explicar la tendencia a una mayor supresión de los picos de LH al administrar la Naloxona.

El tratamiento con Naloxona (0.5 mg/Kg) antes del amamantamiento resulta en un aumento en la liberación basal y promedio de LH, lo que sugiere que, por lo menos parcialmente, el amamantamiento suprime la liberación de LH a través de mecanismos opioides (Meister et al., 1987).

Rund y colaboradores (1989), trabajaron con vacas primíparas y multíparas Angus y Hereford y encontraron que la administración de Naloxona (1 mg/Kg de peso corporal IV), a los 14 y 28 días postparto, así como el destete de los becerros resultan en un aumento de la frecuencia y amplitud de pulsos de LH, mismos que comienzan 15 minutos después de la administración de la Naloxona y alcanzan un pico aproximadamente a los 30 minutos postinyección. Este pico ocurre al administrar Naloxona ya sea a los 14 o a los 28 días. Sin embargo, el solo retiro del estímulo de succión no bastó para eliminar completamente la inhibición de LH, por lo tanto se sugiere que el efecto de los altos niveles de hormonas esteroides durante la última etapa de gestación puede tener un efecto durante el período lactacional temprano, independiente del estímulo de succión o del ovario, que contribuye de manera importante a la modulación de la secreción de LH por opioides.

Myers y colaboradores (1989) encontraron en vacas productoras de carne amamantadas que el destete temporal por 52 horas y/o el tratamiento con Naloxona aumentaron la concentración de LH hacia las 48 horas, por lo que el tratamiento con Naloxona antes del amamantamiento en vacas de carne estimuló algunos de los efectos del destete temporal sobre la liberación de LH, por lo que sugieren que el amamantamiento suprime la liberación de LH, al menos parcialmente, a través de mecanismos opioides endógenos.

En contraste, Wood y colaboradores (1987), utilizando 200 mg de Naloxona en vacas productoras de carne postparto, observaron que los niveles de FSH no se alteraron. En cambio, el destete temporal

por 48 horas resultó en un aumento en concentraciones de FSH, por lo que sugieren que el estímulo de amamantamiento inhibe la secreción de FSH, pero su modulación no parece ser a través de péptidos opioides endógenos.

2.4 Opioides endógenos.

Los péptidos opioides endógenos son un grupo de compuestos descubiertos por Hughes y colaboradores en 1975 (citado por Brooks et al., 1986_b), que existen en el cerebro de una gran variedad de especies animales. Se ha demostrado que tienen diferentes acciones, una de las cuales es la modulación del GnRH hipotalámico. La evidencia convincente más temprana de que los opiáceos pudieran influenciar la secreción de gonadotropinas fué producida por Barraclough y Sawyer en 1955 (citado por Brooks et al., 1986_b) quienes mostraron que si se administraba morfina a ratas la tarde antes del proestro se inhibía la ovulación. Recientemente se ha demostrado que la morfina bloquea la ovulación inhibiendo totalmente el pico preovulatorio de LH y disminuyendo el pico de FSH en ratas. Esta inhibición se da a nivel hipotalámico suprimiendo el pico de GnRH en el proestro (Sheaves et al., 1985). La morfina también afecta la secreción tónica de LH reduciendo el número de pulsos de LH (Brooks et al., 1986_b).

2.4.1 Clasificación.

A partir de 1975, se han aislado y caracterizado una gran variedad de péptidos opioides diferentes, que son compuestos con actividad parecida a la morfina cuyos receptores son unidores

fisiológicos de opioides. Se pueden dividir en varios grupos, cada uno con numerosos péptidos:

a) Endorfinas: Péptidos derivados de la hormona hipofisiaria β -lipotropina (β -LPH). Esta es un péptido de 31 aminoácidos que forma la porción contigua al carboxilo terminal de la proopiomelanocorticotropina (PMOC). Las endorfinas tienen una distribución restringida encontrándose en cantidades relativamente grandes en la adenohipófisis y neurohipófisis y en niveles menores en el hipotálamo y tálamo. Las neuronas que contienen β -endorfinas se localizan en el núcleo arqueado del hipotálamo mediobasal y se proyectan a la eminencia media, área preóptica y amígdala, regiones que influyen la secreción de gonadotropinas; b) Enkefalinas: Grupo de 2 pentapéptidos principales, Metionina-enkefalina (H. Tyr. Gly. Gly. Phe. Met. OH) y Leucina-enkefalina (H. Tyr. Gly. Gly. Phe. Leu. OH), cuyo precursor es la proenkefalina. Estos péptidos opioides se encuentran en neuronas cortas que están ampliamente distribuidas y son abundantes en el arriatum, área preóptica del hipotálamo, sistema límbico, médula espinal, neurohipófisis y tracto gastrointestinal pudiendo tener función de neurotransmisor ; c) Dinorfinas: Un grupo de péptidos que tienen a la Leucina-enkefalina, como componente en el carboxilo terminal del péptido. La Dinorfina A tiene 17 aminoácidos en total y la Dinorfina B 32. El precursor de las dinorfinas es diferente al de los otros opioides y tiene una distribución similar a la de las enkefalinas, con grandes concentraciones en la neurohipófisis e hipotálamo (Brooks, et al., 1986_b).

2.4.2 Sitio de acción.

El sitio de acción de los opioides está probablemente dentro del hipotálamo o a través de neuronas que tienen conexiones con él. Pueden ejercer sus efectos por medio de interacción con otros neurotransmisores como dopamina, serotonina o adrenalina/noradrenalina (Sheaves et al., 1985; Schillo et al., 1985). Sin embargo, la intervención de dopamina es equívoca, ya que no parece que la inhibición por opioides de la liberación de gonadotropinas sea mediada a través de dopamina. No obstante, la serotonina es considerada como un neurotransmisor inhibitorio de la secreción de gonadotropinas. Así mismo, hay neuronas noradrenérgicas que están involucradas en el control de la liberación de gonadotropinas teniendo un efecto estimulatorio (Brooks et al., 1986_b).

2.3.3 Mecanismo de acción.

Los opioides están involucrados en los mecanismos de supresión de la liberación de LH durante el período prepupal, así como en la regulación fotoperiódica de la estacionalidad reproductiva de algunas especies (Brooks, et al., 1986_a). Se conoce que parte del efecto de los opioides podría ser a través de modular la sensibilidad del sistema nervioso a la retroalimentación negativa de hormonas esteroides. Está bien establecido que tanto el estradiol como la progesterona pueden ejercer efectos de retroalimentación negativos sobre la secreción de LH en muchas especies (Whisnant y Goodman, 1988). El estradiol podría ejercer su efecto sobre la liberación de LH en varias formas, una de ellas es a través de cambiar el número y/o afinidad de los receptores para GnRH en la hipófisis. Se ha

postulado que la LH existe en la hipófisis en varios sitios, uno de liberación inmediata, otro de almacenamiento y otro precursor (Hinshelwood et al., 1986). El GnRH causa la síntesis, almacenamiento, movimiento y finalmente su liberación. Si el estradiol en bajas concentraciones incrementa la síntesis y almacenamiento de LH, pero bloquea su movimiento hacia el sitio de liberación podría resultar directamente en una reducida liberación de LH en respuesta al GnRH (Hinshelwood et al., 1986). Sin embargo, hay evidencia de que los opioides endógenos median los efectos de retroalimentación negativa del estradiol y la progesterona en algunos casos.

Así, se ha sugerido que el efecto inhibitorio de los opioides endógenos sobre la liberación de LH depende de la presencia de esteroides (Phyllis et al., 1988). La habilidad de la Naloxona para incrementar las concentraciones de LH séricas también requiere de la presencia de esteroides gonadales en ratas (Bhanot y Wilkinson, 1983) y en cerdos (Barb et al., 1986). En ovejas, la regulación de la liberación pulsátil de LH por opioides endógenos varía de acuerdo a la fase del ciclo estral y los niveles de esteroides presentes en el animal (Karsch et al., 1980). Los opioides endógenos están involucrados en la retroalimentación negativa del estradiol y la progesterona durante la estación reproductiva en la oveja (Whisnant y Goodman, 1988). Se ha postulado que los péptidos opioides endógenos están involucrados en la retroalimentación negativa de los estrógenos sobre la amplitud de pulsos de LH y de la progesterona sobre la frecuencia de los pulsos (Whisnant y Goodman, 1987). Además, hay relaciones directas entre las concentraciones ováricas hormonales de esteroides y el grado de actividad opioide, por lo que los opioides

parecen mediar la retroalimentación por esteroides de la secreción de gonadotropinas en varias especies. Así, los esteroides gonadales pueden ejercer sus efectos negativos sobre la liberación de gonadotropinas al menos en parte a través de mecanismos que involucran neuronas opioidérgicas que causan supresión de la liberación de gonadotropinas, y solo son funcionales en presencia de esteroides gonadales (Brooks et al., 1986_c).

2.5 Antagonistas de Opioides.

Paralelamente a los hallazgos de los trabajos realizados acerca de los opioides, se han estudiado a los compuestos que son antagonistas de éstos. Goodman y Gilman (1978) reseñaron la historia de los antagonistas de opioides de la siguiente forma: en 1915, Pohl observó que la N-alilnorcodeína abolía la depresión respiratoria que produce la morfina y la heroína. Pasaron más de 25 años antes de que Unna por un lado y Hart y McCawley por otro, describieran la acción más potente de la nalorfina como antagonista de la morfina, pero las propiedades clínicas de esta acción antagonista no se investigaron bien hasta 1951, año en que Eckenhoff y sus colaboradores comunicaron el empleo de la nalorfina como antídoto en el envenenamiento por morfina en el hombre. En 1953, Wickler y colaboradores informaron que la nalorfina desencadena síndromes agudos de abstinencia en los adictos que habían recibido morfina, metadona o heroína por corto tiempo. Poco después, Lasagna y Beecher en 1956 observaron que si bien la nalorfina antagonizaba los efectos de la morfina, era un analgésico (agonista) potente en pacientes con dolor posoperatorio.

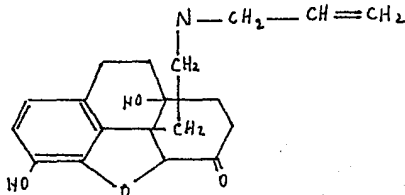
La búsqueda de compuestos útiles como antagonistas de opioides condujo al descubrimiento de nuevos fármacos como la Naloxona (N-alil noroximorфона) y la Naltrexona (N-ciclopropilmetil noroximorфона). La Naloxona y la Naltrexona son consideradas como antagonistas puros, aunque recientemente se ha reconocido que a grandes dosis pueden mostrar propiedades agonistas y cierta pérdida de especificidad por los receptores opioides (Brooks et al., 1986_b).

2.6 Naloxona.

Goodman y Gilman (1978) mencionan que la Naloxona fué descrita por primera vez por Blumberg et al., en 1965, y que sus efectos se observan casi inmediatamente después de la administración intravenosa, también se absorbe después de la administración oral pero se metaboliza muy rápidamente durante el primer paso por el hígado por medio de conjugación con el ácido glucurónico, por lo cual solo tiene la mitad de la potencia que cuando se administra parenteralmente.

2.6.1 Estructura Química.

La estructura química de la naloxona es como sigue:



(Katzung, 1986)

2.6.2 Mecanismo de Acción.

La Naloxona tiene una gran afinidad por los sitios de fijación del tipo de receptor μ . Su afinidad por los receptores K es aproximadamente del vigésimo que para los receptores δ (Katzung, 1986). La actividad pituitaria-adrenocortical en animales experimentales tratados con altas dosis de naloxona aumenta (Cover y Buckingham, 1989). El mecanismo de acción de la Naloxona es por competencia sobre los sitios de unión con los opioides (Trout y Malven 1987).

El bloqueo de los receptores opioides con Naloxona en animales domésticos durante la fase lútea y durante la lactación, o durante la fase folicular en roedores, el hombre y la oveja, estimulan la liberación de LH (Whisnant y Goodman, 1988). La mayoría de las investigaciones publicadas sostienen la hipótesis de que los receptores opioides afectan la secreción de LH a través de inhibición de la liberación de GnRH del hipotálamo, aunque no puede hacerse a un lado el hecho de que haya un sitio de acción en la hipófisis, ya que se ha demostrado que los receptores opioides suprimen la liberación de LH de células de la hipófisis anterior bovina in vitro (Armstrong y Johnson, 1989).

III. MATERIALES Y METODOS.

3.1 ANIMALES Y LOCALIZACION.

Para el experimento se utilizaron 40 vacas primíparas y multíparas que parieron entre el 1 de septiembre de 1990 y el 28 de febrero de 1991, de un hato de bovinos cruzados de holstein x cebú para doble propósito en trópico húmedo. Los animales se mantuvieron en condiciones de pastoreo con Estrella Africana (Cynodon plectostachyus) más suplementación mineral y en un sistema de rejeguería tradicional de la zona (ordeño a mano con apoyo del becerro). La explotación está situada en el municipio de Pijijiapan, Chiapas; en la costa del estado; la latitud es 16°49' N, 93° longitud oeste, el clima es cálido húmedo con lluvias en verano (Aw según la clasificación climatológica de Köppen); con una temperatura media anual de 22°C y una precipitación media anual de 2400 mm (Gran Atlas Aguilar, 1970; Tamayo, 1976; García y Falcón, 1980).

3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL.

Los animales fueron asignados aleatoriamente a 4 grupos experimentales: Grupo 1, tratamiento con 100 mg de Naloxona (Clorhidrato de Naloxona, Rhône-Poulenc Pharma de México), administrados en dosis única por vía intravenosa a los 28 y 42 días postparto (n= 11); Grupo 2 (testigo), administración intravenosa de solución isotónica de cloruro de sodio al 0.9% (2 ml) a los 28 y 42 días postparto (n= 10); Grupo 3, tratamiento con 100 mg de Naloxona en dosis única más Destete temporal por 48 horas a los 28 y 42 días

postparto (n=10); Grupo 4, solución isotónica de cloruro de sodio al 0.9% (2 ml. IV) más destete temporal por 48 horas a los 28 y 42 días postparto (n= 9).

3.3 METODOS Y TECNICAS.

El reinicio de la actividad ovárica se midió a través de determinaciones de progesterona plasmática por Radioinmunoensayo en fase sólida (Srikandakumar,1986) utilizando Fluoruro de sodio (10mg/ml) como anticoagulante (Pulido et al.,1991). Se tomaron las muestras de sangre de la vena yugular 3 veces por semana a partir del momento del tratamiento y hasta los 63 días postparto. Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm por 10 minutos inmediatamente después de la colección y se tomaron submuestras de plasma de cada tubo, manteniéndolas en congelación hasta su análisis.

A una vaca de cada grupo se le tomaron muestras de sangre de la arteria coccígea (Garverick et al.,1988), cada 15 minutos, desde 1 hora antes y hasta 2 horas después del tratamiento para medir incrementos de LH por Radioinmunoensayo en fase líquida, con una sensibilidad de 0.312 ng/ml. Esto se realizó a los 28 y 42 días postparto. Se utilizó heparina como anticoagulante, la sangre se centrifugó a 3500 rpm por 10 minutos y se obtuvieron submuestras de plasma de cada tubo, manteniéndolas en congelación hasta su análisis.

Se realizaron exámenes por palpación rectal de los ovarios a todas las vacas una vez por semana para identificación de estructuras ováricas a partir del tratamiento y hasta los 63 días postparto.

Se observaron calores dos veces al día y se llevaron registros de la condición corporal de los animales al momento del parto y cada 15 días. Esto se hizo con una escala de 1 a 5, siendo el valor inferior para las vacas más flacas y el valor superior para las más gordas, a través de la observación visual del estado de los animales. Además, una vez por semana se pesó y registró la producción de leche de cada vaca del estudio hasta terminar el muestreo.

3.4 PARAMETROS EVALUADOS.

Los parámetros evaluados fueron los cambios hormonales de progesterona y LH en respuesta a los tratamientos y el reinicio de la actividad ovárica (palpación rectal y días parto-primer estro) en los animales del experimento.

- Diferencias entre grupos en relación a la condición corporal.
- Diferencias entre grupos en relación a la producción de leche.
- Porcentaje de animales con y sin formación de cuerpo lúteo en respuesta al tratamiento por grupo experimental.
- Diferencia entre grupos en relación a días parto-primer estro.
- Relación entre la condición corporal y los días parto-primer estro.
- Relación entre la producción de leche y los días parto-primer estro.
- Concentraciones promedio de progesterona en cada grupo.
- Relación entre los días parto-primer estro con la condición corporal y el número de parto.

3.5 ANALISIS ESTADISTICO.

El análisis estadístico de los datos se hizo a partir de un diseño factorial 2X2 (Reyes,1985), por medio de un análisis de varianza. Además se hicieron análisis de regresión y correlación para encontrar la relación entre los parámetros evaluados, de acuerdo a los métodos descritos por Steel y Torrie,1985.

IV. RESULTADOS.

Dos vacas se excluyeron del experimento, una del grupo testigo, por presentar concentraciones de progesterona superiores a 1 ng/ml al momento del primer tratamiento, y otra del grupo IV (solución salina + destete temporal) por haber presentado signos de estro el día del primer tratamiento. Estas dos vacas ya estaban ciclando al iniciarse el experimento por lo que no eran útiles para evaluar si los tratamientos inducen la actividad ovárica. Las concentraciones de LH fueron indetectables en todas las muestras de las cuatro vacas de las que se tomaron muestras, tanto a los 28 como a los 42 días postparto.

4.1 Condición corporal de los animales en los grupos:

La condición corporal de los animales varió entre 2 y 3.5 (de un rango de 1-5) mostrándose las medias para cada grupo en el cuadro 1, en el que se puede ver que no existieron diferencias significativas en la condición corporal entre los grupos ($P > .05$).

CUADRO 1. Condición corporal promedio de los grupos experimentales.*

TRATAMIENTO	n	\bar{X}	d.e.
Naloxona	11	2.6	0.4
Testigo	10	2.6	0.5
Naloxona + DT	10	2.5	0.2
Destete x 48 hr	9	2.6	0.5
Total	40	2.6	0.4

* Sin diferencias significativas entre grupos ($P > .05$)

4.2 Mediciones de leche promedio durante la etapa de muestreo en los grupos experimentales:

Las medias para la producción de leche diaria tuvieron un rango de 1.4 a 10.2 Kg, con un promedio general de 5.03 ± 0.96 Kg en los 4 grupos (Cuadro 2). Los animales del grupo III tuvieron un mayor promedio de producción aunque sin diferencias significativas ($P > .05$) entre grupos.

CUADRO 2. Medias para las mediciones de producción de leche en los 4 grupos.*

TRATAMIENTO	n	\bar{X} (Kg)	d.e.
Naloxona	11	4.97	1.87
Testigo	10	4.54	1.79
Naloxona + DT	10	6.39	2.72
Destete x 48 hr	9	4.22	2.20
Total	40	5.03	2.23

* Sin diferencias significativas entre grupos ($P > .05$)

4.3 Porcentaje de animales que ovularon después de los tratamientos:

Todos los animales tratados con Naloxona exclusivamente tuvieron niveles de progesterona menores a 1 ng/ml en todas las muestras obtenidas hasta el día 63 postparto, lo que indica que no respondieron al tratamiento con ovulación y subsecuente formación de un cuerpo lúteo, mientras que 2 animales (20%) del grupo testigo tuvieron niveles de progesterona mayores a 1 ng/ml en algún muestreo, indicando que reiniciaron su actividad ovárica espontáneamente. Por otro lado, el 20% de los animales sometidos a destete temporal + Naloxona y el 33% de los animales tratados únicamente con destete temporal mostraron elevaciones en los niveles de progesterona correspondiendo a un 12.5% del total de animales en el experimento (Cuadro 3).

CUADRO 3. Porcentaje de animales con o sin formación de cuerpo lúteo durante los 35 días de muestreo para los cuatro grupos experimentales.

TRATAMIENTO	n	CON CUERPO LÚTEO n	LÚTEO (%)	SIN CUERPO LÚTEO n	LÚTEO (%)
Naloxona	11	0	0	11	100.0
Testigo	10	2	20.0	8	80.0
Naloxona+DT	10	2	20.0	8	80.0
Destete x 48 h	9	3	33.3	6	66.6
Total	40	7	17.5	33	82.5

4.4 Días del parto al primer estro en los grupos experimentales:

El promedio general de días entre el parto y el primer estro tuvo un rango de 124 días. El grupo testigo tuvo el mayor número de días parto-primero estro (131.2, sin embargo, no se encontró diferencia significativa ($P > .05$) entre las medias de días abiertos entre los grupos (Cuadro 4).

CUADRO 4. Días del parto al primer-estro para los grupos experimentales.*

TRATAMIENTO	n	\bar{X} (días)	d.e.	Máx	Min
Naloxona	11	123.81	52.45	79	255
Testigo	10	131.2	52.33	49	184
Naloxona + DT	10	120.1	72.95	38	279
Destete x 48 hr	9	123.66	78.31	39	258
Total	40	124.69	61.97		

* Sin diferencias significativas entre grupos ($P > .05$)

4.5 Niveles promedio de progesterona plasmática en los cuatro grupos:

Los niveles promedio de progesterona por grupo tuvieron valores muy bajos (Cuadro 5) debido a que en la mayor parte de las vacas no hubo formación de un cuerpo lúteo durante los 35 días de muestreo. Así mismo, no se encontraron diferencias significativas ($P > .05$) entre los grupos. En las gráficas 1-4 se observan ejemplos de perfiles de progesterona en animales representativos de cada grupo. En la gráfica 1 se observan los valores de progesterona, en dos animales del grupo tratado con Naloxona, aunque con ligeras elevaciones, las concentraciones se mantuvieron muy bajas. Todos los animales de este grupo tuvieron este tipo de perfil. En el grupo testigo la mayoría de los animales (80%) se comportaron de la misma manera como lo ejemplifica la vaca No. 77 en la gráfica 2. Sin embargo hubieron dos animales ejemplificados por la vaca No.94 de la gráfica 2 en los que sí se produjo ovulación durante el periodo estudiado. En la gráfica 3 se muestran ejemplos de vacas tratadas con Naloxona y destete temporal; se nota que la vaca No. 10 respondió aproximadamente 3 días después del primer tratamiento con una elevación en sus niveles de progesterona a más de 1 ng/ml que duró 10 días aproximadamente, presentando estro a los 38 días y al parecer quedó gestante ya que los niveles de progesterona se mantuvieron altos hasta finalizar el muestreo. En cambio el 80% de las vacas de este grupo no mostraron elevaciones de progesterona como lo ejemplifica la vaca No. 98 de la gráfica 3. En el grupo tratado solamente con destete temporal una vaca presentó estro a los 39 días sin haber tenido previamente niveles altos de progesterona. Esta vaca

ovuló y sus niveles posteriores de progesterona se mantuvieron altos indicando muy posiblemente gestación (Vaca No.121 de la gráfica 4). Otras vacas de este grupo ovularon después del destete temporal, pero la mayoría (66%) presentaron niveles de progesterona similares a los de la vaca 01 (Gráfica 4).

CUADRO 5. Valores promedio de progesterona para cada grupo durante el período de muestreo.*

TRATAMIENTO	n	\bar{X}	d.e.
Naloxona	11	0.0500	0.0521
Testigo	10	0.2828	0.3872
Naloxona + DT	10	0.3223	0.6180
Destete x 48 h	9	0.3075	0.5097
Total	40	0.2342	0.4361

* Sin diferencias significativas ($P > .05$)

4.6 Relación entre los parámetros medidos y los días parto-primer estro.

Al relacionar los diferentes parámetros evaluados en todos los animales del trabajo, se observó que las variables condición corporal, número de parto y la interacción de éstas dos, explican en cierta medida y de manera significativa, los días que transcurren entre el parto y el primer estro (Ver cuadro 6).

Se obtuvieron correlaciones significativamente negativas entre los días del parto al primer estro con la condición corporal y número de partos. Esto indica que conforme aumenta la condición corporal y el número de partos, el intervalo parto-primer estro disminuye. No así para la producción de leche cuyos coeficientes de determinación y correlación no fueron significativos ($P > .05$).

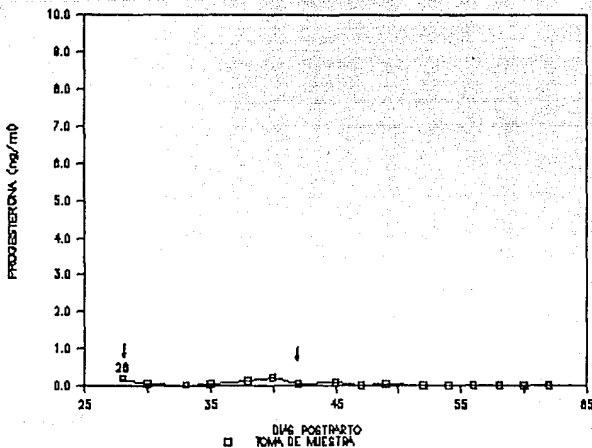
CUADRO 6. Coeficientes de determinación (R^2) y correlación (R) para los parámetros evaluados en relación a los días parto-primer estro.

PARAMETRO	R^2	R
Producción de leche	0.002	0.044
Número de parto	0.1531 ^a	-0.3913 ^a
Condición corporal	0.11029 ^b	-0.3207 ^b
Parto+condición corp.	0.2496 ^a	-0.4996 ^a

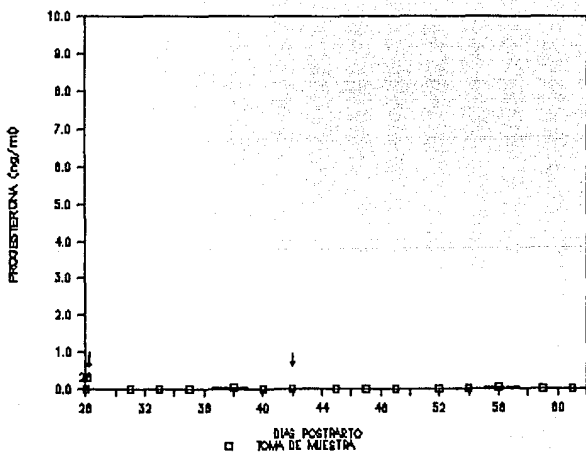
a altamente significativa ($P < .01$)

b significativa ($P < .05$)

VACA No. 1 3 7

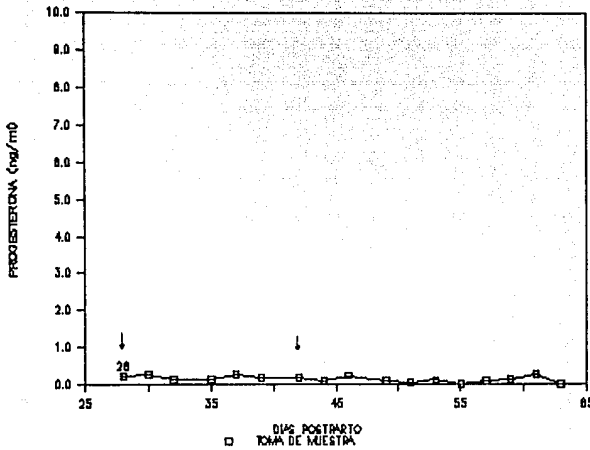


VACA No. 1 6

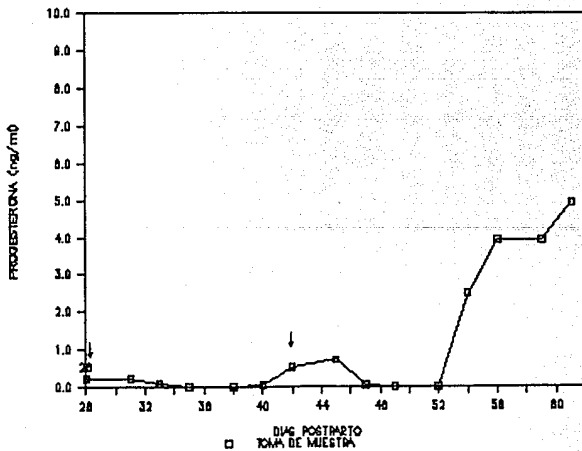


GRAFICA 1, Niveles plasmáticos de progesterona en dos animales del grupo † (Naloxona) entre los 28 y 62 días postparto,

VACA No. 7 7

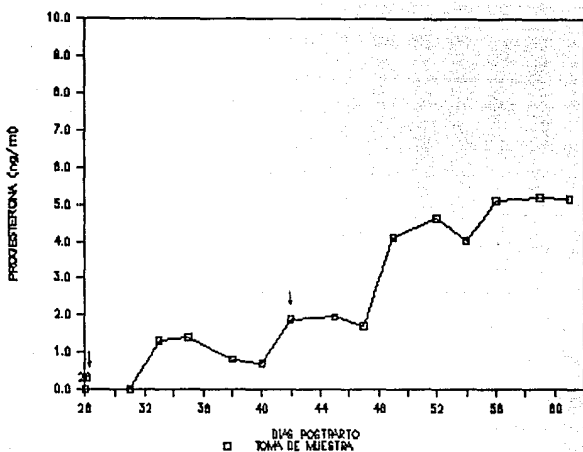


VACA No. 9 4

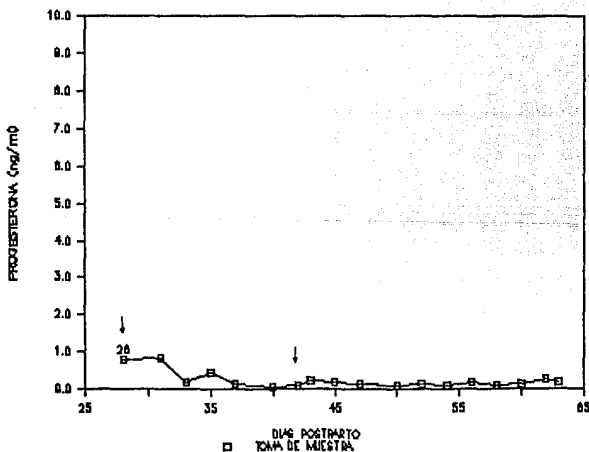


GRAFICA 2. Niveles plasmáticos de progesterona en dos animales del grupo II (Testigo) entre los 28 y 62 días postparto.

VACA No. 1 0

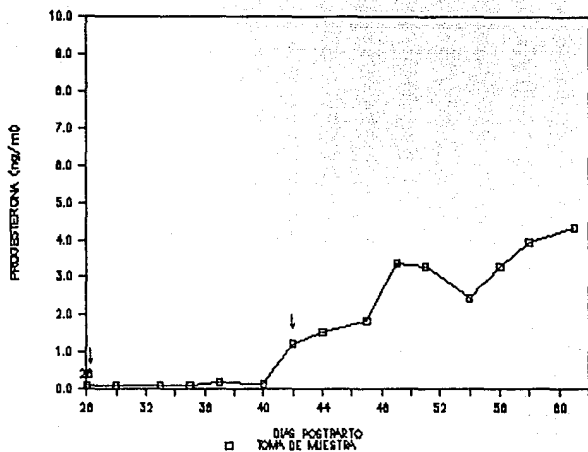


VACA No. 9 8

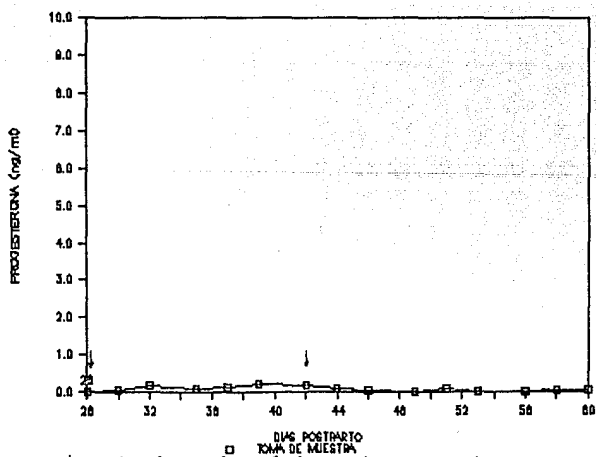


GRAFICA 3, Niveles plasmáticos de progesterona en dos animales del grupo III (N+DTx48 h) entre los 28 y 62 días postparto,

VACA No. 1 2 1



VACA No. 0 1



GRAFICA 4, Niveles plasmáticos de progesterona en dos animales del grupo IV (DTx48 h) entre los 28 y 62 días postparto,

V. DISCUSION.

El tratamiento con Naloxona no tuvo efecto sobre las concentraciones medias de progesterona ($P > .05$) en las vacas del experimento ya que las mismas permanecieron bajas a causa de que no respondieron al tratamiento. Asi mismo, las concentraciones de LH fueron indetectables en los cuatro animales en los que se midió la hormona. Esto podría deberse a que la dosis de 100 mg no fué suficiente para producir el efecto deseado. Mahmoud et al. (1989) encontraron que el grado de inhibición por opioides endógenos puede ser mayor en vacas que no ciclan, y que es posible que 1 mg/Kg de Naloxona intravenosa no sea suficiente para estos animales. Por otro lado, Whisnant y colaboradores (1986) demostraron que 200 mg de Naloxona son inefectivos para elevar las concentraciones de LH a los 14 días postparto, y sugieren que esto es debido a que el tipo de receptor opioide involucrado en la modulación de la secreción de LH puede cambiar durante el período postparto, y como la Naloxona se une con varias clases de receptores opioides con diferentes afinidades, quizás se requieran dosis mayores de Naloxona para antagonizar los efectos opioides mediados por receptores Kappa comparados con los efectos a través de receptores Mu. Ellos mismos encontraron que después de los 28 días postparto la dosis de 200 mg es efectiva y los animales reinician su actividad ovárica.

Alternativamente, es posible que la pobre condición corporal de las vacas les produjera una inhibición de la actividad ovárica independiente de o adicional a la de los opioides ya que la parecer

las vacas con pobre condición corporal tienen una inhibición hipotálamo-hipofisiaria independiente a la retroalimentación negativa del estradiol (Richards y et al., 1988).

El destete temporal por 48 horas tampoco resultó en una supresión total del efecto inhibitorio de los opioides endógenos, ya que sólo el 33% de los animales tratados mostraron actividad ovárica. En 1987, Shively y Williams obtuvieron el mismo resultado destetando temporalmente a vacas productoras de carne por 48 y 72 horas (sólo el 33% cicló en respuesta al tratamiento), mientras que al hacerlo por 96 o 144 horas ciclaron el 85 y 100% respectivamente, por lo que asevera que al regresar al becerro antes de 96 horas a su madre se atenúan marcadamente las respuestas endócrinas y ováricas al destete temporal en vacas en anestro postparto. Sin embargo, bajo las condiciones de manejo que generalmente se siguen en el trópico mexicano, sería muy difícil destetar temporalmente a los becerros por 4 a 6 días, ya que las vacas no tendrían el estímulo del becerro para la bajada de la leche y esto dificulta el ordeño. Así mismo aumenta el manejo del becerro y con ello los riesgos que comunmente se corren al implementar esta práctica. Makarechian y Arthur (1990), observaron que en vacas productoras de carne y lecheras el destete por 48 horas antes de empezar la época de empadre, no resulta en un acortamiento del intervalo parto-primer estro, y que la efectividad del destete temporal está influenciada por factores tales como la duración y el momento del destete, la condición corporal al parto y al empadre, la edad y el número de partos de las vacas.

Probablemente un régimen de amamantamiento una sola vez al día podría ser una exitosa práctica de manejo del amamantamiento para aumentar la eficiencia reproductiva en vacas para doble propósito postparto, según lo encontrado por Bluntzer et al. (1989).

También es posible que la mala condición corporal de las vacas haya impedido observar el efecto benéfico del destete temporal, tal como ha sido informado (Makarechian y Arthur.1990).

En el presente trabajo no se observó un efecto sinérgico de la administración de Naloxona más destete temporal por 48 horas. Rund y colaboradores (1989) indican que el destete no es suficiente para abolir completamente la secreción de LH a través de opioides endógenos, ya que al aplicar Naloxona (1mg/Kg) aumentaron las concentraciones de LH. Así mismo, Meister y colaboradores (1987) encontraron una respuesta positiva a la administración de Naloxona (0.5mg/Kg) + destete temporal por 54 horas. Posiblemente los mismos factores que en el presente trabajo impidieron observar efectos de los opioides o del destete temporal impidieron también observar una interacción sinérgica entre ambos factores.

Aunque no existieron diferencias significativas de los parámetros intervalo parto-primer estro, condición corporal, número de parto y producción de leche entre los cuatro grupos, al relacionarlos entre sí para todos los animales incluidos en el experimento se encontró que la variabilidad del intervalo parto-primer estro está explicada hasta en un 25% por la condición corporal y el número de parto, además de que hay una relación inversamente proporcional entre el intervalo parto-primer estro con la condición

corporal y/o el número de parto de los animales. Esto no concuerda con lo encontrado por Makarechian y Arthur en 1990, donde las vacas con condición corporal menor a 3 tienen intervalos parto-primer estro similares a las que tienen una condición corporal mayor, aunque las primeras tienen un intervalo entre partos significativamente mayor, quizás por una mayor dificultad para gestar.

Probablemente la pobre condición corporal de los animales del experimento influyó en la baja respuesta a los tratamientos. Esto aunado a una posible dosis subóptima de Naloxona y a que el destete temporal sólo duró 48 horas pudo evitar que se presentase un efecto positivo en el reinicio de la actividad ovárica de dichos animales. Podría pensarse que el tratamiento con Naloxona y el stress ocasionado a los animales por la toma de muestras tenga un efecto agravante en el anestro postparto, por el hecho de que en el grupo testigo al menos dos animales mostraron actividad ovárica. Sin embargo, el destete temporal también es una situación en la que se provoca stress a los animales y se hubiese observado un efecto similar en el grupo tratado con Naloxona + destete temporal. Aunque los resultados de Nanda y colaboradores (1989) indican que en situaciones de stress crónico (transporte, aislamiento, enfermedades) la Naloxona no es capaz de revertir la supresión de LH debido a que afecta la liberación de cortisol, cuyo liberador (ACTH) proviene del mismo precursor que la β -endorfina, ellos sugieren que al aumentar el cortisol aumenta también este opioide endógeno.

Por lo tanto, se puede concluir en el presente trabajo que no fué posible encontrar una respuesta positiva al tratamiento con

Naloxona y/o el uso del destete temporal por 48 horas como herramientas en el acortamiento del intervalo parto-primer estro y en consecuencia del intervalo entre partos en los animales tratados.

Sin embargo, se pudo observar que conforme las vacas incrementan su número de partos, el intervalo parto-primer estro se reduce, así mismo, la condición corporal al parto influencia también este intervalo, por lo que debe concentrarse una mayor atención en aquellas vacas con un reducido número de partos o en las primíparas para buscar alternativas de solución a este problema, no olvidando que del estado nutricional en que llegue al parto la vaca y de su condición corporal subsecuente dependerá en cierta medida la longitud del intervalo parto-primer estro.

La utilización del destete temporal por 48 horas por sí misma tampoco es una alternativa de solución en el problema del anestro postparto. Aunque se ha visto que el destete temporal por un lapso de tiempo mayor sí funciona, bajo las condiciones de manejo y el tipo de animales que existen en el trópico su implementación conllevaría a más desventajas que ventajas, por lo que se propone la búsqueda de otras alternativas como podría ser:

- 1) Mayor dosis del antagonista de opioides (Naloxona)
- 2) Manejo de la alimentación pre-parto para que las vacas (sobre todo las primíparas) lleguen al parto en buena condición corporal.
- 3) Uso conjunto del destete temporal por 48 horas con progestágenos o GnRH exógeno.
- 4) Régimen de amamantamiento una vez al día.

BIBLIOGRAFIA.

- Archbald, L.F., Norman, S.N., Bliss, E.L., Tran, T., Larsen, R.E., Lyle, S., Thomas, P.G.A. and Rathwell, A.C.: Incidence and treatment of abnormal postpartum ovarian function in dairy cows. University of Florida. (1990).
- Armstrong, D.T.: Enviromental stress and ovarian function. Biol. Reprod. 34:29-39 (1986).
- Armstrong, J.D. and Johnson, B.H.: Agonists of endogenous opioid peptides supress LH, and stimulate cortisol and hormone during the follicular phase in heifers. J. Endocrinol. 121: 11-17 (1989).
- Barb, C.R., Kraeling, R.L., Rampaceck, G.B. and Whisnant, C.S.: Influence of stage of the estrous Cycle on endogenous opioid modulation of luteinizing hormone, prolactin and cortisol and secretion in the gilt. Biol. Reprod. 35: 1162-1167 (1986).
- Bhanot, R. and Wilkinson, M.: Opiatergic control of LH secretion is eliminated by gonadectomy. Endocrinology 112: 399-401 (1983).
- Blank, M. S., Paneral A.E. and Friesen, H.E.: Opioid peptides modulate luteinizing hormone secretion during sexual maturation. Science. 203: 1129-1131 (1979).
- Bluntzer, J.S., Forrest, D.W., Harms, P.G., Beverly, J.R., and Long, C.R.: Effect of suckling manipulation on postpartum reproduction in primiparous Brahman-cross cows. Theriogenology 32 (6): 893-899 (1989).
- Brooks, A.N., Haynes, N.B., Yang, K. and Lamming, G.E.: Ovarian steorid involvement in endogenous opioid modulation of LH secretion in seasonally anestrous mature ewes. J. Reprod. Fert. 76:709-715 (1986_a).
- Brooks, A.N., Lamming, G.E. and Haynes N.B.: Endogenous opioid peptides and the control of gonadotrophin secretion. Res. Vet.Sci. 41:285-299 (1986_b).

- Brooks, A.N., Lamming, G.E., Less, P.E. and Haynes, N.B.: Opioid modulation of the LH secretion in the ewe. J. Reprod. Fert. 76:693-708 (1986_C).
- Butler, W.R. and Smith, R.D.: Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. J. Dairy Sci. 72: 767-783 (1989).
- Canfield, R.W., Radlinski, M.G. and Butler, W.R.: Modulation of LH pulse secretion by opioids during negative energy balance in ewes. J. Anim. Sci. 66 Supp.1, Art. 399:386 (1988).
- Cover, P.O. and Buckingham, J.C.: Effects of selective opioid-receptor blockade on the hypothalamo-pituitary-adrenocortical responses to surgical trauma in the rat. J. Endocrinol. 121: 213-220 (1989).
- De Los Santos, V.S., Taboada, J.J., Martínez, E. y Ruiz, R.: Efecto de la lactación controlada, de implantes de progestágeno SC21009, de valerato de estradiol y progesterona en la inducción de la sincronización del estro en ganado bovino productor de carne. Resúmenes de la XIII Reunión Anual del Inst. Nal. Inv. Pec. SAG. México: 68 (1976).
- Dunn, R.T., Jr, Smith, M.F., Garverick, H.A. and Foley, C.W.: Effects of 72-h calf removal and/or gonadotrophin releasing hormone on luteinizing hormone release and ovarian activity in postpartum beef cows. Theriogenology 23: 767-776 (1985).
- Fallas, R.A.: Estudio sobre la involución uterina y el reinicio de la actividad ovárica después del parto en vacas F₁ (Holstein x cebú) en el trópico húmedo de México. Tesis Doctorado. FMVZ. UNAM. México (1987).
- Fogwell, R.L., Barlett, B.B. and Reid W.A.: Synchronized estrus and fertility of beef cows after weaning calves for short intervals. J. Anim. Sci. 63: 369-376 (1986).
- Fuentes, V.: Effect of Naloxone, Malbuphine, Progesterone and Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin on sexual behaviour of ewes. The Vet. Record. 124:274-276 (1989).
- García, E. y Falcón, Z. Nuevo Atlas Porrúa de la República Mexicana. Ed. Porrúa. 5a. Ed. México, D.F. 1980.

- Garverick, H.A., Parfet, J.R., Lee, C.N., Copelin, J.P., Youngquist, R.S. and Smith, M.F.: Relationship of pre and post-ovulatory gonadotrophin concentrations to subnormal luteal function in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.* 66:104-111 (1988).
- Goodman, L. y Gilman, A.: Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 5a. ed. INTERAMERICANA. México: 207-239 (1978).
- Gran Atlas Aguilar. Ed. AGUILAR. México, 1970.
- Hinshelwood, M.M., Dierschke, D.J. and Hauser, E.R.: The negative feedback effect of estradiol-17 β on secretion of luteinizing hormone in beef cows. *Theriogenology* 26(3): 323-332 (1986).
- Holloway, J.W. and Totusek, R.: Early weaning vs. normal weaning vs. creep feeding of replacement heifers calves. *Okla. Agric. Exp. Sta. Anim. Res.* :18 (1972).
- Holloway, K.E., Kiser, T.E., Thompson, F.N., Boggs, D.L., Leshin, L.S. and Rund L.A.: Effects of metabolizable energy level on LH response to Naloxone in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 65.Supp. 1 Art. 481:396 (1987).
- Holness, D.H., Hopley, J.D.H. and Hale, D.H.: The effect of plane of nutrition, live weight, temporary weaning and breed on the occurrence of oestrus in beef cows during the post-partum period. *Anim. Prod.* 26: 47-54 (1978).
- Humphrey, W.D., Kaltenbach, C.C., Dunn, T.G., Koritnik, D.R. and Niswender, D.R.: Characterization of hormonal patterns in the beef cow during postpartum anestrus. *J. Anim. Sci.* 56 No. 2: 445-453 (1983).
- Karsch, F.J., Legan, S.J., Ryan, K.D. and Foster, D.L.: Importance of estradiol and progesterone in regulating LH secretion and estrous behavior during the sheep estrous cycle. *Biol. Reprod.* 23: 404-413 (1980).
- Katzung, B.G.: Farmacología Básica y Clínica. 2a. ed. EL MANUAL MODERNO. Mexico:350 (1986).
- Leshin, L.S., Rund, L.A., Crim, J.W. and Kiser, T.E.: Morphological changes of luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LHRH) neurons during the postpartum period of beef cows. *J. Anim. Sci.* 66 Supp.1 Art.465:414 (1988).

- Leung, K., Padmanabhan, V., Spicer, L.J., Tucker, H.A., Short, R.E. and Convey, M.: Relationship between pituitary GnRH-binding sites and pituitary release of gonadotrophins in post-partum beef cows. *J. Reprod. Fert.* 76:53-63 (1986).
- Mahmoud, A.I., Thompson, F.N., Peck, D.D., Mizinga, L.S., Rund, L.A., Stuedemann, J.A. and Kiser T.E.: Difference in luteinizing hormone response to an opioid antagonist in beef heifers and cows. *Biol. Rep.* 41: 431-437 (1989).
- Makarechian, M and Arthur, P.F.: Effects of body condition and temporary calf removal on reproductive performance of range cows. *Theriogenology* 34(3): 435-443 (1990).
- Malven, P.V., Bossut, D.F.B. and Diekman, M.A.: Effects of naloxone and electroacupuncture treatment on plasma concentrations of LH in sheep. *J. Endocrinol.* 101:75-80 (1984).
- Malven, P.V., Parfet, J.R., Gregg, D.W., Allrich, R.D. and Moss, G.E.: Relationships among concentration of four neuropeptides and luteinizing hormone-releasing hormone in neural tissue of beef cows following early weaning. *J. Anim. Sci.* 62: 723-733 (1986).
- Mattioli, M., Conte, F., Galeati, G. and Seren. E.: Effect of naloxone on plasma concentrations of prolactin and LH in lactating sows. *J. Reprod. Fert.* 76:167-173 (1986).
- Meister, T.R., Gregg, D.W. and Moss, G.E.: Effect of calf removal, controlled suckling and naloxone on release of luteinizing hormone (LH) in postpartum anestrous beef cows. *J. Anim. Sci.* 65 Supp.1 Art.543:422 (1987).
- Mikeska, J.C. and Williams, G.L.: Timing of preovulatory endocrine events, estrus and ovulation in Brahman x Hereford females synchronized with Norgestomet and estradiol valerate. *J. Anim. Sci.* 66: 939-946 (1988).
- Myers, T.R., Myers, D.A., Gregg, D.W. and Moss, G.E.: Endogenous opioid suppression of release of luteinizing hormone during suckling postpartum anestrous beef cows. *Dom. Anim. Endocrinol.* 6(3): 183-190 (1989).
- Nanda, A.S., Ward, W.R. and Dobson, H.: Effects of naloxone on the oestradiol-induced LH surge and cortisol release in transported cows. *J. Reprod. Fert.* 87: 803-807 (1989).

- Odde, K.G., Kirakofe, G.H. and Schalles, R.R.: Effect of forty-eighth-hour calf removal, once- or twice-daily suckling and norgestomet on beef cow and calf performance. *Theriogenology* 26(3): 371-381 (1986).
- Padilla, R.F., Castillo, R.H., Peña, H.J. y Belchez. A.R.: Reproducción y producción del ganado comercial en la zona del centro del estado de Veracruz, Ver. México, p-48 (1982).
- Pérez, S.J. y González-Padilla, E.: Efectos de la lactación controlada sobre la eficiencia reproductiva de ganado Cebú. Resúmenes de la XIII Reunión Anual del Inst. Nal. Inv. Pec. SAG.: 70 (1976).
- Phyllis, M.W., Dueker, E. and Wuttke, W.: Age-related alterations in pulsatile luteinizing hormone release effects of long-term ovariectomy, repeated pregnancies and naloxone. *Biol. Reprod.* 39: 1060-1066 (1988).
- Piña, C.B.A., Roman, H. y Hernández, J.J.: Efecto de la lactancia restringida más destete temporal sobre el comportamiento productivo y reproductivo de vacas de doble propósito en el trópico húmedo. *Téc. Pec. Méx.* 50:64-67 (1986).
- Pulido, A., Zarco, L., Galina, C.S., Murcia, C., Flores, G. and Posadas E.: Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology.* 35(5): 965-975 (1991).
- Ramírez-Godínez, J.A., Kirakofe, G.H., Schalles, R.R. and Niswender, G.D.: Endocrine patterns in the postpartum beef cow associated with weaning: A comparison of the short and subsequent normal cycles. *J. Anim. Sci.* 55 No.1:153-167 (1982).
- Revah, I., Lomas, R., Zarco, L. y Galina, C.: Evaluación del tratamiento rutinario con prostaglandina F₂ Alfa en el día 30 40 posparto sobre la actividad ovárica y la eficiencia reproductiva de vacas Holstein. *Vet. Méx.* 20: 135-143 (1989).
- Reyes, P.C.: Diseño de experimentos aplicados. 2a. Ed. TRILLAS. Mexico, (1985).
- Richards, M.W., Wettmann, R.P. and Morgan, G.L.: Effects of body condition and ovariectomy on secretion of luteinizing hormone (LH) in beef cows. *J. Anim. Sci.* 66 Supp.1 Art.463:413 (1988).

- Ringstrom, S.J. and Schwartz, N.B.: Cortisol supresses the LH, but not the FSH, response to gonadotrophin-releasing hormone after orchidectomy. *Endocrinol.* 116 No.1: 472-474 (1985).
- Rivera, J., Anta, E., Galina, C.S., Porras, A. y Zarco, L.: Análisis de la información publicada en México sobre la eficiencia reproductiva de los bovinos. III. Factores que la afectan. *Vet. Méx.* 20: 19-25 (1989).
- Rodríguez, R.O. y Rodríguez, A.: Lactancia controlada en agostadero del estado de Sonora. CIPES-INIP-S.A.R.H. CI-RA-006. (1977).
- Rodríguez, R.OL., Rodríguez, A., González-Padilla, E. y Ruíz, R.: Comportamiento reproductivo de vacas productoras de carne sometidas a diversos tipos de amamantamiento. *Téc. Pec. Méx.* 39: 63-69 (1980).
- Rund, L.A., Leshin. L.S., Thompson, F.N. and Kiser, T.E.: Effect of suckling and long term ovariectomy on hipotalamo-hipophyseal responsiveness to an opioid agonist and antagonist. *J. Anim. Sci.* 66 Supp.1 Art.455: 409 (1988).
- Rund, L.A., Leshin. L.S., Thompson, F.N., Rampaceck, G.B. and Kiser, T.E.: Influence of the ovary and suckling on luteinizing hormone response to naloxone in postpartum Beef Cows. *J. Anim. Sci.* 67: 1527-1531 (1989).
- Salcedo, M.E., González-Padilla, E., Rodríguez, O. y Ramos, F.: Efecto del destete precoz en el comportamiento reproductivo de vacas empadradas en agostadero. *Téc. Pec. Méx.* 32: 36-40 (1977).
- Schillo, K.K., Kuehl, D. and Jackson, G.L.: Do endogenous opioid peptides mediate the effects of photoperiod on release of luteinizing hormone and prolactin in ovariectomized ewes. *Biol. Reprod.* 32: 779-787 (1985).
- Sheaves, R., Laynes, R. and McKinnon, P.C.B.: Evidence that central ephinephrine neurons participate in the control and regulation af neuroendocrine events during the estrous cycle. *Endocrinol.* 116 No. 2:542-546 (1985).
- Sheffel, C.E., Pratt, B.R., Ferrel, W.L. and Inskeep, E.K.: Induced corpora lutea in the postpartum beef cow.II. Effects of treatment with progestagen and gonadotropins. *J. Anim. Sci.* 54:830-836 (1982).

- Shively, T.E. and Williams, G.L.: Premature calf Return attenuates neuroendocrine and ovarian responses to temporary weaning in anestrus cows. *J. Anim. Sci.* 65 Supp.1 Art.545:423 (1987).
- Shively, T.E. and Williams, G.L.: Patterns of tonic luteinizing hormone release and ovulation frequency in suckled anestrus beef cows following Varying intervals of temporary weaning. *Dom. Anim. Endocrinol.* 6(4):379-387 (1989).
- Short, R.E., Brooks, A.N., Peters, A.R. and Lamming G.L.: Opioid modulation of LH secretion during the oestrus cycle of heifers. *J. Reprod. Fert.* 80: 213-219 (1987).
- Srikanthakumar, A., Ingraham, R.H., Ellsworth, M., Archbald, L.F., Liao, A. and Godke, R.A.: Comparison of solid-phase, no-extraction radio immunoassay for progesterone with an extraction assay for monitoring luteal function in mare, bith and cow". *Theriogenology.* 26: 779-793 (1986).
- Steel, R.G.D. y Torrie, J.H.: *Bioestadística: Principios y procedimientos.* 2a. Ed. McGRAW-HILL. México.(1985).
- Stumpf, T.T., Wolfe, M.W., Roberson, M.S., Hamernik, D.L., Kittok, R.J. and Kinder, J.E.: Interaction of progesterone, 12 β -estradiol and opioid neuropeptides in regulation of luteinizing hormone secretion in the cow. *J. Anim. Sci.* 66 Supp.1 Art.399:386 (1988).
- Tamayo, J.: *Geografía Moderna de México.* Ed. Trillas. México, D.F. (1976).
- Trout, .W.E. and Malven, P.V.: Quantification of naloxone binding to bovine brain during postpartum anestrus and the resumption of estrous cycles. *J. Aim. Sci.* .65 Supp.1 Art.480:396 (1987).
- Viker, S.D., McGuire, W.J., Wright, J.M., Beeman, K.B. and Kirakofe, G.H.: Cow-Calf association delays postpartum ovulation in mastectomized cows. *Theriogenology.* 32 No. 2: 467-474 (1989).
- Walters, D.L. Smith, M.F., Harms, P.G. and Wiltbank, J.M.: Effect of steroids and/or 48 hr calf removal on serum luteinizing hormone concentrations in anestrus beef cows. *Theriogenology.* 18:349-356 (1982).

- Warren, W.C. and Spitzer, J.C.: Reproductive performance of suckled beef cows calving in good body condition as affected by nutrition or temporary calf removal. J.Anim. Sci.. Vol.63 Supp.1 (483): 358 (1986).
- Warren, W.C., Spitzer, J.C. and Burns, G.L.: Beef cow reproduction as affected by postpartum nutrition and temporary calf removal. Theriogenology. 29(5): 997-1008 (1988).
- Webb, R., Lamming, G.E., Haynes, N.B., Hafs, H.D. and Manns, J.G.: Response of cyclic and postpartum suckled cows to injections of synthetic LHRH. J. Reprod. Fert. 50: 203 (1977).
- Whisnant, C.S. and Goodman, R.L.: Effects of an opioid antagonist on serum luteinizing hormone concentrations in the ewe. J. Anim. Sci. 65 Supp. 1 Art. 483:397 (1987).
- Whisnant, C. S., Kiser, T.E., Thompson, F.N. and Barb, C.R.: Opioid Inhibition of Luteinizing Hormone Secretion During the Postpartum Period in Suckled Beef Cows". J. ANIM. SCI.63: 145-1448 (1986).
- Whisnant, C.S. and Goodman, R.L.: Effects of an opioid antagonist on pulsatile luteinizing hormone secretion in the ewe vary with changes in steroid negative feedback". Biol. Reprod. 39: 1032-1038 (1988).
- Williams, G.L.: Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a Review". J. Anim. Sci. 68: 831-852 (1990).
- Williams, G.L.: Maternal behavior as a regulatory link in suckling-mediated anovulation in cows". Memorias III Curso Internacional de Reproducción bovina. UNAM-AIBIR México, D.F. : 53-66 (1991).
- Wiltbank, J.N.: Getting heifers pregnant. Memorias del Seminario Internacional de Ganadería Tropical. Producción de carne SAG-Banco de México. p-175 (1976).
- Wood, K. P., Kiser, T.E., Whisnant, C.S., Thompson, F.N. and Leshin, L.S.: The Effect of Naloxone and calf removal on FSH release in postpartum beef cows. J. Anim. Sci. 65 Supp. 1 Art. 484:398 (1987).

- Zarco, L.A.: Efectos del estres sobre la reproducción del bovino. Memorias III Curso Internacional de Reproducción bovina. UNAM-AIBIR. México, D.F.: 11-18 (1991).