

Universidad Autónoma Agraria Antonio
Narro

“Unidad Laguna”



División Regional de Ciencia Animal

EFEECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE UN AINES
POST-INSEMINACION SOBRE LOS NIVELES DE
PROGESTERONA SÉRICOS EN BOVINOS
HOLSTEIN EN PRODUCCIÓN.

Por:

Oscar Rolando Espinoza Sandoval.

Tesis:

Presentada como requisito parcial para
obtener el título de:

Médico Veterinario Zootecnista

Torreón, Coahuila, México

JUNIO 2013

Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro
"Unidad Laguna"



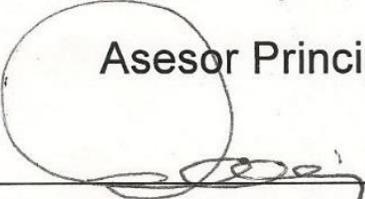
División Regional de Ciencia Animal

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE UN AINES
POST-INSEMINACION SOBRE LOS NIVELES DE
PROGESTERONA SÉRICOS EN BOVINOS
HOLSTEIN EN PRODUCCIÓN.

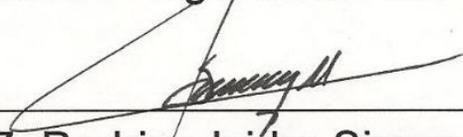
Por:

Oscar Rolando Espinoza Sandoval.

Asesor Principal.


MVZ. Carlos Ramírez Fernández.

Coordinación Regional de Ciencia Animal


MVZ. Rodrigo Isidro Simon Alonso.



Torreón, Coahuila, México

Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal
JUNIO 2013

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

“Unidad Laguna”

División Regional de Ciencia Animal

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE UN AINES POST-
INSEMINACION SOBRE LOS NIVELES DE PROGESTERONA
SÉRICOS EN BOVINOS HOLSTEIN EN PRODUCCIÓN.

Por:

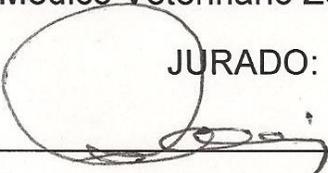
Oscar Rolando Espinoza Sandoval.

Tesis:

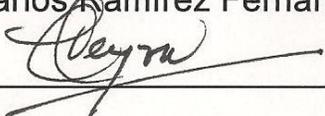
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

Médico Veterinario Zootecnista

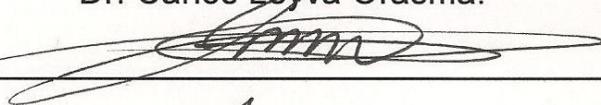
JURADO:

Presidente:  _____

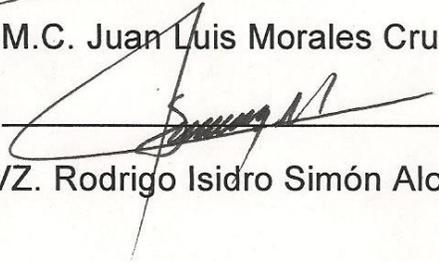
MVZ. Carlos Ramírez Fernández.

Vocal:  _____

Dr. Carlos Leyva Orasma.

Vocal:  _____

M.C. Juan Luis Morales Cruz.

Vocal Suplente:  _____

MVZ. Rodrigo Isidro Simón Alonso.

Torreón, Coahuila, México.

JUNIO 2013

Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro
“Unidad Laguna”



División Regional de Ciencia Animal

EFEECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE UN AINES POST-
INSEMINACION SOBRE LOS NIVELES DE
PROGESTERONA SÉRICOS EN BOVINOS HOLSTEIN EN
PRODUCCIÓN.

Tesis Por:

Oscar Rolando Espinoza Sandoval.

Elaborada bajo supervisión del comité particular
de asesoría

Asesor principal:

MVZ. Carlos Ramírez Fernández.

Torreón, Coahuila, México

JUNIO 2013

I. Dedicatorias

A mi Familia.

II. Agradecimientos

A mi familia, a mis profesores y amigos por su gran afecto, apoyo en diferentes estadios de la formación profesional.

Un especial agradecimiento a mi abuelita Manuelita Rubio de Sandoval por haberme apoyado a lo largo de la carrera y en especial en el desarrollo de esta tesis sin su apoyo hubiera sido imposible.

A mi Madre, por confiar siempre en mí, su cariño de madre y siempre estar en momentos difíciles.

A mi hermano Raúl, por preocuparse y creer en mí en todo momento.

Un agradecimiento especial al Medico Carlos Ramírez Fernández, por darme la oportunidad de llevar a cabo esta tesis con él, por sus consejos de un gran amigo.

III. Índice de Contenidos

I.	Dedicatorias.....	I
II.	Agradecimientos.....	II
III.	Índice General.....	III
IV.	Resumen.....	IV
V.	Índice de Tablas	V
VI.	Índice de Figuras.....	VI
VII.	Lista Abreviaturas.....	VII
1.	Introducción.....	1
2.	Revisión de Literatura.....	6
2.1.1.	Importancia Económica y Social de la Leche.....	6
2.1.2.	Relación Reproducción – Producción.....	10
2.1.2.1.	Ciclo Estral y su Regulación Neuroendocrina.....	10
2.1.2.2.	Ciclo Reproductivo - Lactancia y Medición de la Eficiencia Reproductiva.....	13
2.1.3.	Factores que Intervienen en la Fertilidad.....	15
2.1.3.1.	Factores Genéticos y Metabólicos.....	15
2.1.3.2.	Factores de Gametos y Embrionarios.....	20
2.1.3.3.	Factores Ambientales (Estrés Calórico).....	23
2.1.4.	Mecanismos del Reconocimiento de la Gestación...25	

2.1.5.	Farmacología del Flunixin de Meglumina.....	28
2.1.6.	Progesterona y su Importancia para la Gestación....	31
2.1.7.	Estrategias Para Aumentar la Fertilidad	33
2.1.8.	Hipótesis.....	34
2.1.9.	Objetivos.....	35
3.	Materiales y Métodos.....	36
3.1.1.	Lugar del Experimento.....	36
3.1.2.	Condiciones Ambientales.....	36
3.1.3.	Animales Experimentales.....	37
3.1.4.	Diseño Experimental.....	38
3.1.5.	Análisis Hormonales.....	39
3.1.6.	Variables a Determinar	40
3.1.7.	Análisis Estadístico.....	40
4.	Resultados.....	41
5.	Discusión.....	43
6.	Conclusiones.....	45
7.	Referencias.....	46
8.	Anexos.....	51

IV. Resumen

Varios estudios han indicado una reducción en la eficiencia reproductiva asociado a un incremento del mérito genético para la producción de leche en bovinos lecheros. Algunas de las razones potenciales por el declive de la eficiencia reproductiva de los bovinos lecheros modernos pueden ser, mala calidad de los ovocitos, salud metabólica, salud de ubre, cojeras, detección de estros, estrés calórico, producción de leche, índice de condición corporal, una reducción en la concentración de esteroides ováricos debido a un aumento metabólico del hígado. Más del 40% del total de las pérdidas embrionarias ocurren entre los días 8 y 17 posterior a la fertilización. Una de las formas de inhibir la síntesis de prostaglandinas es usar Glucocorticoides y (**AINES**), se seleccionó al Flunixin de Meglumina un (**AINES**) fuerte que ha demostrado retardar la luteolisis y sus efectos adversos son muy reducidos en comparación con los Glucocorticoides. Hemos planteado la hipótesis de que la aplicación de un (**AINES**) (Flunixin de Meglumina) el día 15 post-inseminación, mantendrá los niveles de progesterona (**P₄**) séricos por más tiempo al inhibir la síntesis de Prostaglandinas (**PGF_{2α}**) y por lo tanto aumentara la tasa de concepción. El grupo tratamiento (n=23) recibió una aplicación de Flunixin de Meglumina (**FM**) 2.2 mg/kg intramuscular el día 15 post-inseminación el grupo control (n=23) recibió una inyección de agua estéril, los niveles de Progesterona (**P₄**) fueron superiores para el grupo tratamiento (TX=12.33 ng/ml vs CON=6.27 ng/ml P=0.088). La tasa de concepción fue de (TX=52.1 vs CON=34.7, P=0.233), este aumento tiene un valor significativo en la industria lechera. Lo que nos permite concluir que el (**AINES**) aumenta los niveles de progesterona (**P₄**) séricos y pero no aumenta la tasa de concepción.

Palabras clave: Flunixin de Meglumina (**FM**), Progesterona (**P₄**), Interferón Tau (**ITF_τ**), Prostaglandina (**PGF_{2α}**), Tasa de Concepción (**TC**).

V. Índice de Tablas

Tabla 1. Reproducción y producción de leche en la primera lactancia de Holstein y cruza de Holstein..... pág.26

Tabla 2. Temperaturas máximas y mínimas en meses experimentales.....pag.41

Tabla 3. N° de lactancias, días en leche, producción promedio, n° de servicios, promedio entre estros de los grupos (TX=23) Y (CON=23).....pag.42

VI. Índice de Figuras

Figura 1. Representación del ciclo estral bovino.....	pág.21
Figura 2. Tasa de concepción de 1951 al 2001 en bovinos Holstein.....	pág.22
Figura 3. Tendencias en el coeficiente de Inbreeding para bovinos US Holstein y Jersey.....	pág.25
Figura 4. Efecto del estrés calórico sobre la calidad y desarrollo de los blastocitos.....	pág.31
Figura 5. Cascada de eventos que conllevan a la liberación de prostaglandinas por el epitelio luminal del endometrio.....	pag.34
Figura 6. Forma estructural del Flunixin de Meglumina.....	pag.35
Figura 7. Protocolo del experimento.....	pag.45
Figura 8. Tasa de concepción de grupo tratamiento (TX n=23) y control (CON n=23) en porcentajes (P= 0.234).....	pag.46
Figura 9. Niveles de Progesterona (P4) séricos en promedio de los Grupos Tratamiento (TX n=23) y Control (CON n=23) para gestante y vacías (P=0.088).....	pag.47

VII. Lista de Abreviaturas

AA.....	Acido Araquidonico
AINES.....	Antiinflamatorios no Esteroidales
BEN	Balance Energético Negativo
bST	Somatotropina Recombinante Bovina
Cl.....	Cuerpo Lúteo
COX-1.....	Ciclooxigenasa 1
COX-2.....	Ciclooxigenasa 2
E ₂	Estradiol
EC.....	Estrés Calórico
EGF.....	Factor de Crecimiento Embriotrofico
ER- α	Receptor de Estradiol 1
FM.....	Flunixin de Meglumina
FSH.....	Hormona Folículo Estimulante
GnRH.....	Hormona Liberadora de Gonatropinas
ICC.....	Índice de Condición Corporal
IFN τ	Interferón Tau
IGF-1.....	Factor de Crecimiento Insulinico 1

IGF-1-RNAM...Acido ribonucleico mensajero para factor de crecimiento insulinico

IM.....Intramuscular

IMS.....Ingesta de Materia Seca

ITH.....Índice de Temperatura y Humedad

LH.....Hormona Luteinizante

OT.....Oxítocica

OTR.....Receptor de Oxítocica

P4.....Progesterona

PGE.....Prostaglandina E

PGF₂α.....Prostaglandina F2 alfa

PL.....Producción Láctea

TC.....Tasa de Concepción

1. Introducción.

La malnutrición en todas sus formas, desnutrición, carencias de micronutrientes, sobrepeso, obesidad, tiene costos económicos y sociales altos. El estado mundial de la agricultura y la alimentación 2013 señala que todo el sistema alimentario puede contribuir a la erradicación de la malnutrición. Mejorar la nutrición pasa por un enfoque multisectorial que empieza por la alimentación y la agricultura (FAO, 2013).

La leche es la secreción normal de la glándula mamaria de todos los mamíferos terrestres; secreción que comienza una vez que las hembras han parido. De todos los alimentos naturales la leche suministra más nutrientes esenciales para la nutrición humana y en proporción más adecuada a las necesidades, que cualquier otro alimento (Dickmann 2012).

El inventario mundial de ganado bovino durante el año de 2011, es de 1337 millones de cabezas según cifras de (FAO, 2011), existiendo una mayor cantidad de bovinos en países como India (196 millones), Brasil (165 millones), China (104.5 millones), Estados Unidos (103.5 millones) y Argentina (54 millones). En México la población ganadera es de alrededor de 31 millones de cabezas, según fuentes oficiales en 2011. Este número de bovinos está distribuido según su fin zootécnico, alcanzando el ganado bovino destinado a la producción de leche y de doble propósito 3 970 803 cabezas, considerándose que el resto del ganado es destinado a la producción de

carne (26.8 millones de cabezas) (Blanco 2001; FAO 2006; Cicconardi, Chillemi et al. 2013).

El volumen de producción anual ha registrado variaciones significativas en el periodo 1985 - 2008 que reflejan fundamentalmente el efecto de las políticas de precio y manejo de las importaciones. La producción de leche en México en 1998 fue de 8 315,711 millones de litros. Los principales Estados productores de leche son: en primer lugar Jalisco seguido por Durango y Coahuila, quienes en conjunto produjeron el 34.9% de la producción nacional, luego por el Estado de Chihuahua, Guanajuato, Veracruz y el Estado de México en el séptimo lugar (Blanco 2001).

En la producción lechera, un buen desempeño reproductivo es esencial para un buen rendimiento económico y funcional de un hato lechero, ya que el objetivo principal es producir leche de buena calidad al costo más rentable posible, para ello uno si no el factor más importante para lograrlo es tener buena fertilidad en el hato ya que para que un bovino produzca leche como cualquier otro mamífero requiere estar gestante y tener un parto para que se produzca la mamogénesis, lactogénesis y galactopoyesis, sin ello no habrá producción láctea a excepción de la lactancia inducida que no es rentable ni comparable con la lactancia natural (Peters 2004) . La eficiencia reproductiva (Fertilidad) la podríamos definir como la habilidad de un bovino de quedar gestante en ciertos periodos determinados de tiempo a lo largo de su vida productiva, que esta se mide principalmente como el intervalo entre partos y la infertilidad o sub-infertilidad son grados en el aumento de tiempo en intervalo entre partos lo cual conllevaría al desecho de animales con alto valor

genético del hato por fracaso reproductivo, lo cual se traduce en pérdidas económicas (Peters 2004).

Varios estudios han indicado una reducción en la eficiencia reproductiva asociado a un incremento del mérito genético para la producción de leche en bovinos lecheros (Butler 1998; Lucy 2001). Algunas de las razones potenciales por el declive de la eficiencia reproductiva de los bovinos lecheros modernos pueden ser una reducción en la concentración de esteroides ováricos debido a un aumento metabólico del hígado (Vasconcelos, Silcox et al. 1999), mala calidad de los ovocitos, salud metabólica, salud de ubre, cojeras, detección de estros, estrés calórico, producción de leche, índice de condición corporal (**ICC**). (Chebel, Santos et al. 2004; Green, Hunter et al. 2005; Caraviello, Weigel et al. 2006).

Más del 40% del total de las pérdidas embrionarias ocurren entre los días 8 y 17 de gestación, las pérdidas de preñeces junto con la mortalidad embrionaria es un problema complicado en la industria lechera y de carne ya que los factores que intervienen son muchos (Thatcher, Staples et al. 1994).

La hormona Progesterona (**P₄**) es requerida para la gestación en bovinos. Bovinos gestantes tienen niveles séricos más elevados de progesterona (Mann, Lamming et al. 1999). La Progesterona (**P₄**) estimula y mantiene las funciones uterinas necesarias para la concepción, tanto el crecimiento, implantación y desarrollo del embrión. Durante la gestación temprana, el endometrio sintetiza y secreta una mezcla de factores de crecimiento, proteínas de transporte y nutrientes en el lumen uterino estos factores son necesarios para la supervivencia y crecimiento

embrionario. El avance del crecimiento del concepto es mediado por acción indirecta de la Progesterona (**P₄**). Niveles elevados de Progesterona (**P₄**) estimulan la expresión de genes que codifican a factores de crecimiento, y también incrementa las concentraciones de glucosa y varios aminoácidos en el útero (Matsuyama, Sakaguchi et al. 2012).

Durante la gestación temprana interacciones complejas entre el útero y embrión determinan si hay o no gestación, la proteína trofoblástica Interferón tau (**ITF τ**) es producida para prevenir la liberación de prostaglandinas del útero esto mediante el proceso de inhibir los receptores de oxitócica (**OTR**) lo cual ocurre los días 15 a 17 del ciclo estral, lo cual mantiene al cuerpo luteo para que secrete adecuadas cantidades de progesterona (**P₄**) para llevar la gestación. Una secreción retardada o disminuida durante la fase temprana del ciclo causa un crecimiento embrionario desacelerado lo cual podría imposibilitar al embrión a secretar adecuadas cantidades de ITF tau para inhibir la síntesis de (**PGF₂ α**), lo cual llevaría a la luteolisis subsecuente. Niveles bajos de progesterona (**P₄**) son asociados con una baja fertilidad en bovinos lecheros (von Krueger and Heuwieser 2010).

Los (**AINES**) bloquean la síntesis de Prostaglandinas (**PGF₂ α**), mediante la inhibición de las Ciclooxygenasas (**COX-1 y 2**) estas enzimas son necesaria para sus síntesis este efecto inhibitorio ha sido usado para retrasar la luteolisis. Esto podría dar más tiempo al embrión para secretar cantidades suficientes de (**ITF τ**), para el reconocimiento materno de la gestación, y por lo tanto aumentar su supervivencia. Evidencia actual que si el uso de un (**AINES**) post-inseminación mejorara la tasa de concepción es controversial.

Algunos estudios recientes proveen evidencia del efecto positivo de la administración de **(FM)** administrado los días 14 y 17 después de la inseminación, esto en ganado de carne donde se obtuvo una tasa de concepción de (TX-84 vs. CON-76%) (Merrill, Ansotegui et al. 2007). En vaquillas Holstein tras la aplicación de Flunixin de Meglumina el día 15 y 16 la tasa de concepción aumento un 26.5% en. Pero estudios de (Rabaglino, Risco et al. 2010) demostraron que la administración de un **(AINES)** el día 15 post-inseminación no aumenta la tasa de concepción (FM, 59.5%; CON, 59.4%).

Debido a esta controversia, si funciona o no la aplicación de una **(AINES)**, debido a que los estudios actuales solo han sido hechos en bovinos productores de carne y vaquillas lecheras en condiciones ambientales diferentes, esta investigación aclarara si la aplicación de un **(AINES)** ayuda a la supervivencia embrionaria en vacas lecheras en producción intensiva.

2. Revisión Literaria

2.1.1. Importancia Económica y Social de la Leche.

La malnutrición en todas sus formas desnutrición, carencias de micronutrientes, sobrepeso, obesidad, tiene costos económicos y sociales altos. El estado mundial de la agricultura y la alimentación 2013 señala que todo el sistema alimentario puede contribuir a la erradicación de la malnutrición. Mejorar la nutrición pasa por un enfoque multisectorial que empieza por la alimentación y la agricultura (FAO, 2013).

La leche es la secreción normal de la glándula mamaria de todos los mamíferos terrestres; secreción que comienza una vez que las hembras han parido. De todos los alimentos naturales la leche suministra mas nutrientes esenciales para la nutrición humana y en proporción más adecuada a las necesidades, que cualquier otro alimento (Blanco 2001).

En la actualidad existe una importante industria lechera en México que incluye desde explotaciones de ganado lechero en diversos grados de desarrollo tecnológico, hasta grandes industrias para pasteurizar y elaborar derivados lácteos. Toda esta infraestructura de producción, procesado y servicios se han desarrollado en gran parte por la canalización de recursos crediticios a la ganadería, así como la utilización de asesoría técnica y fundamentalmente a la participación de los productores de leche (Blanco 2001).

El inventario ganadero de bovinos en México es de 30 771,666 cabezas en 2001, según cifras de la SAGARPA, de los cuales 3 970,803 corresponden a ganado productor de leche. Dentro de los animales dedicados a la producción de leche contamos con aproximadamente 692,491 vientres de razas especializadas y 591,555 semiespecializadas en la producción de leche, quedando el resto destinado a los sistemas de doble propósito o de explotaciones no especializadas que utilizan animales de otras razas o cruza de animales de razas especializadas con animales de raza cebú (SAGARPA, 2008).

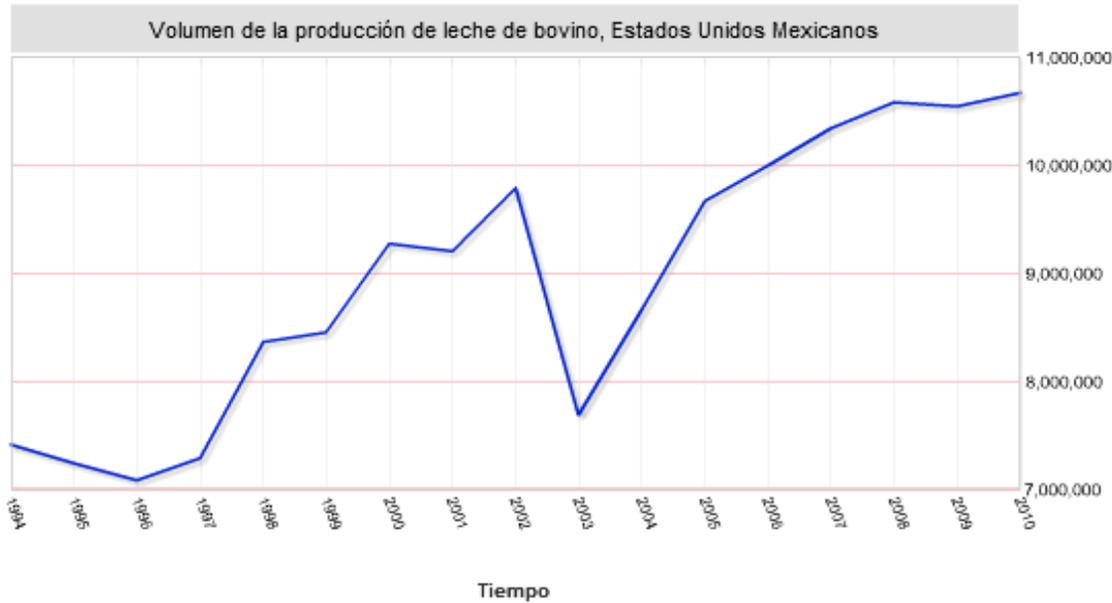


Figura 1. Volumen de Producción de leche de bovino, en México (SAGARPA-INEGI, 2011)

La importancia del sector lechero reside en, primer lugar en que genera alrededor de 1.5 millones de empleos y contribuye con el 1.3% del producto interno bruto del país. Considerando el valor de la producción nacional ganadera, la actividad lechera aporta el 22.8% ubicándose en el segundo lugar de importancia (Blanco 2001). El inventario mundial de ganado bovino durante el año de 2011, es de 1337 millones de cabezas según cifras de (FAO, 2011), existiendo una mayor cantidad de bovinos

en países como India (196 millones), Brasil (165 millones), China (104.5 millones), Estados Unidos (103.5 millones) y Argentina (54 millones). En México la población ganadera es de alrededor de 31 millones de cabezas, según fuentes oficiales en 2011. Este número de bovinos está distribuido según su fin zootécnico, alcanzando el ganado bovino destinado a la producción de leche y de doble propósito 3 970 803 cabezas, considerándose que el resto del ganado es destinado a la producción de carne (26.8 millones de cabezas) (Blanco 2001, SAGARPA 2008).



Figura 2. Volumen de producción de leche bovina por entidad federativa en México. (Datos de SAGARPA-INEGI 2011).

El volumen de producción anual ha registrado variaciones significativas en el periodo 1985 - 2008 que reflejan fundamentalmente el efecto de las políticas de precio y manejo de las importaciones. La producción de leche en México en 1998 fue de 8 315,711 millones de litros. Los principales Estados productores de leche

son: en primer lugar Jalisco seguido por Durango y Coahuila, quienes en conjunto produjeron el 34.9% de la producción nacional, luego por el Estado de Chihuahua, Guanajuato, Veracruz y el Estado de México en el séptimo lugar (Blanco 2001,SGARPA 2008).

Los sistemas de producción de leche en México, se pueden clasificar por su grado de intensificación en: intensivas, semintensivas y extensivas. Una explotación lechera intensiva ésta caracterizada por una alta especialización y tecnificación, sus rendimientos unitarios normalmente son altos, utilizan fuertes inversiones y una alta aplicación de insumos; las explotaciones semintensivas son intermedias en cuanto a nivel tecnológico y mecanización y presentan rendimientos unitarios inferiores a las intensivas y las explotaciones extensivas se caracterizan por el sistema de libre pastoreo en agostaderos nativos e inducidos bajo condiciones de temporal; Aquí la producción por individuo es baja y presenta una estacionalidad con una mayor producción en la época de lluvias. Estos sistemas se diferencian en el nivel de alimentación, nivel de mecanización, razas lecheras y nivel de producto final, que es la leche (Blanco 2001).

2.1.2 Relación Reproducción – Producción

2.1.2.1 El Ciclo Estral y Su Regulación Neuroendocrina.

El sistema nervioso y endocrino, son los controladores de la cascada de eventos que llevan a la formación de gametos maduros, fertilización, establecimiento y mantenimiento de la gestación, nacimiento y por último la crianza de las crías. Estos procesos empiezan inicialmente en los genes de los gametos si son **(XX)** o **(XY)**, después en el desarrollo gonadal en el crecimiento embrionario, después en la pubertad, que en las hembras está marcada por inicio de ciclicidad ovárica regular que conlleva a cambios de comportamiento, fisiológicos y anatómicos (Senger 2005; Hyttel 2010).

El ciclo estral consiste en una serie de eventos predecibles que inician con un estro, y termina con otro estro subsecuente. El ciclo estral provee a las hembras tras repetidas o únicas oportunidades de copula o exposición a gametos masculinos mediante procedimientos artificiales de llevar a cabo una gestación. Si la gestación no se llevara a cabo, un ciclo nuevo proveerá otra oportunidad de copular y concebir (Senger 2005).

El ciclo estral se puede dividir en 2 grandes fases la fase folicular y luteal. La fase folicular es periodo desde la regresión del cuerpo lúteo hasta la ovulación, durante esta fase, las estructuras ováricas primarias están creciendo a folículos dominantes que producen la hormona reproductiva primaria Estradiol (**E₂**) (Senger 2005).

La fase luteal es periodo desde la ovulación hasta la regresión del cuerpo lúteo, la fase luteal es mucho más larga que la folicular en la mayoría de los mamíferos ocupa

alrededor del 80% del ciclo estral. Durante esta fase, las estructuras ováricas dominantes son el cuerpo lúteo (**CL**) y la hormona principal es la Progesterona (**P₄**). Aunque que la fase luteal este dominada por la Progesterona (**P₄**) secretada por el cuerpo lúteo, los folículos continúan creciendo y regresando durante esta fase pero no producen grandes cantidades de Estrógenos (**E₂**) (Senger 2005). Los cuatro estadios de un ciclo estral son proestro, estro, metaestro y diestro. Cada uno de estos estadios es una subdivisión de las fases folicular (proestro y estro) y luteal (metaestro, diestro) (Senger 2005).

El proestro comienza cuando la Progesterona (**P₄**) declina como resultado de la luteolisis y termina al inicio del estro. El proestro dura de 2 a 5 días dependiendo de la especie y está caracterizado por el mayor cambio endocrino de un periodo de dominancia de Progesterona (**P₄**) a uno de Estrógenos (**E₂**). Las hormonas principales de esta transición son las Gonadotrofinas (**FSH**) y (**LH**) liberadas por la acción de la Hormona Liberadora de Gonadotrofinas (**GnRH**) (Senger 2005).

El Estro es la fase más reconocible del ciclo debido a que se caracteriza por signos visibles de comportamiento como receptibilidad sexual (inmovilidad de la hembra) y apareamiento. El Estradiol (**E₂**) es la hormona dominante durante esta fase del ciclo. No solo induce cambios de comportamiento, pero también causa cambios fisiológicos en el tracto reproductivo (Senger 2005).

El metaestro es el periodo entre la ovulación y la formación de un cuerpo lúteo funcional. Durante el metaestro temprano los niveles de Estrógenos (**E₂**) como de Progesterona (**P₄**) son relativamente bajos. El folículo ovulatorio lleva acabo procesos de remodelación celular y estructural, resultando en la formación de una

glándula endocrina intraovarica llamada cuerpo lúteo. Esta transformación celular se llama luteinización (Senger 2005).

El Diestro es el estadio más largo del ciclo Estral en este periodo de tiempo es cuando el cuerpo lúteo es totalmente funcional y la secreción de Progesterona (**P₄**) es elevada. Al final de esta fase cuando el cuerpo lúteo es destruido (luteolisis) por efecto de la Prostaglandina (**PGF_{2α}**). Altos niveles de Progesterona (**P₄**) durante esta fase estimulan al útero a crear un ambiente favorable para el desarrollo de un embrión y eventualmente a la implantación del mismo en el endometrio. El diestro usualmente dura de 10 a 14 días en hembras poliestricas. La duración del mismo está directamente ligada al largo de tiempo que el cuerpo lúteo permanece funcional. Hembras en diestro no muestran signos de receptibilidad sexual (Senger 2005).

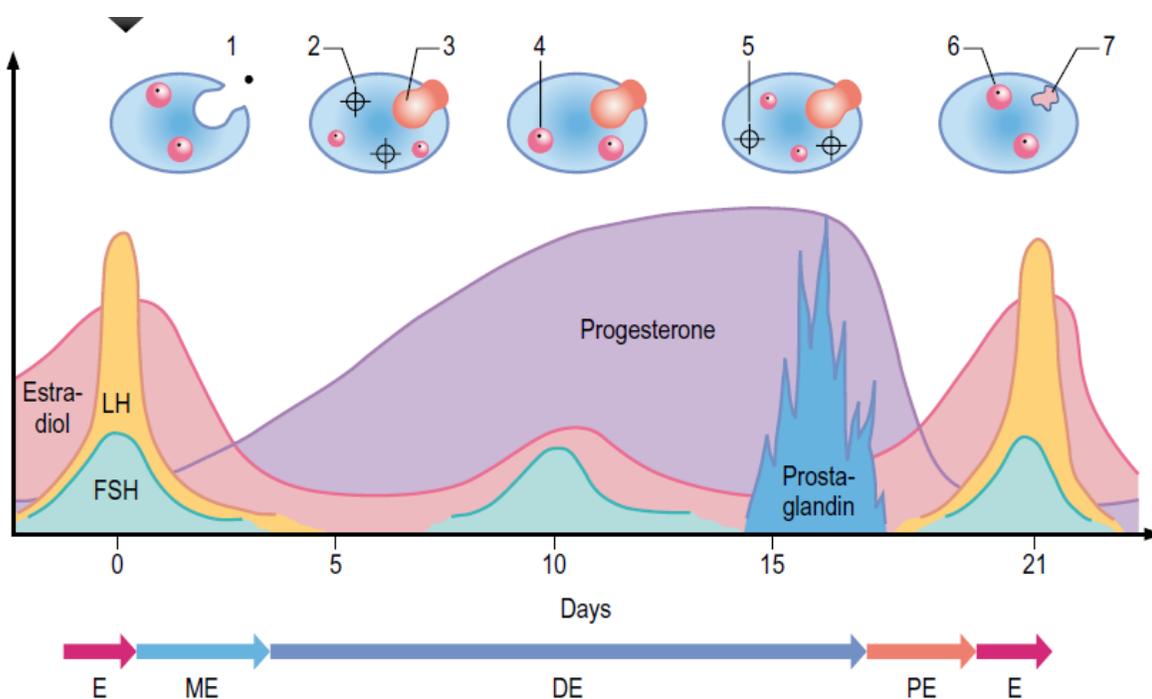


Figura 3. Representación del ciclo estral bovino (Hyttel 2010)

2.1.2.2 Ciclo Reproductivo – Lactancia y Medición de la Eficiencia Reproductiva

Para que un bovino produzca leche como cualquier otro mamífero requiere estar gestante y tener un parto para que se produzca la mamogénesis, lactogénesis y galactopoyesis, sin ello no habrá producción láctea a excepción de la lactancia inducida que no es rentable ni comparable con la lactancia natural (Peters 2004).

La eficiencia reproductiva (Fertilidad) la podríamos definir como la habilidad de un bovino de quedar gestante en ciertos periodos determinados de tiempo a lo largo de su vida, que esta se mide principalmente como el intervalo entre partos y la infertilidad o sub-infertilidad es el aumento de tiempo en intervalo entre partos lo cual conllevaría al desecho de animales con alto valor genético del hato por fracaso reproductivo, lo cual se traduce en pérdidas económicas (Peters 2004).

Debido a las características y forma que toma la curva de producción de leche, sobre todo en vacas de dos o más lactancias, se considera que lo ideal desde el punto de vista económico, es que las lactancias no duren más de diez y medio u once meses, ya que si se prolongan por más tiempo, las vacas pasarían buena parte de su vida productiva en una fase de la lactancia en donde hay producción más baja y eso daría como resultado que la producción de leche por cada día de vida productiva de la vaca fuese mucho menor; independientemente de que, al prolongarse el intervalo entre partos, no nacerían mensualmente la cantidad requerida de becerras de remplazo para cubrir eventualmente los desechos de vacas y tarde o temprano

habría necesidad de adquirir novillas próximas al parto para mantener y/o hacer crecer el hato. Cabe mencionar que, en la actualidad, el tener vacas de alta calidad genética y de gran persistencia en su lactancia y la aplicación de la (**bST**) (en donde aún se autorice su uso) permitiría lactancias un poco más prolongadas sin mayor disminución de la rentabilidad de la lechería.

Lo mencionado anteriormente nos conduce a buscar intervalos entre partos de 13 a 13.5 meses en promedio, lo cual implica a su vez que, una alta proporción de las vacas del hato logren concebir dentro de un rango de tiempo óptimo, entre 50 y 150 días post parto, es decir, que una alta proporción de las vacas logren la concepción en los primeros cinco ciclos elegibles luego del fin del período de espera voluntaria (**PEV**). Desde luego que en los ciclos elegibles subsecuentes se debe mantener el esfuerzo para generar la mayor cantidad de preñeces por ciclo que sea posible.

2.1.3. Factores que Intervienen en la Fertilidad.

2.1.3.1 Factores Genéticos y Metabólicos.

Un numero reciente de publicaciones han documentado un declive de la eficiencia reproductiva por ejemplo, (Butler, 1998) mostro datos que destacan una disminución en la tasa de concepción de 65% a un 40% de 1951 a 1996. Una baja en la eficiencia reproductiva es un problema mundial. Por ejemplo, (Silvia, 1998), analizo datos de hatos lecheros de Kentucky y reporto un incremento de 1.62 a 2.91 de 1972 a 1996 en los servicios por concepción (Lucy 2001).

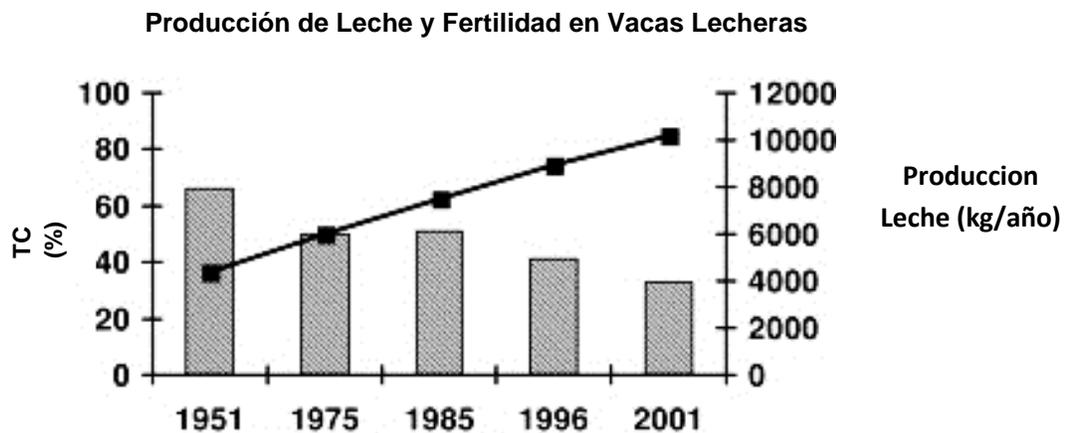


Figura 4. Tasa de Concepción de 1951 al 2001 en bovinos Holstein (Lucy 2001)

La producción láctea se ha incrementado en un 20% en los últimos 10 años (USDA, National Agricultural Statics Service; <http://www.usda.gov/nass>,). Esta mejora notable en la producción lechera se ha logrado debido a la selección genética para producción de leche, mejoras en la alimentación y mejoras en otros manejos al mismo tiempo los índices de eficiencia reproductiva han disminuido. En una revisión de la genética moderna de la

vaca lechera de (Hansen, 2000), demostró que la percepción de la baja eficiencia reproductiva en vacas altas-productoras, en varios hatos mostro un antagonismo claro entre la producción de leche y la reproducción de las mismas (Dematawewa et al, 1998; Hansen, 2000).

El incremento de la producción láctea en vacas altas productoras posterior al parto, provoca que los requerimientos nutricionales se incrementen rápidamente con lo que el aumento de la producción láctea y el balance energético negativo (**BEN**) se extienda por 10 a 12 semanas pos-parto. El balance energético negativo (**BEN**) es altamente asociado con un largo periodo anovulatorio post-parto tras la atenuación de la frecuencia de los pulsos de (**LH**) y niveles más bajos de glucosa, insulina y (**IGF-1**) que colectivamente limita la producción de Estradiol (**E₂**) por los folículos dominantes (Lucy 2001; Fenwick, Fitzpatrick et al. 2008).

Las concentraciones plasmáticas de (**IGF-1**) y (**IGFBP-3**) son mayores en vacas ovulatorias que en vacas anovulatorias (Lucy, Beck et al. 1992; Butler 2003). La demanda metabólica de la alta producción láctea y su asociación con el balance energético negativo (**BEN**) está altamente relacionado con la disminución de la calidad de los ovocitos y la capacidad del embrión de desarrollarse. También el balance energético negativo (**BEN**) y la pérdida de índice de condición corporal (**ICC**) están relacionados con la reducción de Progesterona (**P₄**) sérica y consecuente reducción de la tasa de preñez, esto debido a un aumento metabólico hepático lo que conlleva a una eliminación

más rápida de la Progesterona (**P₄**). (Butler 2003; Leroy, Opsomer et al. 2008).

Las preocupaciones del Inbreeding, y su coeficiente se han incrementado drásticamente desde 1960 al 2007 (1960 fue la base para los cálculos de Inbreeding de bovinos de los Estados Unidos, los animales que nacieron este año se consideran como 0 (Heins, Hansen et al. 2006).

Los bovinos tienen alrededor de 21,000 genes funcionales en 30 pares de cromosomas. Cada par de cromosomas lleva 2 copias de cada gen, uno heredado de la madre y otro del padre. El Inbreeding incrementa la probabilidad de heredar 2 copias de un gen que es idéntico. Los efectos negativos del Inbreeding son vistos cuando genes idénticos indeseables son heredados de ambos padres (Thomson and Freeman 1967).

El coeficiente de Inbreeding es un estimado del porcentaje de estos genes pares que son heredados por ambos padres. Como regla la selección de sementales debería mantener los porcentajes de Inbreeding menores a 6.25%, porcentajes de coeficiente de Inbreeding de animales nacidos en el 2007 estiman un 5.1% para Holstein y 7.5% para Jersey (Heins, Hansen et al. 2006).

Datos de, (Hermas et al.1987) concluyen que cada 1% en el incremento del coeficiente de Inbreeding lleva a un 0.17 de incremento en los servicios por concepción, 2 días de incremento en los días abiertos, y un 3.3% de disminución en la tasa de concepción.

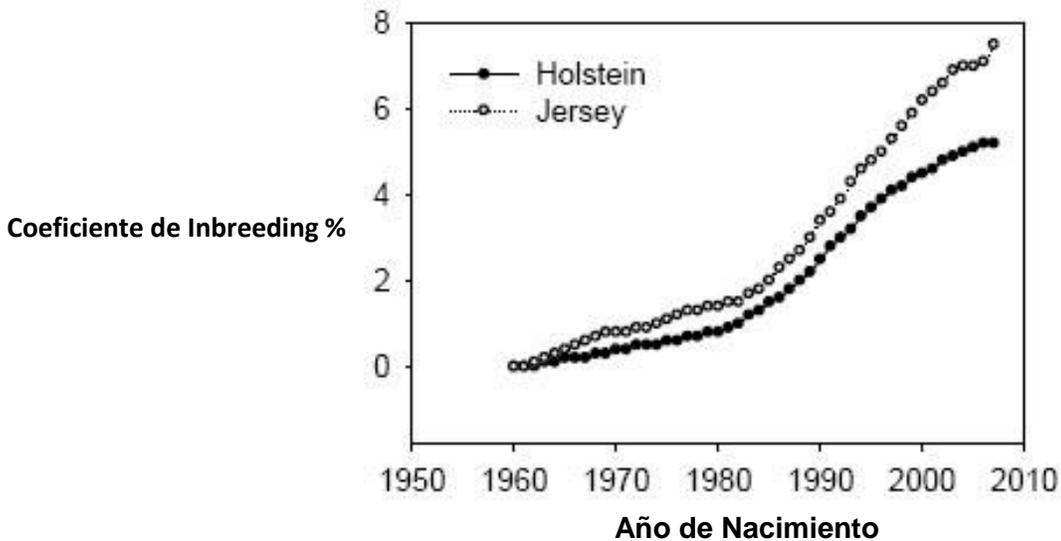


Figura 5. Tendencias en el coeficiente de Inbreeding para bovinos US Holsteins y Jersey. Datos de USDA-ARS Animal Improvement Programs Laboratory, (<http://aipl.arsusda.gov>, 2007)

El Crossbreeding tiene la ventaja de producir heterosis, esencialmente, una heterosis resultante de lo contrario a la depresión del Inbreeding, por lo que incrementa las oportunidades que los pares de genes incluyan una copia diferente de cada padre por lo tanto incrementa las posibilidades de que una mejor versión sea utilizada por el animal. El Crossbreeding también provee oportunidades en razas lecheras (Heins, Hansen et al. 2006).

Investigadores de la Universidad de Minnesota (Heins, Hansen et al. 2006) han estudiado el desarrollo de bovinos Holstein cruzados con diferentes razas incluyendo Normando, Montebeliarde y Scandivian Roja. Los datos del estudio demuestran que el Crossbreeding puede mejorar la fertilidad y longevidad de los animales con el costo de la disminución de la producción láctea. Como se observa en la (tabla 1), los días abiertos durante la primera

lactancia disminuyeron 19-27 días para los grupos de Crossbreeding (Heins, Hansen et al. 2006).

	Holstein	Normando x Holstein	Montebeliarde x Holstein	Scandinavian Rojo x Holstein
Días a Primer Servicio	69	62	65	66
Tasa de Concepción a 1er Servicio	22	35	31	30
Días Abiertos	15	123	131	129
Producción de láctea a 305 d, lb	21511	18805	20194	20461

Tabla. 1 Reproducción y producción láctea en la primera lactancia de Holstein y Cruzas de Holstein (Heins, Hansen et al. 2006)

2.1.3.2 Factores de Gametos y Embrionarios.

La infertilidad en vacas lecheras no es un fenómeno nuevo, pero las tendencias actuales en reproducción son diferentes debido a que los problemas reproductivos afectan a un gran porcentaje de las vacas lecheras. Estudios de vacas repetidoras demuestran que las vacas repetidoras son diferentes que las vacas normales debido a que tienen una tasa de mortalidad embrionaria mayor (Ayalon 1978). La muerte embrionaria ocurre en 2 diferentes estadios (Pocos días después de la concepción) y más tarde en (estadio filamentosos). El estadio filamentosos de los embriones es menor en vacas repetidoras ya que son incapaces de bloquear la cascada luteolítica. La presencia de embriones más pequeños sugiere que el útero es incapaz de soportar el desarrollo embrionario normal o que los embriones son defectuosos (Lucy 2001).

En estudios de (Gustafsson and Larsson 1985), cuando bovinos implantados recíprocamente entre repetidoras y normales, los repetidores fallaron en llevar un preñes normal, aun incluso al haber recibido un embrión de una vaca normal. Controversialmente, vacas normales tuvieron tasas de preñeces normales cuando fueron implantadas con un embrión de vacas repetidoras. Estos datos sugieren que vacas repetidoras de las lecherías modernas fallan en establecer una gestación debido a un suboptimo ambiente uterino.

El útero puede fallar en sintetizar adecuadas cantidades del Factor de Crecimiento Embriotrofico (**EGF**), la secreción de este factor (**EGF**) dentro del lumen uterino puede estar controlada por el estatus nutricional debido a que en bovinos

implantados con embriones y con un índice de condición corporal (**ICC**) menor son menos capaces de llevar una gestación (Bielanski, Schneider et al. 1986).

El factor de crecimiento insulínico (**IGF-1**) está estrechamente regulado por el estatus nutricional y pueden tener un rol importante en el proceso de la implantación (Watson, Westhusin et al. 1999).

El embrión bovino contiene receptores para el factor de crecimiento insulínico (**IGF-1**) y el (**IGF-1-RNA**) en estudios de (Robinson, Mann et al. 2000) encontraron el (**IGF-1-RNA**) en el útero lo que nos indica que también es sintetizado por el mismo ya que en bovinos gestantes presentaron concentraciones mayores de (**IGF-1-RNA**) que bovinos no gestantes (Kirby, Thatcher et al. 1996)

Bovinos tratados con somatotropina recombinante bovina (**bST**) después de la inseminación tuvieron un incremento en la tasa de concepción debido al mecanismo que envuelve al factor de crecimiento insulínico (**IGF-1**), y lo mismo fue observado al aplicarlo al momento de la inseminación con aumento de la tasa de concepción (**TC**) en un 5% (Bilby, Bader et al. 1999; Moreira, Risco et al. 2000).

Existe una tasa de pérdida embrionaria en el periodo que transcurre desde concepción y el reconocimiento de gestación materno (días 17 a 19 post-inseminación) siendo el periodo más crítico que determina si el embrión sobrevive o no (Mann, Lamming et al. 1999)

La tasa de fertilización de los ovocitos está en el rango de un 89 a un 100% pero estudios sobre la mortalidad embrionaria en bovinos lecheros estiman que el 10% de los embriones son perdidos en entre los días 28 y 75 de gestación (Kummerfeld,

Oltenacu et al. 1978; Celi, Merlo et al. 2011) lo que se compara con datos de (Smith and Stevenson 1995) que reportaron una pérdida embrionaria de un 12.4% después del día 28 en vacas que fueron inseminadas tras un celo espontaneo.

Estudios más recientes empleando Ultrasonografía para el diagnóstico de gestación sugieren que la tasa de pérdidas embrionarias entre los días 28 y 60 es de al menos un 20% (Pursley, Silcox et al. 1998; Gabor, Toth et al. 2008).

2.1.3.3. Factores Ambientales (Estrés Calórico)

El clima es la combinación de los elementos ambientales que incluyen temperatura, humedad, lluvias, movimiento del aire, radiación, presión barométrica e ionización. Uno de los grandes retos en la producción lechera actual es el estrés calórico, debido a que el hombre ha introducido explotaciones de bovinos productores de leche de la raza Holstein en lugares donde las condiciones climáticas son adversas para los bovinos como raza ya que el Índice de Temperatura y Humedad (**ITH**) es igual o superior a 72 puntos, lo cual es el indicativo de estrés calórico (Bohmanova, Misztal et al. 2007).

Las vacas lecheras crean una cantidad relativamente alta de calor metabólico más la acumulación de la temperatura radiante ambiental esto acompañado de periodos extensos más una humedad relativa alta compromete la habilidad de las vacas lecheras de disipar el calor excesivo acumulado en sus cuerpos. Vacas expuestas a altas temperaturas exhiben una disminución de la ingesta de materia seca (**IMS**) y producción de leche (**PL**) (West 2003).

El estrés calórico ha mostrado alterar la duración de los estros, calidad del calostro, la tasa de concepción, función uterina, estatus endocrino, crecimiento y desarrollo folicular, mecanismos lutelíticos, desarrollo embrionario temprano, y el crecimiento fetal (Jordan 2003). En un estudio llevado a cabo en Israel por (Berman, Folman et al. 1985) evaluaron la relación entre la temperatura ambiental y la corporal y el punto crítico para que iniciara la presencia de estrés calórico fue de 25 a 26 C°.

La tasa de concepción declina de un 61% a un 45% cuando la temperatura rectal post-inseminación se incrementó 1C° (Ulberg and Burfening 1967). Cambios en la temperatura rectal son el indicador clave que indica si existe la presencia de estrés calórico (Ulberg and Burfening 1967).

El estrés calórico, compromete la dinámica folicular y la habilidad de un folículo de mostrar dominancia. Durante el verano los ovocitos de vacas en estrés calórico muestran un decrecimiento en la habilidad de desarrollarse a blastocitos (De Rensis and Scaramuzzi 2003). En estudios de (Ferreira, Ayres et al. 2011), concluyeron que el estrés calórico afecta drásticamente la calidad de ovocitos de vacas repetidoras (Figura 4).

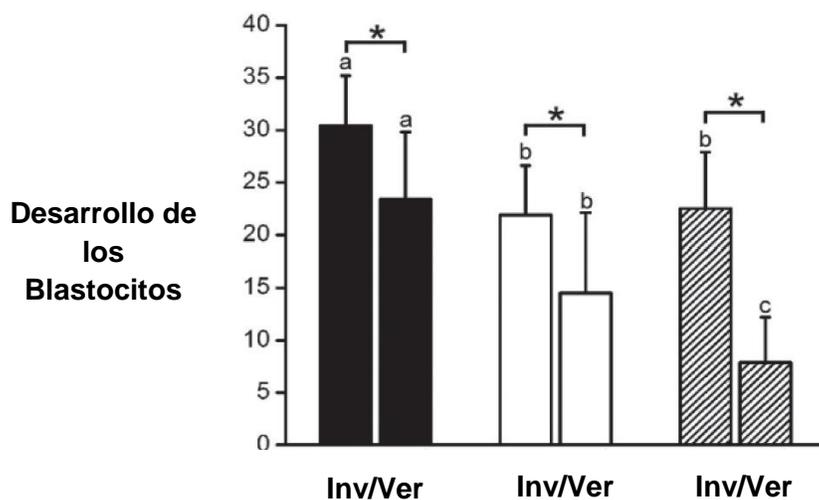


Figura 6. Efecto del estrés calórico sobre la calidad y desarrollo de los Blastocitos (Ferreira, Ayres et al. 2011)

2.1.4. Mecanismos del Reconocimiento de la Gestación

El concepto (Embrión/Feto y membranas extraembrionarias asociadas), requieren forzosamente para su crecimiento y desarrollo a la hormona Progesterona (**P₄**) y a las hormonas asociadas a la placenta y sus acciones sobre el endometrio uterino, reconocimiento de la gestación y receptibilidad uterina para la implantación de los blastocitos (Spencer, Johnson et al. 2004).

En rumiantes, interacciones complejas entre las células endometriales y el embrión determinan el hecho de que el cuerpo luteo ovárico, continúe durante la gestación o se luteinize para dar origen a un nuevo ciclo estral. Interacciones paracrinas entre el trofoblasto y las células endometriales son esenciales para el reconocimiento y establecimiento de una gestación (Spencer and Bazer 2004) para evitar la liberación de Prostaglandina (**PGF_{2α}**) por las células epiteliales del endometrio, en respuesta a la hormona Oxitócica (**OT**) de origen ovárico y neurohipofisiario (Spencer and Bazer 2004; Krishnaswamy, Danyod et al. 2009).

El Interferón tau (**IFN τ**) trofoblastico es la señal embrionaria liberada como un factor paracrino para prevenir la luteolisis como efecto del reconocimiento de la gestación (Krishnaswamy, Danyod et al. 2009).

Ha sido propuesto que el Interferón tau (**IFN τ**) inhibe la producción de Prostaglandina (**PGF $_{2\alpha}$**), por las células epiteliales endometriales, evitando la expresión del receptor Estrogenico- α (**ER- α**) y el receptor de Oxitócica (**OTR**) a través de la activación del factor Transcripcional Represor IFN-regulador - 2 (**IRF2**) (Spencer, Johnson et al. 2006). En estudios de (Lemaster, Seals et al. 1999) cuando bovinos fueron tratados con oxitócina cada 8hr entre los días 5 y 8 post-inseminación, la tasa de supervivencia embrionaria se vio disminuida esto asociado al incremento de las concentraciones (**PGF $_{2\alpha}$**) el día 5.

Observaciones, *in vivo* derivadas de transferencias embrionarias en bovinos y experimentos *in vitro* sugieren que mecanismos alternativos están también presentes para permitir al (**IFN τ**) hacer efecto en el reconocimiento de la gestación durante un periodo de tiempo más corto. En el bovino, es posible obtener gestaciones viables después de una transferencia embrionaria de blastocitos arriba del día 16 del ciclo estral, y en ovinos 12 h antes de que ocurra la luteolisis (Betteridge KJ 1980; Arosh, Banu et al. 2004).

Se ha demostrado que la estimulación oxitócica (**OT**) y la producción de (**PGF $_{2\alpha}$**) involucra la estimulación de la expresión de la enzima Ciclooxygenasa - 2 (**COX-2**) es también regulada durante la gestación temprana en bovinos.(Parent, Villeneuve et al. 2003; Tithof, Roberts et al. 2007).

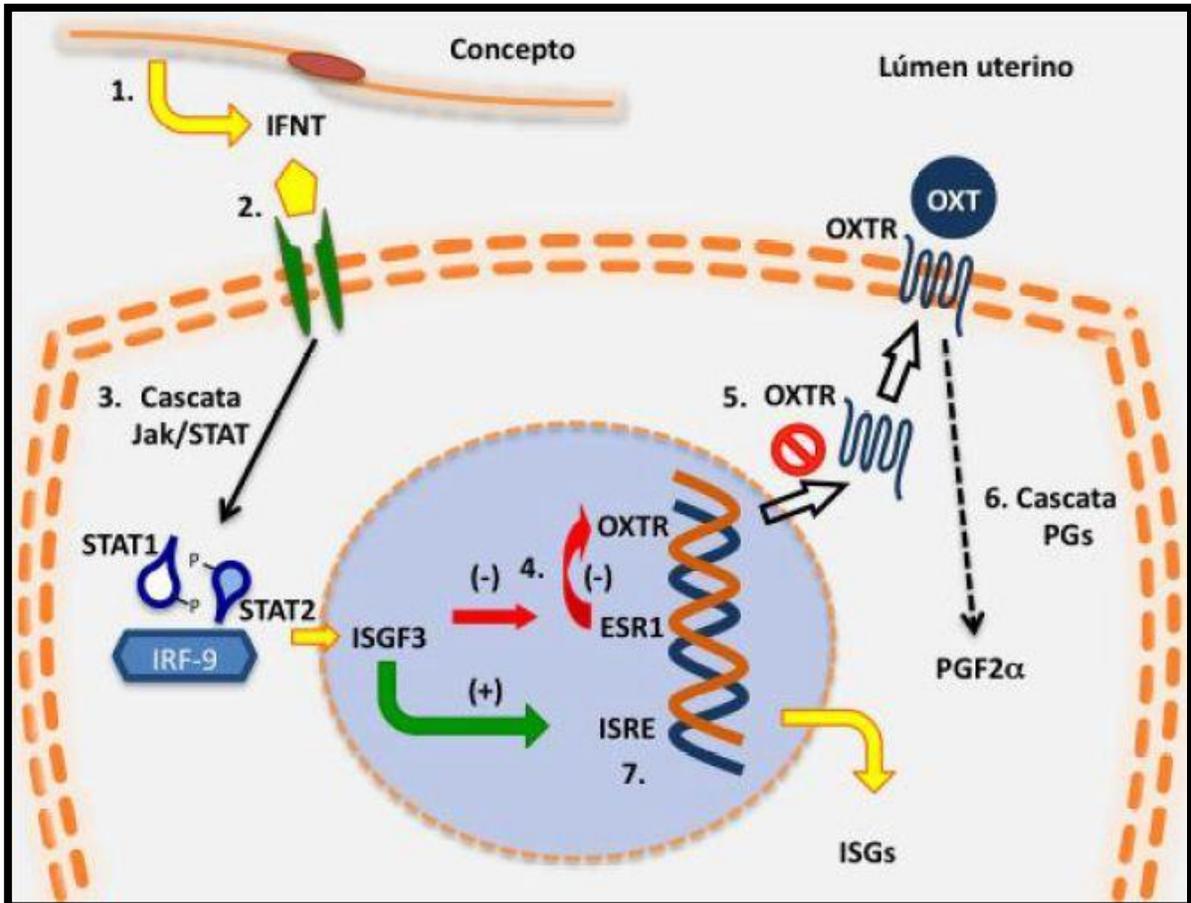


Figura 7. Cascada de eventos que conllevan a liberación de prostaglandinas por el epitelio luminal del endometrio (Lucy, 2001).

2.1.5. Farmacología del Flunixin de Meglumina

(AINES): los Antiinflamatorios no Esteroidales **(AINES)**, son definidos como compuestos que suprimen la inflamación y no son de origen esteroidal. Generalmente, clasificados restrictamente como aquellas drogas que inhiben uno o más pasos en el metabolismo del Ácido Araquidónico **(AA)**. Estructuralmente, los **(AINES)**, son clasificados en derivados de Ácidos carboxílicos y Ácidos Enólicos (Riviere and Papich 2009).

Farmacognosia:

El Flunixin de Meglumina **(FM)**, es un compuesto aromático del grupo de los ácidos carboxílicos. Químicamente se trata de un derivado del ácido nicotínico. La Meglumina es un azúcar derivada del sorbitol. Se utiliza como excipiente en una variedad de fármacos (Riviere and Papich 2009).

Nombre químico:

2-[[2-Methyl-3-(trifluoromethyl)phenyl]amino]-3-pyridinecarboxylic acid.

Formula condensada:

$C_{14}H_{11}F_3N_2O_2 \cdot C_7H_{17}NO_5$

Peso Molecular:

491,46 g/mol.

Coefficiente de Disociación:

Es un Ácido Débil $pK_a = 5.82$

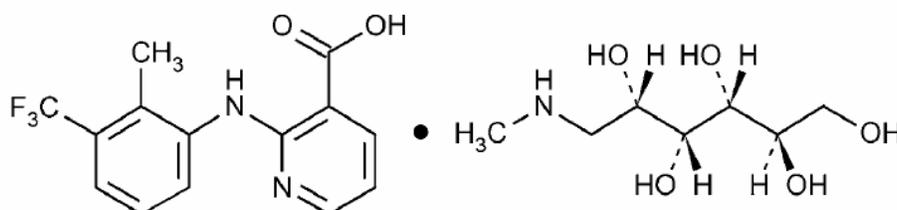


Figura 6: Forma estructural del Flunixin de Meglumina (USP, anexo 2).

Farmacodinamia:

Flunixin de Meglumina (**FM**) es un potente inhibidor de la síntesis de prostaglandinas (**PGE**) incluyendo la (**PGF_{2α}**) vía la inhibición de las 2 isoformas de Ciclooxygenasas (**COX-1**) y (**COX-2**). Estas enzimas son catalizadoras esenciales al inicio de la síntesis de prostaglandinas a partir del Ácido Araquidónico (**AA**) (Plumb 2011; Miciletta, Cuniberti et al. 2013).

Farmacocinética:

Flunixin de Meglumina (**FM**) es un ácido débil que exhibe un alto grado de unión a proteínas plasmáticas (aproximadamente 99%). Diferentes autores han reportado diferentes cinéticas para bovinos. Uno reportó una Vida Media de (3.0 a 5.0 hr) que considerablemente mayor que en equinos (1.6 hr). Adicionalmente, Flunixin de Meglumina tiende a ser secuestrada en el sitio de la inflamación. La eliminación ocurre principalmente vía hepato biliar (Hardee, Smith et al. 1985; Riviere and Papich 2009).

Indicaciones y Dosis

En Estados Unidos de Norteamérica, está aprobada para su uso en equinos y bovinos. En bovinos está indicada para procesos inflamatorios y piréticos en general. La dosis recomendada para bovinos es de 1.1 – 2.2 mg/kg, vía Intravenosa, intramuscular cada 12-24hr, por 3 días (Plumb 2011).

Interacciones.

Debe ser usado con precaución con otros fármacos que se unan en alto rango a proteínas plasmáticas, como: anticoagulantes orales y sulfamidas (Plumb 2011).

Efectos Adversos

En equinos aplicaciones **(IM)**, se ha reportado afecciones locales. Aplicaciones intraarteriales, pueden causar estimulación del SNC, presentándose ataxia, hiperventilación y debilidad muscular, los signos suelen ser transitorios y no requieren tratamiento. En equinos y bovinos reacciones anafilácticas se han reportado, siendo de muy baja incidencia. El riesgo potencial como con cualquier **(AINES)**, puede provocar úlceras GI, por lo que se debe evitar en pacientes con úlceras gastrointestinales (Plumb 2011).

2.1.6. Progesterona y su Importancia para la Gestación

La hormona progesterona (**P₄**) es requerida para la gestación en bovinos. Bovinos gestantes tienen niveles séricos más elevados de progesterona (**P₄**) (Mann, Lamming et al. 1999). La progesterona (**P₄**) estimula y mantiene las funciones uterinas necesarias para la concepción, tanto el crecimiento, implantación y desarrollo del embrión. Durante la gestación temprana, el endometrio sintetiza y secreta una mezcla de factores de crecimiento, proteínas de transporte y nutrientes en el lumen uterino estos factores son necesarios para la supervivencia y crecimiento embrionario. El avance del crecimiento del concepto es mediado por acción indirecta de la progesterona (**P₄**). Niveles elevados de progesterona (**P₄**) estimulan la expresión de genes que codifican a factores de crecimiento, y también incrementa las concentraciones de glucosa y varios aminoácidos en el útero (Matsuyama, Sakaguchi et al. 2012).

Una mala nutrición y una pérdida de peso corporal en bovinos causan una disminución en la concentración de progesterona (**P₄**) sérica. Una posibilidad para este fenómeno es que una elevada producción láctea afecte negativamente las concentraciones de la misma y cause infertilidad en bovinos lecheros (Rekawiecki, Nowocin et al. 2010).

Los mecanismos por los cuales los niveles de progesterona (**P₄**) pudieran disminuir son variados. Las concentraciones de progesterona (**P₄**) en sangre están determinadas por la tasa de secreción, metabolismo y eliminación. El tamaño de los cuerpos lúteos o la secreción de progesterona (**P₄**) han cambiado en los últimos 50 años (Castro, Kawashima et al. 2012). En estudios de (Bilby 1998) pesaron cuerpos

lúteos de bovinos en el pico de lactancia, y encontraron que el promedio era de 3.7 g menor a bovinos Friesian de Nueva Zelanda en el mismo estadio de lactancia 5.1 g.

El tamaño del cuerpo lúteo y la secreción de progesterona (**P₄**) es solo una parte importante de la ecuación que determinan las concentraciones de progesterona. La progesterona (**P₄**) es eliminada de la circulación sanguínea de diferentes maneras, el hígado es lugar principal de su metabolismo, y la progesterona (**P₄**) y sus metabolitos son eliminados en heces, orina y leche (Parr 1992). Estudios de (Rabiee 2000), se implanto a bovinos con dispositivos de liberación sostenida de progesterona (**P₄**), encontró que en bovinos alimentados en pastoreo *Ad libitum* tuvieron niveles de progesterona (**P₄**) menores en comparación a bovinos alimentados a pastoreo restringido (1.08 vs. 1.71 ng/ml). (Likewise, Sangsritavong et al. 2000) demostraron que el flujo sanguíneo hepático y el metabolismo de la progesterona (**P₄**) se incrementaba en 50% cuando la alimentación se incrementaba por un tiempo prolongado. En conclusión de estos estudios la vaca lechera alta productora, tiene niveles de progesterona (**P₄**) menores debido a que consumen más alimento y por lo tanto su tasa metabólica es mayor.

2.1.7. Estrategias para Mejorar la Fertilidad.

En conclusión muchas hipótesis han sido propuestas para explicar la disminución de la fertilidad de los bovinos productores de leche en las pasadas 5 décadas, están incluyen factores genéticos, fisiológicos, nutricionales, ambientales y de manejo y estos factores han sido investigados a nivel del ambiente, animal, órgano y nivel celular en periodos críticos de la vida productiva de las vacas lecheras. Los factores fisiológicos más críticos que deberían de ser mejorados para contrarrestar en lo posible la infertilidad en bovinos lecheros son (Walsh, Williams et al. 2011):

- Minimizar el Balance Energético Negativo (**BEN**) y resolver cualquier infección del útero postparto.
- Mejorar la expresión y detección de estros seguido de una inseminación con semen de excelente calidad (Día - 0).
- Mejorar la Ovulación y fertilización de Ovocitos de alta calidad (Día - 1).
- Un incremento temprano en la secreción de progesterona (**P₄**) por el (**CL**) (Días 3-7).
- El endometrio uterino deberá producir un temprano y adecuado ambiente para estimular el desarrollo del embrión (Días 6-13).
- Un embrión grande deberá producir una adecuada cantidad de Interferón (**ITF τ**) los (Días 14-18) de tal modo que inhiba la secreción uterina de prostaglandina (**PGF_{2 α}**) y la señal materna del reconocimiento de la gestación los (Días 16-18) (Walsh, Williams et al. 2011)

2.1.8. Hipótesis

La aplicación de un **(AINES)** (Flunixin de Meglumina) el día 15 post-inseminación, mantendrá los niveles de progesterona **(P₄)** séricos por más tiempo al inhibir la síntesis de Prostaglandinas **(PGF₂α)** y por lo tanto aumentara la tasa de concepción.

2.1.9. Objetivos

El objetivo del presente estudio fue determinar si aplicación de un **(AINES)** Flunixin de Meglumina el día 15 post-inseminación, justo antes de la luteolisis será suficiente para inhibir la síntesis de Prostaglandina **(PGF2 α)**, y por lo tanto mantener los niveles de progesterona **(P4)** séricos por un tiempo más prolongado esto tras mantener al cuerpo lúteo lo cual aumentara la tasa de concepción.

3. Materiales y Métodos

3.1.1. Lugar del experimento

El experimento se llevó a cabo en un establo de producción intensiva de vacas Holstein en la localidad de Delicias en el estado de Chihuahua con localización geográfica Lat N 28°16'2633'' y Lon O 105°37'0131''. El experimento se llevó a cabo en el transcurso de junio del 2012 a Marzo del 2013.

3.1.2 Condiciones Ambientales

La región se caracteriza por tener un clima semiárido, la precipitación fluvial media anual es de 300 y 400 milímetros cúbicos, con un promedio anual de 82 días de lluvia y una humedad de relativa de 45%. Se estiman 60 días de lluvia y 2 de granizo. Los días con heladas son 110 y existen 3 días de heladas en octubre y 4 de heladas tardías en abril (Sistema Meteorológico Nacional, 2013).

	Junio	Abril
Temp Max C°	43.0	32.5
Temp Min C°	8.9	5.6

Tabla 2. Temperaturas Máximas y Mínimas en meses experimentales.
Fuente: (SMN 2013)

3.1.3. Animales Experimentales

Se seleccionaron animales aleatoriamente sin importar e historial reproductivo que tuvieran, todos los bovinos tuvieron acceso a agua *Ad libitum*, y eran alimentados con una ración totalmente mezclada (Total Mixed Ration-TMR) *Ad libitum* a base de Alfalfa heno, Silo de maíz, Semilla de Algodón y un Concentrado comercial, balanceados para cumplir o exceder las recomendaciones del (NRC 2001). Las vacas eran ordeñadas 2 veces al día.

Todas las vacas recibieron Somatotropina recombinante bovina (**bST**) (500 mg) cada 15 días a partir del día 60 post-parto (Boostin-G, MSD & CO., Inc.). Se midió el índice de condición corporal (**ICC**) en la escala de 1-5 obteniendo un promedio de 3.5 en todos los bovinos estudiados (Bewley, Boyce et al. 2010) .Todas las metodologías se hicieron de acuerdo a las recomendación de Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching (FASS 2012).

	Grupo TX =23	Grupo CON =23	Valor p
N° de Lactancias	3.04	2.78 ^a	p=0.618
Días en Leche	148.35	152.78	p=0.861
Producción Promedio	31.87	33.40	p=0.020
N° de Servicios	3.43	4.00	p=0.503
Promedio entre Estros	26.13	25.50	p=0.816

Tabla 3. N° de lactancias, Días en leche, Producción promedio, N° de Servicios y Promedio entre estros de los Grupos (TX=23) y (CON=23).

3.1.4. Diseño Experimental.

Los bovinos estudiados (TX, n = 23) y control (CON, n = 23), con un total de 46 animales fueron enrolados en presente estudio. Se diagnosticó vía palpación rectal la integridad del aparato reproductor de los animales, los que presentaran alguna alteración fueron descartados del estudio.

El grupo tratamiento (TX, n = 23), recibió una inyección intramuscular (**IM**) de 2.2 mg/kg de peso vivo de Flunixin de Meglumina (**FM**) (Finadyne, Intervet, Deutschland GmbH, Unterschleisheim, Alemania), el día 15 Post-Inseminación artificial a las 1200 hr, tomando en cuenta como Día 0 a la inseminación artificial.

El grupo control (CON, n = 23) recibió una inyección intramuscular de agua estéril, el día 15 Post-Inseminación artificial a las 1200 hrs, tomando en cuenta como Día 0 a la Inseminación artificial.

Las muestras sanguíneas para medir Progesterona (**P₄**) del grupo Tratamiento (TX, n = 23) y el grupo control (CON, n = 23), fueron tomadas el día 22 Post-Inseminación, mediante una venopuncion de la vena coccígea 6 ml de sangre, con tubos con activador de la coagulación (Vacutainer, 10 ml, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). Las muestras sanguíneas fueron centrifugadas a 3,500 × g por 15 min. El suero obtenido fue congelado a -20°C hasta el análisis.

El diagnostico de gestación fue realizado el día 38±4 Post-Inseminación artificial, mediante palpación rectal por un médico certificado.

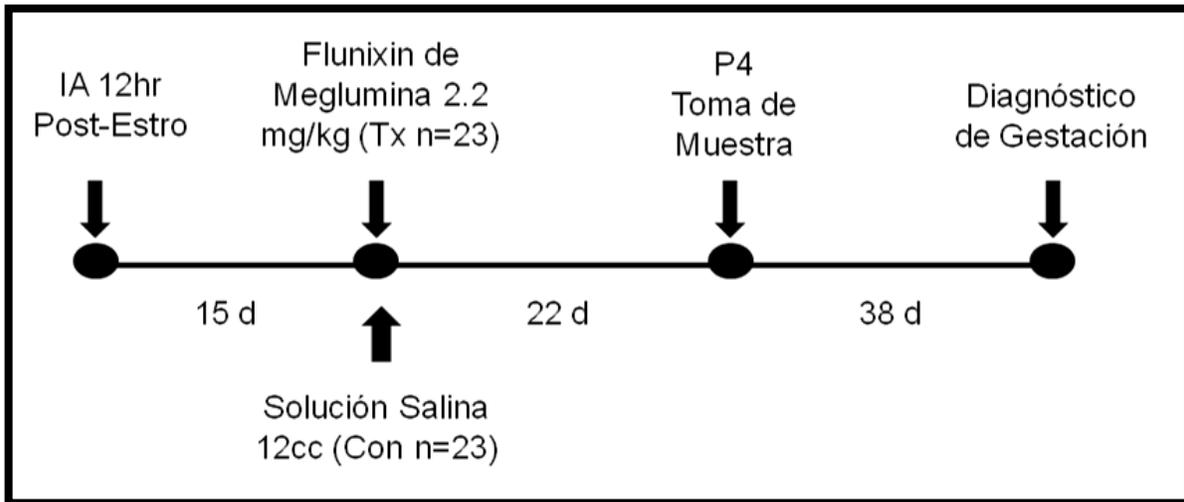


Figura 8. Protocolo del Experimento.

3.1.5 Análisis Hormonal

Las concentraciones de progesterona sérica (**P₄**) (ng/ml) fueron determinadas usando un kit comercial de Radioinmunoanálisis de fase solida (Coat-A-Count Progesterone, Diagnostic Products Corporation, Los Ángeles, CA). La sensibilidad de la prueba es de 0.1 ng/ml.

3.1.6. Variables a Determinar.

3.1.6.1. Niveles de Progesterona Séricos:

Se determinó mediante una muestra sanguínea el día 22 Post-Inseminación, en el laboratorio de análisis clínicos colon en Torreón, Coahuila, México.

3.1.6.2. Tasa de Concepción

Se determinó mediante la palpación rectal de los bovinos experimentales y control el día 38±4 Post-Inseminación Artificial.

3.1.6.3. Análisis Estadístico.

La tasa de concepción se comparó mediante una prueba de Ji-cuadrada χ^2 . Las concentraciones de Progesterona (**P₄**), fueron comparadas entre grupos mediante un análisis de varianza para mediciones repetidas ANOVA, mediante el paquete estadístico SYSTAT 13.

4. Resultados

4.1.1. Niveles de Progesterona (P₄) séricos.

Los niveles de Progesterona (P₄) para el grupo (TX, n=23) fueron de 8.46 ng/ml en promedio para los animales gestantes y 3.87 ng/ml para los animales no gestantes, de 12.33 ng/ml (P=0.088).

Para el grupo control (CON, n=23) los niveles de progesterona (P₄) para los animales gestantes fue de 5.36 ng/ml y 1.35 ng/ml para los no gestantes y con un promedio general de 6.71 ng/ml (P=0.088).

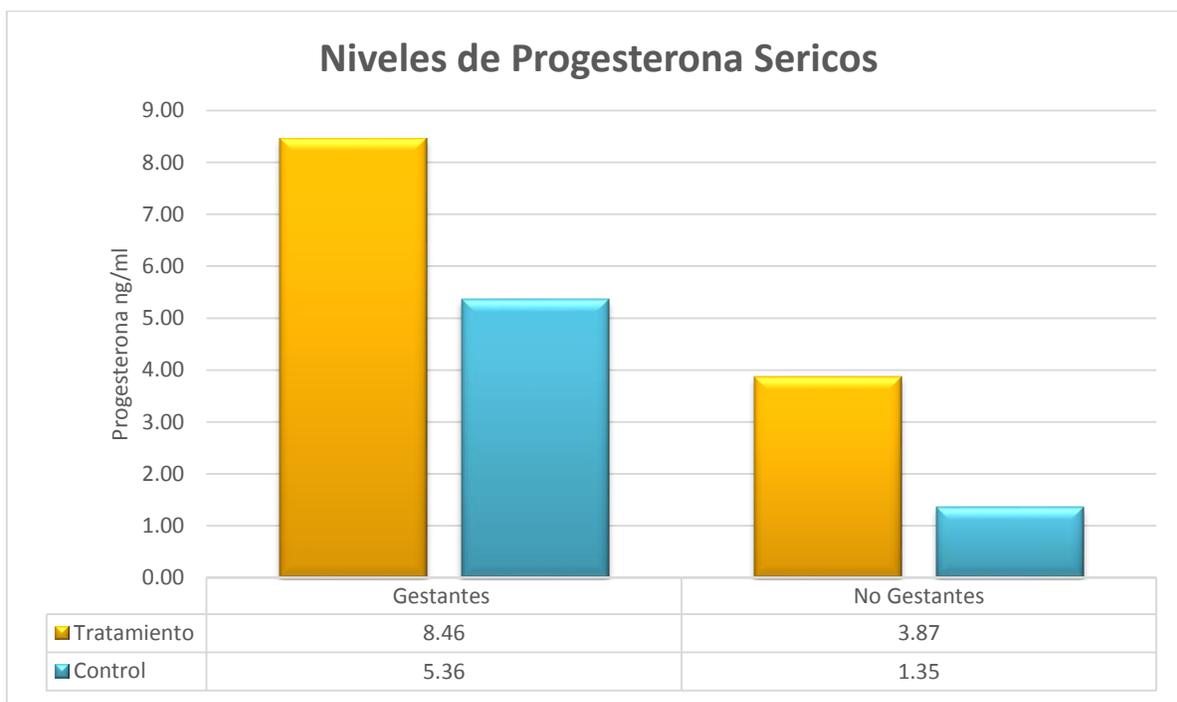


Figura 9. Niveles de Progesterona (P₄) séricos en promedio de los Grupos Tratamiento (TX n=23) y Control (CON n=23) para gestantes y no gestantes (P=0.088).

4.1.2. Tasa de Concepción.

El grupo tratamiento (TX n=23) que recibió una aplicación de Flunixin de Meglumina **(FM)** intramuscular el día 15 post-inseminación tubo una tasa de concepción de un 52.1% vs el grupo control (CON n=23) que recibió una aplicación de agua estéril que tuvo una tasa del 34.7% (P= 0.234).

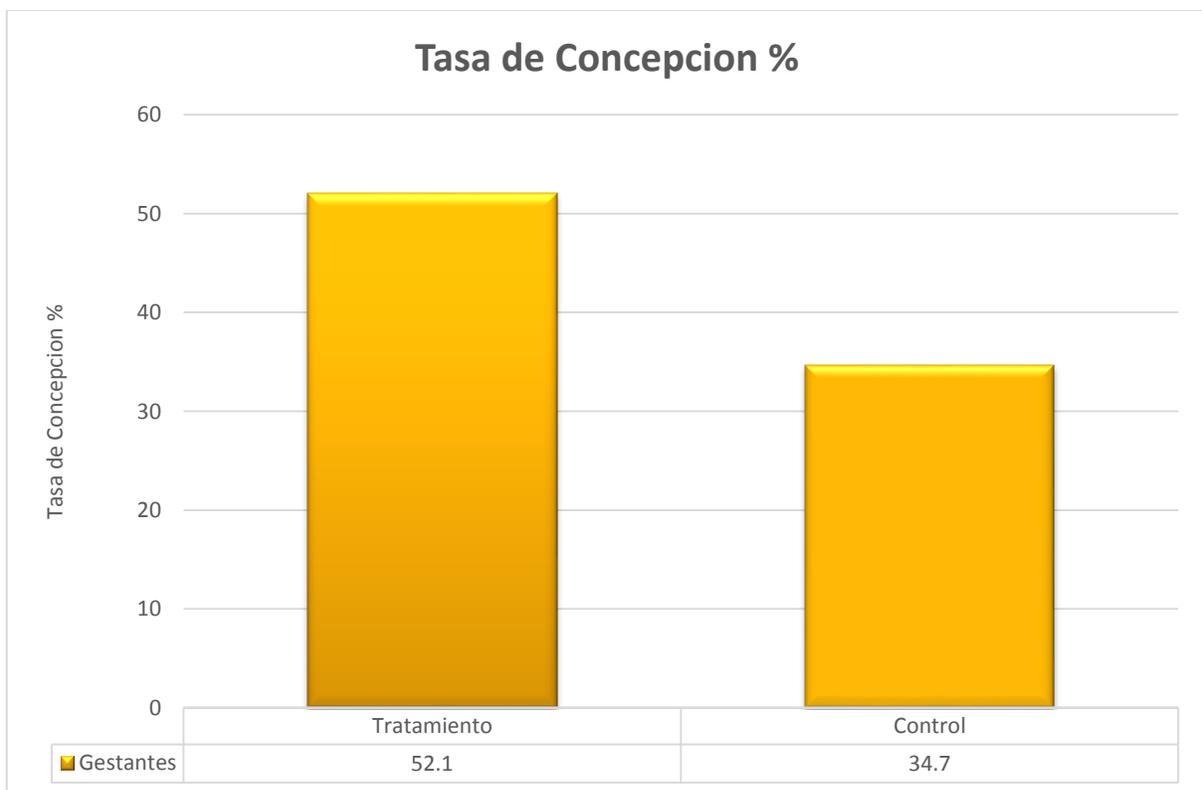


Figura 10. Tasa de concepción de grupo tratamiento (TX n=23) y control (CON n=23) en porcentajes (P= 0.234).

5. Discusión

En bovinos lecheros la muerte embrionaria temprana, se ha considerado como uno de los problemas mayores que afectan la industria lechera. La tasa de fertilización de los ovocitos está en el rango del 55 a 98% (Santos, et al. 2004), aproximadamente el 40% de los embriones se pierden alrededor del día 17 después de la fertilización (Tatcher et al. 1994). Debido a esto es indispensable encontrar metodologías para aumentar la tasa de sobrevivencia embrionaria, cualquier intento de prevenir o reducir la muerte embrionaria temprana necesita estar fundamentada en los mecanismos que regulan el desarrollo embrionario y los mecanismos del mantenimiento de la gestación (Tatcher, et al. 2007).

El objetivo del presente estudio fue determinar si aplicación de un **(AINES)** Flunixin de Meglumina el día 15 post-inseminación, justo antes de la luteolisis será suficiente para inhibir la síntesis de Prostaglandina **(PGF₂α)**, y por lo tanto mantener los niveles de progesterona **(P₄)** séricos por un tiempo más prolongado esto tras mantener al cuerpo lúteo lo cual aumentara la tasa de concepción.

En este estudio el grupo tratamiento (n=23) recibió una aplicación de Flunixin de Meglumina **(FM)** 2.2 mg/kg intramuscular el día 15 post-inseminación el grupo control (n=23) recibió una inyección de agua estéril, los niveles de Progesterona **(P₄)** fueron superiores para el grupo tratamiento (TX=12.33 ng/ml vs CON=6.27 ng/ml P=0.088). La tasa de concepción fue de (TX=52.1 vs CON=34.7, P=0.233).

Bovinos gestantes tienen niveles séricos más elevados de progesterona. La progesterona estimula y mantiene las funciones uterinas necesarias para la concepción, tanto el crecimiento, implantación y desarrollo del embrión (Mann, Lamming et al. 1999), los niveles más elevados de progesterona encontrados en el grupo tratamiento (**TX n=23**) nos indican que Flunixin de Meglumina (**FM**), retarda la luteolisis lo cual se ve reflejado en la tasa de concepción más alta observada en el grupo tratamiento los indican que la aplicación de Flunixin de Meglumina el día 15 post-inseminación, disminuyen las pérdidas embrionarias tempranas lo más posible al inhibir la síntesis de (**PGF2 α**) por el epitelio luminal del endometrio, lo cual retarda la luteolisis, esto debido a que muchos embriones poco desarrollados por diferentes factores son incapaces de secretar las cantidades suficientes de (**INF τ**), los días 15 a 17 de gestación, aunque estadísticamente no es significativo un aumento del 16% en la tasa de concepción, debido al número de la muestra tan pequeño.

Algunos estudios recientes proveen evidencia del efecto positivo de la administración de (**FM**) administrado los días 14 y 17 después de la inseminación, esto en ganado de carne se obtuvo una tasa de concepción de (TX-84% vs. CON-76%) (Merrill, Ansotegui et al. 2007). En vaquillas Holstein tras la aplicación de Flunixin de Meglumina el día 15 y 16 la tasa de concepción aumentó un 26.5%. Pero estudios de (Rabaglino, Risco et al. 2010) demostraron que la administración de un (**AINES**) el día 15 post-inseminación no aumenta la tasa de concepción (FM, 59.5%; CON, 59.4%). La aplicación de Flunixin de Meglumina es relativamente cara, esta mejora en la tasa de concepción y la relación costo deberá ser estudiada en algún futuro.

6. Conclusiones

Derivado de este estudio nos permite concluir que la administración de un **(AINES)** Flunixin de Meglumina el día 15 post-inseminación justo antes de la luteolisis aumenta los niveles de Progesterona (**P₄**) séricos al inhibir la síntesis de **(PGF₂α)** lo cual alarga la vida del cuerpo lúteo pero no aumenta tasa de concepción.

7. Referencias:

- Arosh, J., S. Banu, et al. (2004). "Effect of interferon-tau on prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling at the time of maternal recognition of pregnancy in cattle: evidence of polycrine actions of PGE." Endocrinology **145**: 5280 - 5293.
- Atzori, A. S., L. O. Tedeschi, et al. (2013). "A multivariate and stochastic approach to identify key variables to rank dairy farms on profitability." J Dairy Sci **96**(5): 3378-3387.
- Ayalon, N. (1978). "A review of embryonic mortality in cattle." J Reprod Fertil **54**(2): 483-493.
- Berman, A., Y. Folman, et al. (1985). "Upper Critical Temperatures and Forced Ventilation Effects for High-Yielding Dairy Cows in a Subtropical Climate." Journal of dairy science **68**(6): 1488-1495.
- Betteridge KJ, E. M., Randall GC, Mitchell D (1980). "Collection, description and transfer of embryos from cattle 10–16 days after oestrus." J Reprod Fe **59**:205-216.
- Bewley, J. M., R. E. Boyce, et al. (2010). "Comparison of two methods of assessing dairy cow body condition score." J Dairy Res **77**(1): 95-98.
- Bielanski, A., U. Schneider, et al. (1986). "Factors affecting survival of deep frozen bovine embryos in vitro: The effect of freezing container and method of removing cryoprotectant." Theriogenology **25**(3): 429-437.
- Bilby, C. R., J. F. Bader, et al. (1999). "Plasma Gh, IGF-1, and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH." Theriogenology **51**(7): 1285-1296.
- Bilby, C. R., K. L. Macmillan, G. A. Verkerk, J. A. Peterson, A. T. (1998). "Acomparative study of ovarian function in American (US) and New Zealand (NZ) Friesian lactating dairy cows." J. Anim. Sci **76**(1): 222.
- Blanco, M. A. G., R. (2001). Zootecnia de Bovinos Productores de Leche. Mexico. D.F., FMVZ, UNAM.
- Bohmanova, J., I. Misztal, et al. (2007). "Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress." J Dairy Sci **90**(4): 1947-1956.
- Butler, W. R. (1998). "Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle." J Dairy Sci **81**(9): 2533-2539.
- Butler, W. R. (2003). "Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows." Livestock Production Science **83**(2–3): 211-218.
- Caraviello, D. Z., K. A. Weigel, et al. (2006). "Survey of Management Practices on Reproductive Performance of Dairy Cattle on Large US Commercial Farms." Journal of dairy science **89**(12): 4723-4735.

- Castro, N., C. Kawashima, et al. (2012). "Metabolic and energy status during the dry period is crucial for the resumption of ovarian activity postpartum in dairy cows." J Dairy Sci **95**(10): 5804-5812.
- Celi, P., M. Merlo, et al. (2011). "Relationship between late embryonic mortality and the increase in plasma advanced oxidised protein products (AOPP) in dairy cows." Reprod Fertil Dev **23**(4): 527-533.
- Cicconardi, F., G. Chillemi, et al. (2013). "Massive screening of copy number population-scale variation in *Bos taurus* genome." BMC Genomics **14**: 124.
- Chebel, R. C., J. E. P. Santos, et al. (2004). "Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows." Animal Reproduction Science **84**(3): 239-255.
- De Rensis, F. and R. J. Scaramuzzi (2003). "Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow--a review." Theriogenology **60**(6): 1139-1151.
- Dickmann, N. (2012). Dairy. Chicago, Ill., Heinemann Library.
- FAO (2006). Capacity building for surveillance and control of zoonotic diseases : FAO/WHO/OIE Expert and Technical Consultation., Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- FASS (2012). Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching. Champaign, IL., Federation of Animal Sciences Societies.
- Fenwick, M. A., R. Fitzpatrick, et al. (2008). "Interrelationships between negative energy balance (NEB) and IGF regulation in liver of lactating dairy cows." Domest Anim Endocrinol **34**(1): 31-44.
- Ferreira, R. M., H. Ayres, et al. (2011). "The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts." Journal of dairy science **94**(5): 2383-2392.
- Gabor, G., F. Toth, et al. (2008). "Factors influencing pregnancy rate and late embryonic loss in dairy cattle." Reprod Domest Anim **43**(1): 53-58.
- Green, M. P., M. G. Hunter, et al. (2005). "Relationships between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows." Animal Reproduction Science **88**(3): 179-189.
- Gustafsson, H. and K. Larsson (1985). "Embryonic mortality in heifers after artificial insemination and embryo transfer: differences between virgin and repeat breeder heifers." Res Vet Sci **39**(3): 271-274.
- Hardee, G. E., J. A. Smith, et al. (1985). "Pharmacokinetics of flunixin meglumine in the cow." Res Vet Sci **39**(1): 110-112.
- Heins, B. J., L. B. Hansen, et al. (2006). "Production of Pure Holsteins Versus Crossbreds of Holstein with Normande, Montbeliarde, and Scandinavian Red." Journal of dairy science **89**(7): 2799-2804.
- Hyttel, P. (2010). Essentials of domestic animal embryology. Edinburgh ; New York, Saunders/Elsevier.
- Jordan, E. R. (2003). "Effects of Heat Stress on Reproduction." Journal of dairy science **86**: E104-E114.

- Kirby, C. J., W. W. Thatcher, et al. (1996). "Effects of growth hormone and pregnancy on expression of growth hormone receptor, insulin-like growth factor-I, and insulin-like growth factor binding protein-2 and -3 genes in bovine uterus, ovary, and oviduct." Biol Reprod **55**(5): 996-1002.
- Krishnaswamy, N., G. Danyod, et al. (2009). "Oxytocin Receptor Down-Regulation Is Not Necessary for Reducing Oxytocin-Induced Prostaglandin F₂ α Accumulation by Interferon- τ in a Bovine Endometrial Epithelial Cell Line." Endocrinology **150**(2): 897-905.
- Kummerfeld, H. L., E. A. Oltenacu, et al. (1978). "Embryonic mortality in dairy cows estimated by nonreturns to service, estrus, and cyclic milk progesterone patterns." J Dairy Sci **61**(12): 1773-1777.
- Lemaster, J. W., R. C. Seals, et al. (1999). "Effects of administration of oxytocin on embryonic survival in progestogen supplemented cattle." Prostaglandins Other Lipid Mediat **57**(4): 259-268.
- Leroy, J. L., G. Opsomer, et al. (2008). "Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part I. The importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows." Reprod Domest Anim **43**(5): 612-622.
- Lucy, M. C. (2001). "Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End?" J. Dairy Sci. **84**(6): 1277-1293.
- Lucy, M. C., J. Beck, et al. (1992). "Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor I (IGF-I) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period." Reprod Nutr Dev **32**(4): 331-341.
- Mann, G. E., G. E. Lamming, et al. (1999). "The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy." J Reprod Fertil Suppl **54**: 317-328.
- Matsuyama, S., Y. Sakaguchi, et al. (2012). "Relationship between Plasma Progesterone Concentration and Number of Conceptuses and Their Growth in Superovulated Cattle." Journal of Reproduction and Development **58**(5): 609-614.
- Merrill, M. L., R. P. Ansotegui, et al. (2007). "Effects of flunixin meglumine and transportation on establishment of pregnancy in beef cows." J Anim Sci **85**(6): 1547-1554.
- Miciletta, M., B. Cuniberti, et al. (2013). "In vitro enantioselective pharmacodynamics of Carprofen and Flunixin-meglumine in feedlot cattle." J Vet Pharmacol Ther.
- Moreira, F., C. A. Risco, et al. (2000). "Use of Bovine Somatotropin in Lactating Dairy Cows Receiving Timed Artificial Insemination." Journal of dairy science **83**(6): 1237-1247.
- NRC (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Washington, DC., Natl. Acad. Sci.

- Parent, J., C. Villeneuve, et al. (2003). "Influence of Different Isoforms of Recombinant Trophoblastic Interferons on Prostaglandin Production in Cultured Bovine Endometrial Cells." Biology of Reproduction **68**(3): 1035-1043.
- Parr, R. A. (1992). "Nutrition-progesterone interactions during early pregnancy in sheep." Reprod. Fertil. Dev. **4**: 297-300.
- Peters, A. R. B., P.J.H. (2004). Reproduction in Cattle. Oxford, UK, Blackwell Publishing Ltd.
- Plumb, D. C. (2011). Plumb's veterinary drug handbook. Stockholm, Wis. Ames, Iowa, PharmaVet ; Distributed by Wiley.
- Pursley, J. R., R. W. Silcox, et al. (1998). "Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows." J Dairy Sci **81**(8): 2139-2144.
- Rabaglino, M. B., C. A. Risco, et al. (2010). "Use of a five-day progesterone-based timed AI protocol to determine if flunixin meglumine improves pregnancy per timed AI in dairy heifers." Theriogenology **73**(9): 1311-1318.
- Rabiee, A. R., K. L. Macmillan, and F. Schwarzenberger. (2000). "Effect of level of feed intake on plasma progesterone concentrations in deslorelin-implanted dairy cows treated with a CIDR device." J. Anim. Sci. **78**: 221.
- Rekawiecki, R., A. Nowocin, et al. (2010). "Relationship between concentrations of progesterone, oxytocin, noradrenaline, gene expression and protein level for their receptors in corpus luteum during estrous cycle in the cow." Prostaglandins Other Lipid Mediat **92**(1-4): 13-18.
- Riviere, J. E. and M. G. Papich (2009). Veterinary pharmacology and therapeutics. Ames, Iowa, Wiley-Blackwell.
- Robinson, R. S., G. E. Mann, et al. (2000). "The expression of the IGF system in the bovine uterus throughout the oestrous cycle and early pregnancy." J Endocrinol **165**(2): 231-243.
- Senger, P. L. (2005). Pathways to pregnancy and parturition. Pullman, WA, Current Conceptions.
- Smith, M. W. and J. S. Stevenson (1995). "Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F2 alpha and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum." Journal of Animal Science **73**(12): 3743-3751.
- Spencer, T. E. and F. W. Bazer (2004). "Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy." Reprod Biol Endocrinol **2**: 49.
- Spencer, T. E., G. A. Johnson, et al. (2006). "Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses." Reproduction, Fertility and Development **19**(1): 65-78.

- Spencer, T. E., G. A. Johnson, et al. (2004). "Progesterone and Placental Hormone Actions on the Uterus: Insights from Domestic Animals." Biology of Reproduction **71**(1): 2-10.
- Thatcher, W. W., C. R. Staples, et al. (1994). "Embryo Health and Mortality in Sheep and Cattle." Journal of Animal Science **72**(suppl 3): 16-30.
- Thomson, G. M. and A. E. Freeman (1967). "Effects of inbreeding and selection in a closed holstein-friesian herd." J Dairy Sci **50**(11): 1824-1827.
- Tithof, P., M. Roberts, et al. (2007). "Distinct phospholipase A2 enzymes regulate prostaglandin E2 and F2alpha production by bovine endometrial epithelial cells." Reproductive Biology and Endocrinology **5**(1): 16.
- Ulberg, L. C. and P. J. Burfening (1967). "Embryo Death Resulting from Adverse Environment on Spermatozoa or Ova." Journal of Animal Science **26**(3): 571-577.
- Vasconcelos, J. L. M., R. W. Silcox, et al. (1999). "Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows." Theriogenology **52**(6): 1067-1078.
- von Krueger, X. and W. Heuwieser (2010). "Effect of flunixin meglumine and carprofen on pregnancy rates in dairy cattle." J Dairy Sci **93**(11): 5140-5146.
- Walsh, S. W., E. J. Williams, et al. (2011). "A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows." Animal Reproduction Science **123**(3-4): 127-138.
- Walsh, S. W., E. J. Williams, et al. (2011). "A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows." Animal Reproduction Science **123**(3): 127-138.
- Watson, A. J., M. E. Westhusin, et al. (1999). "IGF paracrine and autocrine interactions between conceptus and oviduct." J Reprod Fertil Suppl **54**: 303-315.
- West, J. W. (2003). "Effects of heat-stress on production in dairy cattle." J Dairy Sci **86**(6): 2131-2144.

8.Anexos - 1

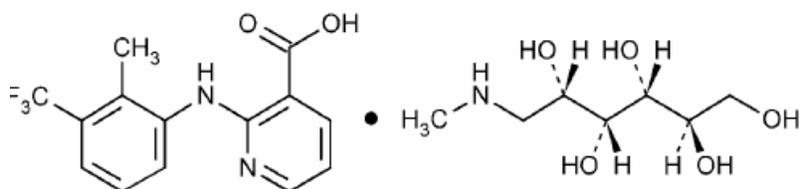


U.S. Pharmacopeia
The Standard of Quality™

USP Certificate

Flunixin Meglumine

LOT H0E241



Molecular Formula

$C_{14}H_{11}F_3N_2O_2 \cdot C_7H_{17}NO_5$

Molecular Weight

491.46

CAS Number

42461-84-7

LABEL TEXT

For use with specified USP-NF Tests.
Not for use as a drug. Read MSDS
before using.



FLUNIXIN MEGLUMINE 300 mg
DANGER! Poison, Irritant

Dry portion at 105° for 4 hours before using. For quantitative applications, use a value of 1,000 mg of flunixin meglumine per mg on the dried basis. Keep container tightly closed.

CAT. NO. 1274607 USP ROCKVILLE, MD LOT H0E241

H0E241



USP certifies that the USP Reference Standards Committee, in accordance with their rules and procedures, determined that this USP Reference Standard lot is suitable to assess compliance with the monograph standards for which it is specified. The critical characteristics of this lot are usually determined independently in three or more laboratories, including USP, FDA, and academic or industrial collaborators.

QA Director