Universidad de La Salle
Ciencia Unisalle

Maestría en Ciencias Veterinarias | Facultad de Ciencias Agropecuarias

1-1-2014

Efecto del meloxicam sobre el porcentaje de preñez en novillas receptoras de embriones

Jaime Enrique Caicedo Albarracín
Universidad de La Salle, Bogotá

Gonzalo González González
Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/maest_ciencias_veterinarias

Citación recomendada

Caicedo Albarracín, J. E., & González González, G. (2014). Efecto del meloxicam sobre el porcentaje de preñez en novillas receptoras de embriones. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/maest_ciencias_veterinarias/35

This Tesis de maestría is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Maestría en Ciencias Veterinarias by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRIA EN CIENCIAS VETERINARIAS

EFECTO DEL MELOXICAM SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ EN NOVILLAS RECEPTORAS DE EMBRIONES

Trabajo de Grado

JAIME ENRIQUE CAICEDO ALBARRACÍN

GONZALO GONZÁLEZ GONZÁLEZ

Trabajo de grado como requisito para optar el título de:

Magister en Ciencias Veterinarias

Bogotá, Colombia

2014

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

EFECTO DEL MELOXICAM SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ EN NOVILLAS RECEPTORAS DE EMBRIONES

Trabajo de Grado

JAIME ENRIQUE CAICEDO ALBARRACÍN

Código 76082211

GONZALO GONZÁLEZ GONZÁLEZ

Código 76082212

Director

JOSÉ LUIS PORRAS VARGAS, M.V.Z, M.Sc.

Bogotá, Colombia

2014

APROBACIÓN

DIRECTOR

_____

José Luis Porras Vargas.

JURADO

_____

Álvaro Suárez Londoño.

JURADO

_____

César Augusto Díaz R.

JURADO

_____

Liliana Chacón Jaramillo.

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD DE LA SALLE

Rector	Hno. Carlos Gabriel Gómez Restrepo
Vicerrector Académico	Hno. Carlos Enrique Carvajal Costa
Vicerrector De Investigación Y Transferencia	Dr. Luis Fernando Ramírez Hernández
Vicerrector De Promoción Y Desarrollo Humano	Hno. Frank Leonardo Ramos Baquero
Vicerrector Administrativo	Dr. Eduardo Ángel Reyes
Decano Facultad de Ciencias Agropecuarias	Dra. Claudia Aixa Mutis Barreto
Secretario Académico	Dr. Alejandro Tobón González
Director De Posgrados	Dr. Ernesto Andrés Dalmau B

COMPROMISO

Los trabajos de grado no contienen ideas que sean contrarias a la doctrina católica en asuntos de dogma y moral.

Ni la Universidad, ni el director, ni el jurado calificador son responsables de las ideas expuestas por el graduando.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por las abundantes bendiciones recibidas y por guiar siempre nuestros pasos.

A nuestros padres por su colaboración y sus oraciones; ellos son nuestro mejor ejemplo de vida y sin duda los forjadores de lo que hoy somos, enseñándonos a sobrepasar todo tipo de obstáculos y a ver lo positivo de las cosas.

A nuestras esposas por su apoyo incondicional, su compañía, su amor y su comprensión.

A nuestras hijitas porque son ellas las que nos impulsan a mejorar como personas y como profesionales cada día más.

La culminación de esta tesis no hubiese sido posible sin el soporte y orientación de muchas personas que han colocado un granito de arena para que hoy pueda ser un sueño hecho realidad.

Además mostrar nuestra total gratitud al director de nuestra tesis Dr. José Luis Porras Vargas por los conocimientos transmitidos y por compartirnos siempre sus experiencias profesionales.

RESUMEN

La manipulación del tracto reproductivo durante la transferencia de embriones (TE) puede contribuir a una pérdida embrionaria temprana a través del incremento prematuro de la concentración luminal de PGF2α en el útero de las vacas. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del meloxicam como inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, aplicado una hora antes a la transferencia del embrión, sobre la tasa de preñez en novillas *Bos indicus x Bos taurus* receptoras de embriones. Para la transferencia de embriones se dispuso de 100 novillas receptoras, las cuales una hora antes de la transferencia, fueron divididas al azar en dos grupos de estudio: el grupo control recibió 5 ml de solución salina fisiológica vía sub-cutánea (sc) y el grupo tratamiento recibió 0.5 mg/kg de meloxicam por vía sc. Todas las novillas fueron transferidas al azar con un embrión congelado calidad 1 o calidad 2 y estadío 4, 5 o 6. El diagnóstico de preñez se realizó 43 días (día 50 de gestación) después de la transferencia por ultrasonografía transrectal. Para analizar los datos se utilizó la prueba de chi cuadrado para tablas de contingencia organizadas por las variables: meloxicam y control, estadío 4, estadío 5 y estadío 6, calidad 1 y calidad 2.

De las 100 receptoras que se transfirieron, 48 se confirmaron como preñadas, la tasa de preñez no presenta diferencias significativas (P>0.05) entre el grupo tratado (52.00%) y el grupo control (44.00%). Al comparar los resultados entre el grupo tratamiento y el grupo control con relación a los embriones calidad 1 y 2 se encontró mayor porcentaje de preñez en el grupo meloxicam 52.27% y 50.00% respectivamente, con relación al grupo control 45.45% y 33.33% respectivamente. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P>0.05).

Al comparar los resultados entre el grupo tratamiento y el grupo control con relación a los estadíos del embrión, 4, 5 y 6, no se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de preñez. En el grupo meloxicam 55.55%, 52.63 y 46.15% respectivamente, con relación al grupo control 46.15%, 55.55 y 00.00% respectivamente (P>0.05 para todos los casos).

Palabras clave: meloxicam, transferencia de embriones, novillas, tasa de preñez.

ABSTRACT

Manipulation of the reproductive tract during embryo transfer (ET) in cows, can contribute to early embryonic loss due to the premature increase in uterine luminal concentration of PGF2α. The aim of this study was to evaluate the effect of meloxicam injected one hour before the embryo transfer, as an inhibitor of the prostaglandin synthesis, on pregnancy rates in *Bos indicus x Bos taurus* recipient heifers.

One hour before the embryo transfer, 100 recipient heifers were randomly divided into two groups: The control received 5 ml of physiological saline solution subcutaneously (sc) and the treatment group received 0,5mg/kg of meloxicam sc. All heifers were randomly transferred with a frozen quality 1 or 2 and stage 4, 5, ore 6 embryo. Pregnancy diagnosis was performed 43 days (day 50 of gestation) after the transfer, using transrectal ultrasonography. Chi-square test was the test used to analyze data. The contingency tables were organized by variables: meloxicam and control groups; stage 4, stage 5 and stage 6 embryos; and quality 1 or quality 2 embryos.

48 of the 100 recipients were confirmed to be pregnant. Pregnancy rates did not differ significantly (P>0.05) between meloxicam group (52.0%) and control group (44.0%). Pregnancy rates with quality 1 and 2 embryos, were higher at meloxicam group (52.27% and 50.0% respectively), when comparing with control group (45.45% and (33.33% respectively). However this difference was not statistically significant (P> 0.05). On the other hand, pregnancy rates with stage 4, 5, and 6 embryos did not differ significantly between meloxicam group (55.55%, 52.63% and 46.15%

respectively) and control group (46.15%, 55,55% and 00.0% respectively) (P>0.05% for all cases).

Key words: meloxicam, embryo transfer, heifers, pregnancy rate.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN 1

2. MARCO TEÓRICO 5

2.1 Transferencia de embriones 5

2.1.1 Historia 5

2.1.2 Estadística mundial 6

2.1.3 Tasa de preñez 9

2.1.4 Características de las receptoras 9

2.1.5 Características de las donadoras de embriones 11

2.2 Proceso inflamatorio 15

2.3 Prostaglandinas 15

2.3.1 Historia de las prostaglandinas 15

2.3.2 Farmacología de las prostaglandinas 16

2.3.3 Biosíntesis de prostaglandinas 17

2.3.4 Farmacodinamia de las prostaglandinas 19

2.3.5 Las prostaglandinas y el sistema reproductor 19

2.4 Antiinflamatorios no esteroidales (AINEs) 22

2.4.1 Clasificación de los AINEs 23

2.4.2 Mecanismo de acción de los AINEs 23

2.4.3 Meloxicam 27

2.4.4 Estudios relacionados con la aplicación de inhibidores de prostaglandinas en reproducción..... 30

3. METODOLOGÍA..... 36

3.1 Localización..... 36

3.2 Población y muestra 37

3.3 Métodos y procedimientos..... 38

3.3.1 Vacas donadoras de embriones..... 38

3.3.2 Novillas Receptoras 42

3.3.3 Diagnóstico de preñez..... 43

3.3.4 Análisis estadístico..... 43

4. RESULTADOS 44

4.1 Resultado general de preñez 44

4.2 Efecto de la calidad del embrión sobre el porcentaje de preñez según tratamiento 45

4.3 Efecto del estadío del embrión sobre el porcentaje de preñez según tratamiento 47

5. DISCUSIÓN 50

6. CONCLUSIONES..... 55

7. LISTA DE REFERENCIAS 56

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Embriones bovinos producidos *In vivo* año 2010 en el mundo..... 7

Tabla 2. Embriones producidos *In vitro* en el 2010 en el mundo..... 8

Tabla 3. Clasificación química de los fármacos AINEs. 24

Tabla 4. Porcentaje general de preñez. 44

Tabla 5. Porcentaje de preñez de acuerdo con la calidad del embrión congelado según tratamiento..... 45

Tabla 6. Porcentaje de preñez de acuerdo con el estadío del embrión congelado según tratamiento..... 47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Biosíntesis de las prostaglandinas (Tomado de http://www.Prostaglandina .com) 18

FIGURA 2. Mecanismo de acción de los AINEs (Adaptado de Paksoy y Daş, 2013) 27

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Resultado general de preñez. 45

Gráfico 2. Porcentaje de preñez con embriones congelados calidad 1 según tratamiento 46

Gráfico 3. Porcentaje de preñez con embriones congelados calidad 2 según tratamiento. 46

Gráfico 4. Porcentaje de preñez con embriones congelados estadío 4 según tratamiento. 48

Gráfico 5. Porcentaje de preñez con embriones congelados estadío 5 según tratamiento. 48

Gráfico 6. Porcentaje de preñez con embriones congelados estadío 6 según tratamiento 49

LISTA DE ABREVIATURAS

Sigla	Inglés	Español
AA	Arachidonic acid	Ácido araquidónico
AINEs	Nonsteroidal anti-inflammatory	Antiinflamatorios no esteroidales
CC	Body condition	Condición Corporal
CL	Luteal body	Cuerpo Lúteo
cm	centimeter	centímetro
COX	Cyclooxygenase	Ciclooxigenasa
ET	Embryo transfer	Transferencia de embriones
FM	Flunixin meglumine	Flunixin meglumine
FSH	Follicle stimulating hormone	Hormona folículo estimulante
GnRH	Gonadotropin releasing hormone	Hormona liberadora de gonadotropinas
IETS	International Embryo Transfer Society	Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones
IM	Intramuscular	Intramuscular
Kg	Kilogram	Kilogramo
Km^2	Square Kilometer	Kilómetro cuadrado
mg	milligram	miligramo
ml	millilitre	mililitro
P4	Progesterone	Progesterona
PG	Prostaglandin	Prostaglandina
PGF2α	Prostaglandin F2alpha	Prostaglandina F2alfa
PIV	*In vitro* produced	Producido *In vitro*

sc	Subcutaneous	Subcutánea
TXA2	Thromboxane A2	Tromboxano A2
U.I.	International units	Unidades Internacionales
µg	micrograms	microgramos

1. INTRODUCCIÓN

La transferencia de embriones es la técnica más difundida en el mundo para multiplicar rápidamente la genética de elite. La industria de la transferencia de embriones ha sufrido grandes cambios en un corto período (Mapletoft et al., 1996 citado en Palma, 2008, cap. 8). Uno de los grandes inconvenientes que se presentan en los programas de transferencias de embriones es el manejo de las receptoras (Bó et al., 1996 citado en Palma, 2008, cap. 8). El éxito de cualquier programa de transferencia de embriones está condicionado por una sumatoria de factores, dentro de los cuales las receptoras juegan un papel trascendente tanto en el resultado físico del porcentaje de preñez logrado como el resultado económico final del programa (Palma, 2008, cap. 8).

Uno de los costos económicos más altos de la transferencia de embriones es la consecución y el mantenimiento de las receptoras. Las hembras receptoras que resultan preñadas tras la primera transferencia son más rentables que aquellas que requieren dos o tres transferencias y especialmente más económicas que aquellas que deben ser sacrificadas por no quedar preñadas. Los costos de alimentación, de sincronización y de transferencia van incrementando con cada transferencia no exitosa (Looney et al., 2006).

Las tasas de preñez por transferencia de embriones, reportadas en Colombia no superan el 50%, comparadas con porcentajes de EEUU y Europa del 80%

(Gómez, 2005). Tasas de preñez superiores a 50% han sido obtenidas en centros comerciales, transfiriendo embriones de calidad buena-excelente a receptoras seleccionadas cuidadosamente (Hasler et al., 1995 citado en Palma, 2001, cap. 9).

Oyuela y Jiménez (2010), emplearon el método usado por Kafi y McGowan (1997) para agrupar los factores que afectan la preñez en programas de transferencia de embriones producidos *In vitro* en intrínsecos y extrínsecos. Dentro de los factores extrínsecos describen los ambientales, de manejo y administrativos y nutricionales. Dentro de los factores intrínsecos consideran el diámetro del cuerpo lúteo, factores asociados al embrión, estado de desarrollo del embrión, toros utilizados en la producción de los embriones y dificultad al momento de la transferencia.

Otros autores, han demostrado que factores como estrés calórico, nutrición, mastitis y manipulación del tracto reproductivo, pueden contribuir a una pérdida embrionaria temprana a través del incremento prematuro de la concentración luminal de PGF2α en el útero de las vacas. (Dunlap y Vincent 1971; Seguin, Morrow y Louis, 1974 y Roberts et al., 1975 citado en Seals et al., 1998) (Putney et al., 1989; Malayer et al., 1990; Butler, 1998; Hockett et al., 2000; Wann y Randel, 1990 y Vélez y Randel, 1991 citado en Scenna et al., 2004).

Esto fue corroborado por Scenna et al. (2005), quienes demostraron que la manipulación del tracto reproductivo durante la transferencia de embriones fue seguida por un incremento en la liberación de PGF2α por el endometrio uterino. No obstante esta liberación de prostaglandina puede no resultar en luteólisis, la supervivencia embrionaria puede estar comprometida por la presencia de pequeñas concentraciones de ésta en el lumen uterino, creando un “ambiente hostil” para el

desarrollo embrionario. Schrick et al. (1993 citado en Scenna et al., 2004) reportaron que la calidad embrionaria en vacas de carne tendía a tener una correlación negativa con la concentración luminal de prostaglandina elevada en el útero. Además, se ha demostrado que la adición de PGF2α al medio de cultivo inhibe el desarrollo embrionario *In vitro* de conejos (Maurer, Beier, 1976 citado en Scenna et al., 2004) y ratas (Breuel, Fukuda, Schrick, 1993 citado en Scenna et al., 2004). En diversos estudios, la administración de PGF2α entre los días 5 y 8 después de la inseminación artificial en vacas suplementadas con progestágenos ha resultado en reducidas tasas de preñez y desarrollo retardado en los embriones (Buford et al., 1996, Hockett, Rohrbach, Schrick, 1998 y Lemaster, 1999 citado en Scenna et al., 2004). Estos autores sugieren una acción directa y/o indirecta de la PGF2α sobre la supervivencia embrionaria en la vaca.

Con base en estos descubrimientos se han realizado diversos estudios con antiinflamatorios para disminuir los efectos nocivos de la PGF2α y así aumentar las tasas de preñez en animales receptores de embriones. Elli et al. (2001) encontraron que la administración de ibuprofeno, como inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, a novillas receptoras de embriones, una hora previa a la transferencia incrementó las tasas de preñez en un 26%. Scenna et al. (2005) demostraron que la administración de flunixin meglumine en el momento de la transferencia, mejora las tasas de preñez (tratamiento 65%, control 60%; $P < 0.02$), inhibiendo los efectos nocivos de la PGF2α sobre los estadios tempranos de los embriones.

Este trabajo es una investigación práctica aplicada a nivel de campo en una zona tropical húmeda que pretende establecer un protocolo con la utilización de

meloxicam para aumentar el porcentaje de preñez en las transferencias de embriones en novillas receptoras *Bos indicus por Bos taurus*, buscando un beneficio económico para los productores y una mejora en los resultados para los profesionales.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, se planteó la siguiente hipótesis general: La administración de un AINEs como agente antiprostaglandínico en novillas *Bos indicus x Bos taurus*, receptoras de embriones, evita el efecto deletéreo de las prostaglandinas y mejora la tasa de fertilidad.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Transferencia de embriones

Una de las estrategias biotecnológicas más importantes en producción bovina para tratar de alcanzar elevados estándares de calidad y eficiencia la constituye la transferencia de embriones ya que permite multiplicar la descendencia de las hembras, especialmente las de excelente calidad genética, acortando simultáneamente el intervalo generacional (Hafez y Hafez, 2002). El objetivo de la transferencia de embriones es obtener a partir de progenitores de alto mérito genético, el mayor número posible de descendientes utilizando el útero de receptoras de menor valor económico para llevar la gestación a término (Palma, 1993, cap. 5).

2.1.1 Historia

La primera transferencia quirúrgica con éxito en bovinos fue lograda por Willet et al. (1951 citado en Palma, 2001, cap. 9). Los autores practicaron la cirugía bajo anestesia general, con el animal en posición decúbito dorsal y por la línea media. Avery et al. (1962 citado en Palma, 2001, cap. 9) simplificaron la técnica quirúrgica transfiriendo los embriones a la receptora en pie y por el flanco.

La primera transferencia no quirúrgica con éxito en bovinos fue lograda por Mutter et al. (1964 citado en Palma, 2001, cap. 9), atravesando el cérvix con una pipeta de inseminación. El éxito fue precedido, sin embargo, de muchos fracasos

como consecuencia, aparentemente, de infecciones y contracciones uterinas provocadas en el intento.

La aplicación comercial de esta biotecnología fue desarrollada en la década de los 70. Si bien se experimentó desde los años 30, en cabras y ovejas, la mayor utilidad se obtuvo a partir de los años 50 cuando se realizaron ensayos exitosos en bovinos y cerdos (Garzón, Urrego y Giraldo, 2007).

El procedimiento de la transferencia de embriones no quirúrgica tiene la desventaja frente al quirúrgico de requerir destreza, experiencia y particularmente mucho cuidado en la manipulación del catéter en el cuerno y el cuerpo del útero. El trauma provocado, especialmente en el endometrio, puede provocar la liberación de prostaglandinas. Estas pueden causar respuesta inflamatoria, disminución de los niveles de progesterona (P4) y aumento de la contractilidad uterina, que interfieren con la vida media del cuerpo lúteo y en consecuencia con la sobrevida del embrión. Con el aumento del tiempo de manipulación también se incrementa el efecto traumático de la transferencia, cuando la maniobra de transferencia dura más de tres minutos (Gordon, 1976 citado en Palma, 2001, cap. 9).

2.1.2 Estadística mundial

El número de embriones bovinos producidos *In vivo* colectados/lavados en el mundo aumentaron de 702000 en el 2009 a 732000 en el 2010. Consecuentemente, el número de embriones bovinos producidos *In vivo* que se transfirieron, creció de 534000 en 2009 a 591000 en 2010. Todos los continentes excepto África, reportaron un incremento significativo en el número de embriones producidos *In vivo* que se transfirieron. El número de embriones congelados producidos *In vivo* transferidos a

receptoras sobrepasó en 60000 a los transferidos en fresco (328000 congelados y 263000 frescos). Esta tendencia ha sido constante desde mediados de los noventas (IETS, 2011).

En el mundo, se lavaron 61000 donadoras tipo carne y 43000 tipo leche. Estos números no son muy precisos, ya que los datos de las transferencias europeas no discriminan donadoras en tipo carne o tipo leche (IETS, 2011)

El número total de embriones bovinos producidos *In vitro* (PIV) alrededor del mundo fue de 451000 en 2010 comparado con 377000 en el 2009. Esto representa un incremento de 19.7%. Sur América (principalmente Brasil) nuevamente lidera globalmente la producción y transferencia de embriones PIV. El número de embriones PIV transferidos en el mundo en el 2010 fue de 339685, lo que representa un incremento del 11% respecto del año anterior. Incluyendo los embriones *In vivo* e *In vitro*, frescos y congelados, hubo un aumento de 149453 en embriones bovinos transferidos en el 2010 (990993), comparado con el 2009 (IETS, 2011).

Tabla 1. Embriones bovinos producidos *In vivo* año 2010 en el mundo.

CONTINENTES	**Lavados**	**Embriones transferibles**	**Número de embriones transferidos**			
			FRESCOS	CONGELADOS	TOTAL Y PORCENTAJE	
AFRICA	1515	9738	4685	3730	8415	1.42%
ASIA	12986	131718	34148	53590	87738	14.86%
EUROPA	17694	117813	48555	60859	109414	18.53%
N. AMÉRICA	51735	338540	106400	147271	253671	42.95%
S. AMÉRICA	12263	77643	47353	24205	71558	12.12%
OCEANÍA	8458	56775	21895	37870	59765	10.12%
TOTAL	104651	732227	263036	327525	590561	100.00%
Totales 2009	103851	702358	243495	290605	534100	
Cambio	+0.77%	+4.25%	+8.03%	+12.70%	+10.57%	

Fuente: IETS, 2011

Para el 2010, en Sur América reportaron cuatro nuevos países: Colombia, Ecuador, Perú y Panamá (Datos recopilados por Bó). Los reportes de Sur América incluyen también a Brasil (Viana), Panamá (Nasser), Perú (Mancheno) y Uruguay (Bañalas y Kmaid). Para Sur América, Bó reportó un modesto incremento en el número de lavados entre el 2009 (11634) y el 2010 (12263), pero un incremento sustancial en el número de transferencias de embriones producidos *In vivo* (21%). Esto indica que Sur América transfirió más del 12% de los embriones *In vivo* en el mundo. De estos embriones en Brasil se transfirieron 38975, en Argentina 24263, en Uruguay 3402, en Colombia 2890, en Ecuador 675 y en Perú 108; Panamá sólo reportó embriones PIV. Globalmente en el 2010 se transfirieron más embriones producidos *In vivo* congelados (327525) que embriones producido *In vivo* frescos (263036). Ésta estadística es válida para cada continente, excepto para Sur América donde se transfirieron el doble de embriones frescos que congelados. La razón aparente para esta situación es la gran cantidad de receptoras disponibles en Brasil y Argentina (IETS, 2011).

Tabla 2. Embriones producidos *In vitro* en el 2010 en el mundo.

CONTINENTES	**Embriones transferibles**	**Número de embriones transferidos**			
		FRESCOS	CONGELADOS	TOTAL Y PORCENTAJE	
AFRICA	0	0	0	0	0.00%
ASIA	116614	15993	6510	22503	6.62%
EUROPA	7155	3412	2249	5661	1.67%
N. AMÉRICA	43058	25778	2322	28100	8.27%
S. AMÉRICA	268310	256888	12235	269123	79.23%
OCEANÍA	15012	13644	654	14298	4.21%
TOTAL	450549	315715	23970	339685	100.00%
Totales 2009	376576	283188	22761	305949	
Cambio	+19.64%	+11.49%	+5.31%	+11.03%	

Fuente: IETS, 2011

2.1.3 Tasa de preñez

La tasa de preñez con embriones obtenidos *In vivo* e *In vitro* es de 40% - 70% y 30%-50% respectivamente (Schneider et al 1980; Mcevoy y Sreenan, 1990; Liebrich, 1991; Greve et al., 1993, Wurth et al., 1994; Wright y Ellington, 1995; Faring y Farin, 1995; Hasler et al., 1995; Reiners et al., 1995; Galli y Lazzari, 1996; Rommel, 1996; Merton, 1997; Aller et al., 2000 citado en Palma, 2001, cap. 9). La tasa de preñez obtenida con embriones producidos *In vitro* es aún baja y varía entre 10% y 40% (Reinders et al, 1995; Hasler et al., 1995; Galli y Lazzari, 1996; Holm et al, 1996; Merton, 1997; Schernthaner et al., 1999 citado en Palma, 2001, cap. 9). Tasas de preñez superiores a 50% han sido obtenidas en centros comerciales, transfiriendo embriones de calidad buena-excelente a receptoras seleccionadas cuidadosamente (Hasler et al., 1995 citado en Palma, 2001, cap. 9).

2.1.4 Características de las receptoras

Uno de los grandes inconvenientes que se presentan en los programas de transferencia de embriones es el manejo de las receptoras (Bó et al., 1996 citado en Palma, 2008, cap. 8). Estas pueden ser seleccionadas por un programa de detección de celos naturales o de celos inducidos mediante tratamientos hormonales. Independientemente del método utilizado, es importante tener una buena precisión en la detección de los celos, debido a que este aparece como un factor clave y uno de los que más afecta el costo de manutención de una receptora desde que entra al programa hasta que queda preñada (Bó et al., 1996; Beal y Hinshaw, 2001 citado en Palma, 2008, cap. 8). El éxito de cualquier programa de transferencia de embriones está condicionado por una sumatoria de factores, dentro de los cuales las receptoras

juegan un papel trascendente tanto en el resultado físico del porcentaje de preñez logrado como el resultado económico final del programa (Palma, 2008, cap. 8).

Uno de los costos económicos más altos de la transferencia de embriones puede ser la consecución y el mantenimiento de las receptoras. Las hembras receptoras que resultan preñadas tras la primera transferencia son lógicamente más rentables que aquellas que requieren dos o tres transferencias y especialmente más económicas que aquellas que deben ser sacrificadas por no quedar preñadas. Los costos de alimentación, de sincronización y de transferencia van incrementando con cada transferencia no exitosa (Looney et al., 2006).

Los puntos críticos que se deben considerar para el manejo de las receptoras son: (Revisado en Palma, 2008, cap. 8)

- Biotipo: la receptora debe estar adaptada al ambiente donde tenga que gestar y alimentar a la cría, otro factor a tener en cuenta es la producción de leche del biotipo elegido, que garantice la óptima alimentación de la cría.
- Alimentación-Nutrición: la condición corporal (CC) es el reflejo de las reservas de grasa del animal, se ha demostrado que las tasas de preñez son significativamente mayores en las receptoras cuya (CC) es de 3 y 4 en la escala de 1 a 5.
- Sanidad: se recomienda establecer un estricto programa de vacunación contra las principales enfermedades reproductivas presentes en el establecimiento y en la zona.
- Sincronización: la detección de celos es uno de los puntos fundamentales en un programa de transferencia de embriones. Los métodos para mejorar la eficiencia

en la detección de celos incluye, sincronización de celos, mejorar la observación y uso de dispositivos que ayuden a la detección.

- Sincronía donante-receptora: Moreno et al. (1999 citado en Palma, 2008, cap. 8) demostraron que si es necesario y se tienen embriones frescos se puede llegar a transferir embriones en receptoras que están entre el día 5 y 9 del ciclo, pero hay una disminución de preñez cuando se alejan de las 36 horas de asincronía en relación a la donante.
- Cuerpo lúteo y porcentaje de preñez: la preñez es significativamente menor cuando el cuerpo lúteo es clasificado como malo (Hasler et al., 1987 citado en Palma, 2008, cap. 8).
- Método de transferencia: según Palma (2008) hay veterinarios que han comenzado a transferir embriones con la técnica quirúrgica y no quieren dejarla porque tienen muy buenos resultados de preñez con relación a la técnica no quirúrgica, pero se cree que estas diferencias se deben más a la habilidad de cada uno que a la misma técnica en sí.
- Frecuencia de utilización: conocer los antecedentes reproductivos de las receptoras ayuda a hacer más eficiente el programa de transferencia.

2.1.5 Características de las donadoras de embriones

En los programas de superovulación y transferencia de embriones, se hallan una variedad de criterios y razones para elegir las hembras donantes, la selección de éstas debe estar de acuerdo a las necesidades y tendencias del mercado. Aunque

cada productor tenga sus propias razones, hay que tener muy en cuenta el retorno de la inversión.

> Dentro de los criterios técnicos se considera: que las vacas donantes deben tener un mínimo de 50 días posparto, estar ciclando normalmente, y estar en un plano de nutrición adecuado, sin tener deficiencias nutricionales específicas. Algunos recomiendan el uso de minerales traza como suplementos antes de la superovulación, y aunque aparentemente no hay datos científicos, el uso de minerales quelados es recomendable para mejorar la respuesta superovulatoria y la producción de embriones. Las donantes no deberían tener historia o evidencia física de infertilidad. Además, es importante resaltar que vacas (o hijas de vacas) con historia de superovulaciones exitosas o partos gemelares, tienen mayor posibilidad de responder bien al tratamiento (Colazo y Mapletoft, 2007).

La respuesta superovulatoria y la producción de embriones viables por vaca donante es el resultado de un gran número de factores entre los que se encuentran factores relacionados al tratamiento superovulatorio, factores individuales y factores relacionados con el ambiente (Mapletoft y Murphy 1987 citado en Palma, 1993, cap. 5).

2.1.6 Recolección de embriones por el método quirúrgico

La técnica quirúrgica requiere anestesia general, inducida por medio de barbitúricos y mantenida por medio de inhalación (halotano), con una incisión de 15 cm de longitud en la línea media por delante de la glándula mamaria, se extraían los

cuernos uterinos con los ovarios. El lavaje de los cuernos y oviductos se llevaba a cabo el día 5-7 introduciendo catéteres de goma a través de la pared dorsal del cuerno uterino y en la ampolla del oviducto. Cada cuerno era lavado con volúmenes variables de 40-60 ml de una solución buffer. La manipulación quirúrgica del útero y de los ovarios conduce a lesiones que provocan formación de fibrina y adherencias. Para minimizar ese efecto fue necesario que los profesionales o técnicos trabajaran con buenas condiciones de asepsia, lavando el útero y los órganos adyacentes con solución fisiológica estéril, conteniendo heparina. Con estas precauciones era posible llevar a cabo el lavado a una vaca sólo tres veces como máximo, la tasa de éxito varió entre 50% y 70% de embriones y ovocitos obtenidos, en función del número de cuerpos lúteos presentes (Revisado en Palma, 2001, cap. 7).

Avery et al., (1962 citado en Palma, 2001, cap. 9) simplificaron la técnica quirúrgica transfiriendo los embriones a la receptora en pie y por el flanco. A fin de determinar a priori que cuerno era el ipsilateral a la ovulación, se procedió a palpar previamente a las receptoras. La elección del flanco a incidir lo determina el ovario ovulado; para ésta época aún no se superovulaba, por tanto era importante esta palpación y la determinación del cuerno a lavar.

El embrión puede ser transferido con una pipeta Pasteur o pajilla plástica (0.25 – 0.50 ml). La sutura se hace según los métodos de rutina. La preñez con esta técnica varía entre 70% - 80%, con embriones frescos (Baker et al., 1984, Takeda et al., 1986 citado en Palma, 2001, cap. 9) y aproximadamente 10% menos con embriones congelados (Palma, 2001, cap. 9).

2.1.7 Recolección de embriones por métodos no quirúrgicos

La oportunidad de colocar en la especie bovina la sonda a través del cérvix abrió nuevas posibilidades a la recolección de embriones, simplificando el procedimiento y disminuyendo el trauma uterino. En la actualidad se emplean catéteres rígidos y flexibles de 2 y 3 vías (Palma, 2001, cap. 9).

Existen 3 métodos de recolección:

- Circuito cerrado con flujo continuo: con este método se emplean catéteres de 3 vías rígidos o flexibles, una vía destinada a la inyección del medio de lavaje, por la segunda vía se inyecta aire o medio para llenar el balón y por medio de una tercera vía se recolecta la solución de lavaje, sin interrumpir la descarga (Elsen, 1976 y Greve et al., 1977 citado en Palma 2001, cap. 7)
- Circuito cerrado con flujo discontinuo: Con este método se usa el catéter de 2 vías, una válvula automática o manual, una unión de vidrio o plástico en forma de **T** o **Y** las mangueras conductoras, la válvula que se coloca a la salida del frasco permite extraer el medio e inyectarlo en el interior del cuerno uterino, luego de la inyección de un volumen variable de medio (30-50 ml) se interrumpe el flujo de llenado para proceder a vaciar el cuerno por la misma vía que conduce al frasco recolector (Brand y Hoogekamp, 1982 citado en Palma 2001, cap. 7).
- Circuito abierto con flujo discontinuo: Inyección y recolección con una jeringa, esta técnica se emplea con los catéteres flexibles de 2 vías y no requiere de mangueras conductoras, el medio se inyecta y recolecta por la misma vía y con la misma jeringa (50 ml) (citado en Palma 2001, cap. 7).

2.2 Proceso inflamatorio

El proceso inflamatorio es una de las situaciones patológicas básicas y, por tanto, se describe en los tratados médicos más antiguos de la historia de la humanidad. El escritor romano Cornelius Celsus propuso una definición descriptiva de la inflamación que aún se utiliza hoy día: *rubor et tumor cum calore et dolore.* Éstos son los cuatro signos cardinales de la inflamación, rubor, tumor, calor y dolor, a los que después (siglo XIX) se añadiría la pérdida de la función (Botana, Landoni y Martín-Jiménez, 2002, cap. 28).

La inflamación ocurre en el organismo en respuesta a una lesión en los tejidos causada por un trauma físico, biológico o químico. Los objetivos de este proceso son contrarrestar la lesión removiendo o desprendiendo la causa y reparar o reemplazar el tejido dañado (Wanamaker y Lockett, 2009, cap. 14).

El daño celular (fundamentalmente de la membrana celular) producido por cualquiera de los traumas anteriormente mencionados (estímulos inflamatorios), desencadena la liberación de diversos mediadores químicos que pueden iniciar o prolongar la respuesta inflamatoria. Estos mediadores incluyen: prostaglandinas, leucotrienos, histaminas, citocinas y otros (Wanamaker y Lockett, 2009, cap. 14). La mayoría de los mediadores inflamatorios identificados actualmente tienen su origen en los componentes fosfolípidos de las membranas celulares, que se liberan como consecuencia de la destrucción de las mismas (Botana et al., 2002, cap. 28).

2.3 Prostaglandinas

2.3.1 Historia de las prostaglandinas

En 1930, Kurzrok y Lieb observaron que el semen humano era capaz de inducir contracciones y relajaciones en el útero aislado. Posteriormente, Goldblat y Von Euler Descubrieron en 1933 y 1934, respectivamente, que dichas contracciones eran inducidas también por un ácido graso proveniente de la próstata de los carneros, por lo que le dieron el nombre de prostaglandinas (Sumano y Ocampo, 2001, cap. 46).

Su importancia biológica permaneció incierta durante varios decenios, hasta que en 1962 se aislaron en forma cristalina las prostaglandinas de las series E y F (PGE Y PGF) (Sumano y Ocampo, 2001, cap. 46).

2.3.2 Farmacología de las prostaglandinas

Las prostaglandinas, los tromboxanos y los leucotrienos son los principales miembros de una variada familia de derivados de ácidos grasos endógenos sintetizados a partir de los fosfolípidos de la membrana celular en prácticamente todos los tipos de células de los mamíferos. A estos compuestos y a sus derivados se les denomina colectivamente eicosanoides, porque los ácidos grasos precursores tienen el prefijo -eicosa- en su nomenclatura química. Los efectos biológicos de los eicosanoides parecen abarcar prácticamente todas las actividades corporales, incluidas varias funciones reproductoras, control de la presión sanguínea, función renal, formación del trombo, inflamación y muchas más. Se sabe que la interacción con el sistema de las prostaglandinas constituye un importante mecanismo de acción farmacológica de algunos agentes terapéuticos como la aspirina y otros fármacos antiinflamatorios no esteroides (Adams, 2003, cap. 21).

2.3.3 Biosíntesis de prostaglandinas

Los eicosanoides, como las prostaglandinas y los leucotrienos, son derivados con cadenas de 30 carbonos de las membranas celulares. Estos compuestos se sintetizan cuando el oxígeno reacciona con los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de la membrana celular. El más importante de estos ácidos grasos es el ácido araquidónico (AA) que se libera dentro de la célula a partir de membranas celulares lesionadas. Una vez en el interior de la célula, el AA sirve de sustrato para enzimas que generan productos intermedios y finales (Weissman, 1991, Robinson, 1989 citado por Adams, 2003, cap. 22). Este ácido es el precursor de los eicosanoides más importante, es un ácido graso de 20 carbonos con 4 dobles enlaces en los carbonos 5, 8, 11 y 14, que forma parte de los fosfolípidos de las membranas celulares y cuya conversión en prostaglandinas y otros autacoides comienza con la liberación del mismo de las membranas celulares por medio de la fosfolipasa A2 o una combinación de fosfolipasa C y diglicérido lipasa (Botana et al., 2002, cap. 28). Las prostaglandinas en sí se originan de diversos estímulos físicos, químicos, hormonales y neurohormonales, dichos estímulos transforman el ácido en dos líneas principales de prostaglandinas (Sumano y Ocampo, 2001, cap. 9):

- Los derivados de las lipooxigenasas, como el ácido 12-hidroperoxiaraquidónico (HPETE) y su derivado, el ácido 12-hidroxiaraquidónico (HETE), cuyas acciones son del orden inmunitario y activación de macrófagos.
- Los derivados de las ciclooxigenasas, que dan lugar a las prostaglandinas de las series E, F, G y H, además del TXA2 y la PGI2, por acción del tromboxano y la sintetasa de prostaciclina, respectivamente. Las ciclooxigenasas (prostaglandina sintasa o prostaglandina H sintasa), presentes en todas las células, adicionan

oxígeno al AA, generando endoperóxidos de prostaglandina (PGG2) inestables. Las subsiguientes reacciones de las peroxidasas convierten la PGG2 en PGH2, precursora de todas las demás prostaglandinas y tromboxanos. El producto final depende de la presencia de isomerasas específicas (Robinson, 1989 citado por Adams, 2003, cap. 22). Dicha secuencia se esquematiza en la figura 1.

Aunque todos los tejidos tienen capacidad para producir los productos finales de las ciclooxigenasas, su concentración varía con el tipo y cantidad de las isomerasas individuales (Robinson, 1989 citado por Adams, 2003, cap. 22).

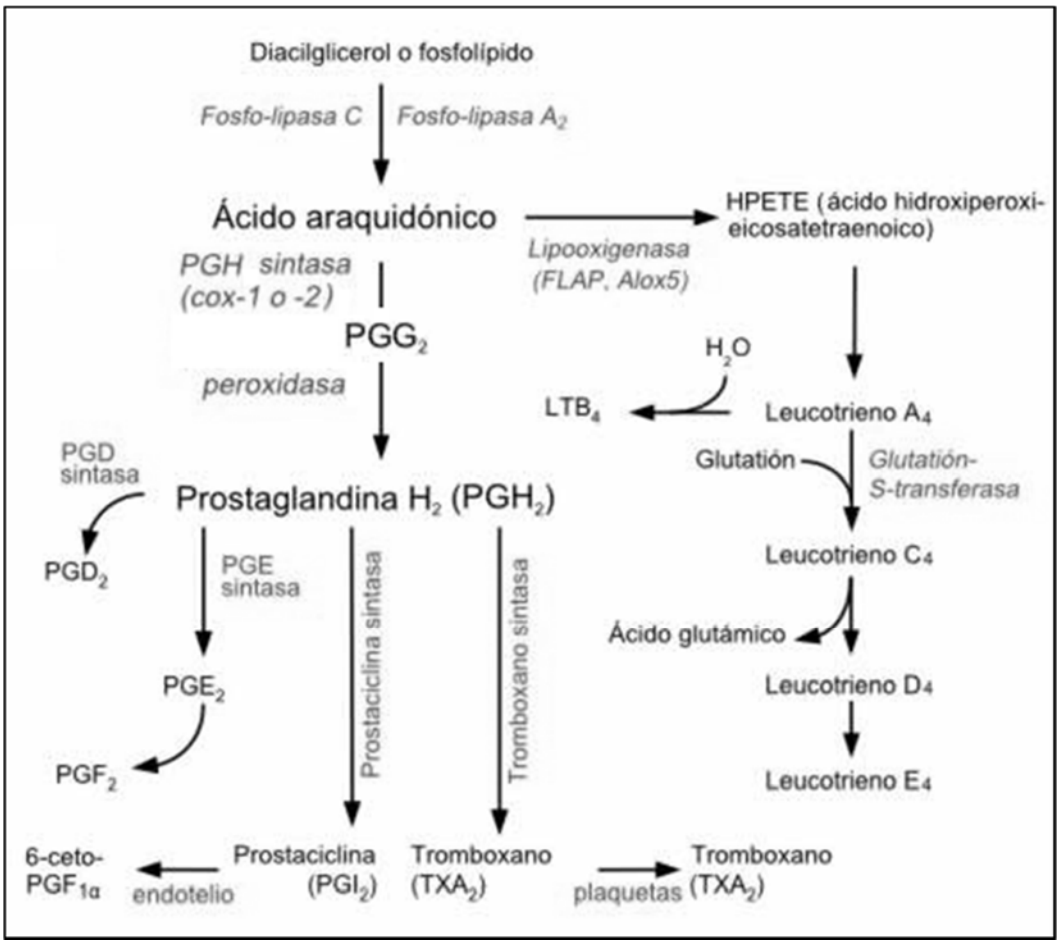

Figura 1. Biosíntesis de las prostaglandinas (Adaptado de http://www.Prostaglandina .com)

2.3.4 Farmacodinamia de las prostaglandinas

Al igual que todas las hormonas peptídicas y las catecolaminas, las prostaglandinas transmiten su mensaje hormonal utilizando el modelo de receptor móvil dentro de la membrana. Se postula que la prostaglandina se acopla a su receptor de membrana celular, y que induce en éste un cambio electromagnético que le permite desplazarse entre las dos capas fosfolipídicas de la membrana, hasta acoplarse con la enzima adenilciclasa que se encuentra normalmente incluida en la membrana.

El complejo prostaglandina-receptor-adenilciclasa induce la activación de AMPc, en un proceso que exige gasto de energía. El AMPc actúa como segundo mensajero dentro de la célula, de modo que activa los sistemas enzimáticos de las proteincinasas; esto da lugar a la respuesta fisiológica de la célula. Dicha respuesta puede incluir la síntesis de esteroides u hormonas polipeptídicas, alteraciones en la permeabilidad y aumento de la actividad linfocítica. El efecto del AMPc está limitado por procesos de biotransformación llevados a cabo por la enzima fosfodiesterasa en presencia de iones magnesio. Antes de ser metabolizado, el AMPc promueve la liberación de prostaglandina, con lo cual se establece una retroalimentación positiva a nivel celular. (Sumano y Ocampo, 2001, cap. 46).

2.3.5 Las prostaglandinas y el sistema reproductor

El ciclo estral es dependiente de la acción del endometrio (epitelio luminal y glandular superficial), si se tiene en cuenta que este es la fuente del factor antiluteal (PGF2α) cuando la vaca no se encuentra preñada o cuando no se reconoce su preñez (Barnea, Choi y Leavis, 2000 citado en Tovío, Duica y Grajales, 2008). Al final

de cada ciclo estral hacia el día 16 - 17 el CL sufre luteólisis por la acción de la PGF2α, la cual es producida por el epitelio endometrial y vertida a la vena uterina, de donde por difusión pasa a la arteria ovárica y por contracorriente alcanza al cuerpo lúteo en donde se une a receptores ubicados en las células luteales (Lessey et al., 1996 citado en Tovío et al., 2008). Allí por eventos intracelulares se desencadena la muerte de las células por apoptosis (Roberts, 2007 citado en Tovío et al., 2008).

Además de producir luteólisis, la PGF2α también causa contracciones de la musculatura lisa uterina. Puesto que las concentraciones sanguíneas de PG aumentan durante el parto, se considera que la PGF2α liberada es un factor importante para la lisis del cuerpo lúteo antes del parto, suprimiendo el bloqueo de la progesterona e incluso induciendo las contracciones uterinas durante el parto. El mecanismo de la luteólisis mediada por PGF2α incluye un efecto antiesteroideo por activación de la proteín quinasa C y un efecto de muerte celular por aumento del calcio intracelular libre (Niswender et al., 1994 citado en Adams, 2003). Esta molécula y sus análogos se usan para disminuir la duración del ciclo estral acelerando el comienzo del estro y para provocar aborto y parto. En la vaca, la PGF2α se usa para estimular las contracciones uterinas y facilitar la expulsión de la placenta y para otros efectos ecbólicos. Como agente luteolítico, la PGF2α disminuye la supervivencia del cuerpo lúteo y, por lo tanto, acorta el intervalo entre estros. El aborto y el parto prematuro se han asociado también con un aumento en la producción de PG (Adams, 2003, cap. 21).

Numerosos factores como estrés calórico, nutrición, mastitis y manipulación del tracto reproductivo, pueden contribuir a una pérdida embrionaria temprana a través del incremento prematuro de la concentración luminal de PGF2α en el útero

de las vacas. (Dunlap y Vincent 1971; Seguin, Morrow y Louis, 1974 y Roberts et al., 1975 citado en Seals et al., 1998) (Putney et al., 1989; Malayer et al., 1990; Butler, 1998; Hockett et al., 2000; Wann y Randel, 1990 y Vélez y Randel, 1991 citado en Scenna et al., 2004). Esto fue corroborado por Scenna et al. (2005), quienes demostraron que la manipulación del tracto reproductivo durante la transferencia de embriones fue seguida por un incremento en la liberación de PGF2α por el endometrio uterino y que no obstante esta liberación de prostaglandina puede no resultar en luteólisis, la supervivencia embrionaria puede estar comprometida por la presencia de pequeñas concentraciones de ésta en el lumen uterino, creando un "ambiente hostil" para el desarrollo embrionario. Schrick et al. (1993 citado en Scenna et al., 2004) reportaron que la calidad embrionaria en vacas de carne tendía a tener una correlación negativa con la concentración luminal de prostaglandina elevada en el útero. Además, se ha demostrado que la adición de PGF2α al medio de cultivo inhibe el desarrollo embrionario *In vitro* de conejos (Maurer, Beier, 1976 citado en Scenna et al., 2004) y ratas (Breuel, Fukuda, Schrick, 1993 citado en Scenna et al., 2004). En estudios realizados por Buford et al. (1996), Hockett, Rohrbach, Schrick (1998) y Lemaster (1999) (citados en Scenna et al., 2004) se ha visto que la administración de PGF2α entre los días 5 y 8 después de la inseminación artificial en vacas suplementadas con progestágenos ha resultado en reducidas tasas de preñez y desarrollo retardado en los embriones; estos autores sugieren una acción directa y/o indirecta de la PGF2α sobre la supervivencia embrionaria en la vaca.

2.4 Antiinflamatorios no esteroidales (AINEs)

La denominación de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) se refiere a compuestos de estructura no esteroidea y que reducen la fiebre, el dolor y la inflamación, mediante la inhibición de alguno de los pasos del metabolismo del ácido araquidónico (Botana et al., 2002, cap. 28).

Los AINEs se han revelado como los fármacos más prescritos en el mundo, utilizándose como potentes agentes analgésicos, antiinflamatorios y antipiréticos desde 1898, año en el que su representante principal, el ácido acetilsalicílico, se comercializó por primera vez (Insel, 1990 citado en López, 2001). Los AINEs, debido a sus propiedades antiinflamatorias y analgésicas, son la base actual del tratamiento de artritis, lesiones articulares y musculoesqueléticas, y dolor e inflamación postoperatorios. También son ampliamente utilizados por sus efectos antitrombóticos, en la prevención de infarto de miocardio y accidentes cerebrovasculares y en los años 90 se ha establecido una asociación clara entre el consumo regular de AINEs (en particular ácido acetilsalicílico) y una reducción en la incidencia de cáncer de colon y en los desórdenes neurodegenerativos (Bazan et al., 2002; Thun et al., 2002 citados en López, 2001). Desafortunadamente, aparte de estos efectos beneficiosos, estos fármacos también provocan efectos adversos no deseados, principalmente en el tracto gastrointestinal, siendo el más común la úlcera gastroduodenal que resulta de la inhibición de la biosíntesis de PGs citoprotectoras (Gierckky, 1989; Lanas et al., 2003 citados en López, 2001).

Como resultado de los efectos negativos de la PGF2α, se han desarrollado diversos estudios con antiinflamatorios para disminuir los efectos nocivos de la PGF2α y así aumentar las tasas de preñez en animales receptores de embriones. Elli

et al. (2001) encontraron que la administración de ibuprofeno, como inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, a novillas receptoras de embriones, una hora previa a la transferencia incrementó las tasas de preñez en un 26%. Scenna et al. (2005) demostraron que la administración de 10 ml de flunixin meglumine en el momento de la transferencia, mejora las tasas de preñez (tratamiento 65%, control 60%; P< 0.02), inhibiendo los efectos nocivos de la PGF2α sobre los estadios tempranos de los embriones.

2.4.1 Clasificación de los AINEs

Los AINEs se pueden clasificar como derivados de los ácidos carboxílicos (R-COOH) o como derivados de los ácidos enólicos (R-COH). A su vez cada uno de estos dos grupos puede dividirse en varios subgrupos (ver tabla 3).

Electroquímicamente, todos los AINEs son ácidos débiles, tienen un pKa (constante de ionización) menor de 4.5 lo que les proporciona una hidrosolubilidad escasa. Debido a ello habitualmente se formulan como sales de sodio con el fin de aumentar su solubilidad en agua y consecuentemente su capacidad de atravesar las membranas biológicas (Botana et al., 2002, cap. 28).

2.4.2 Mecanismo de acción de los AINEs

Todos los AINEs son planares, aniónicos y capaces de repartirse en ambientes lipídicos, incluidas las membranas de los neutrófilos. Como consecuencia la viscosidad de la membrana se altera, aún a bajas concentraciones (Weissmann, 1991 citado por Adams, 2003, cap. 22). A concentraciones más altas los AINEs

Tabla 3. Clasificación química de los fármacos AINEs.

Clasificación inicial	Derivados	Fármaco
Ácidos carboxílicos	Ácidos aminonicotínicos	Meglumina de flunixino
		Clonixilo
	Ácidos indolacéticos	Indometacina
		Etodolaco
		Sulindaco
	Ácidos heteroarilacéticos	Diclofenaco
		Tolmetina
		Ketorolaco
	Ácidos propiónicos	Ibuprofeno
		Ketoprofeno
		Carprofeno
		Fenoprofeno
		Naproxeno
		Flurbiprofeno
		Ácido tiaprofénico
	Ácidos entranílicos	Ácido meclofenámico
		Ácido mefenámico
		Ácido tolfenámico
	Oxindoles	Tenidap
	Paraaminofenoles	Paracetamol
	Salicilatos	Ácido acetilsalicílico
		Salicilato sódico
		Aminopirina
		Subsalicilato de bismuto
		Diflunisal
		Benorilato
Ácidos enólicos	Naftilalcanonas	Nabumetona
	Oxicams	Piroxicam
		Meloxicam
		Tenoxicam
	Pirazolonas	Fenilbutazona
		Oxifenbutazona
		Suxibuzona
		Dipirona
		Isopirina
		Azapropazona

Fuente: Botana et al., 2002

desacoplan las interacciones proteína-proteína dentro de la membrana plasmática, con lo que interfieren en una gran cantidad de procesos de la membrana, como la fosforilización oxidativa y la adhesión celular (Weissmann, 1991 citado por Adams, 2003, cap. 22).

Los estudios utilizando sistemas *In vitro* han demostrado que los AINEs alteran la respuesta inflamatoria al inhibir la activación de los neutrófilos, con la consecuente liberación de enzimas celulares inflamatorias, como la colagenasa, la elastasa, la hialuronidasa y otras (Hochberg, 1989 citado por Adams, 2003, cap. 22). La magnitud de la inhibición de la actividad de los neutrófilos varia con el fármaco, por ejemplo el piroxicam inhibe la generación de iones superóxido y la liberación de enzimas lisosomales, mientras que el ibuprofeno no (Adams, 2003).

Estas enzimas tienen estructuras similares pero su regulación y actividades fisiológicas son bastante diferentes. Catalizan la oxigenación y el cierre en forma de anillo cíclico del ácido araquidónico y como producto final de una serie de reacciones intermedias dan lugar a diferentes tipos de prostaglandinas y tromboxanos (Adams, 2003).

En 1971 se descubrió que los AINEs inhiben la ciclooxigenasa, enzima que interviene en la síntesis de las prostaglandinas (Vane, 1971 citado por Instituto catalán de farmacología, 1997). Posteriormente se comprobó que los efectos indeseados más frecuentes de los AINEs, como la toxicidad gastrointestinal y la retención de sodio y agua, también se debían, al menos en parte, a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas en el estómago o en la medula renal, respectivamente.

Más recientemente se han identificado dos isoenzimas de la ciclooxigenasa. La COX-1 (constitutiva) y La COX-2 (inducida), la diferencia más importante entre

ambas desde el punto de vista farmacológico estriba en que la COX-1 se expresa constitucionalmente, es decir, es una enzima constitutiva en casi todos los tejidos, pero muy especialmente en el riñón y en el tracto gastrointestinal. Su actividad tiene que ver con la participación de las prostaglandinas y los tromboxanos en el control de funciones fisiológicas; así, es responsable de proteger el epitelio gástrico, de proteger el funcionalismo renal y de agregar las plaquetas. La COX-2, por el contrario, parece expresarse en algunas células bajo el efecto inductor de determinados estímulos como algunos mediadores químicos de la inflamación; por tanto, mantiene los mecanismos inflamatorios y amplifica las señales dolorosas que surgen en las áreas de inflamación.

La consecuencia inmediata de este descubrimiento resulta obvia, pues la pretensión de lograr fármacos específicos con acciones limitadas pasa, en el caso de la inflamación, por la síntesis de sustancias que inhiban de manera selectiva la COX-2, al ser ésta la que resulta inducida en circunstancias patológicas. De esta forma, podrían evitarse efectos asociados a la inhibición de la COX-1 que no participan en el espectro terapéutico (cuando de inflamación se trata) y sí en las reacciones indeseables, muy particularmente, en los efectos gastrointestinales. Así, la inhibición de la COX-2 se ha constituido en el objetivo de una nueva generación de fármacos AINEs que conservando las propiedades terapéuticas, particularmente antiinflamatorias, presenten un perfil de toxicidad, particularmente digestivo, reducido (Vane, 1994 citado en Micó y Moreno-Brea, 2000).

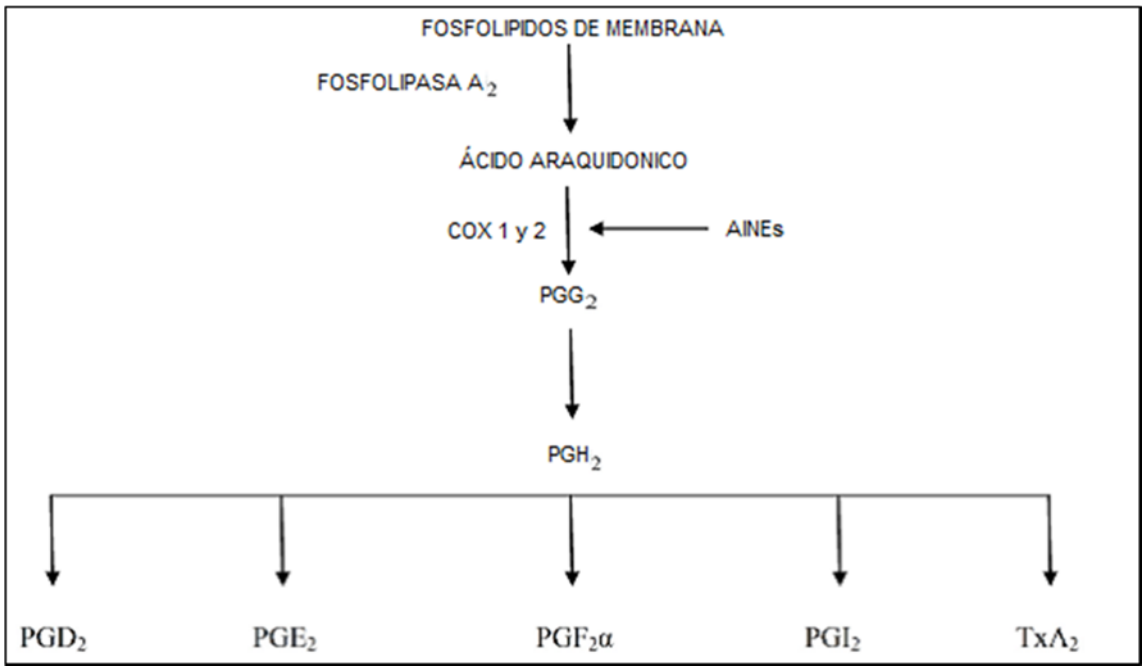

FIGURA 2. Mecanismo de acción de los AINEs (Adaptado de Paksoy y Daş, 2013)

2.4.3 Meloxicam

La mayoría de los AINEs actualmente disponibles afectan, es decir, inhiben, de manera no selectiva la actividad enzimática de ambas isoformas o, en todo caso, en mayor medida la de la COX-1, aunque los mecanismos de inhibición no sean idénticos para todos los miembros de este numeroso grupo farmacológico. Así, el ácido acetil salicílico es un inhibidor irreversible de ambas ciclooxigenasas (no es selectivo), pero prácticamente la totalidad del resto de los AINEs inhiben la enzima de forma estereoespecífica, competitiva y reversible aunque no selectiva. Excepciones singulares a la acción más común de inhibición indistinta de ambas isoformas la constituyen nabumetona, nimesulida y meloxicam, que muestran cierta selectividad preferente, aunque no absoluta, para inhibir la COX-2 frente a la COX-1. Sin embargo, su

selectividad no es total, de ahí que se haya insistido en la búsqueda de un inhibidor selectivo de la isoforma 2 (Micó y Moreno, 2000).

El meloxicam es un AINEs con una vida media de aproximadamente 26 horas en vacas (Agencia Europea para la evaluación de Productos Medicinales, 2006), y preferencialmente bloquea la isoforma COX-2, mientras que el ketoprofeno y el flunixin meglumine (otros AINEs aprobados para uso en vacunos con una vida media aproximada de 6 a 7 horas (Landoni et al., 1995 citado en Heinrich et al., 2010) no son inhibidores específicos COX-2 (Papich, 2007 citado en Heinrich et al., 2010). Como resultado, el meloxicam puede causar menos interferencia con los procesos homeostáticos normales y puede tener menores efectos deletéreos en el sistema gastrointestinal (Plumb, 2002 citado en Heinrich et al., 2010).

En diversos estudios *In vitro* se ha observado que el meloxicam inhibe de manera más selectiva la COX-2 que otros antiinflamatorios como el piroxicam, la indometacina o el flurbiprofeno (Vane, 1996 citado por Instituto catalán de farmacología, 1997), pero no se sabe si estas diferencias, de hasta tres órdenes de magnitud, obtenidas en estudios experimentales, se traducen en un menor riesgo de efectos indeseados gastrointestinales o renales. Además, hay que tener en cuenta que los datos disponibles hacen referencia a la relación entre la CI_{50} de la COX-2 y la CI_{50} de la COX-1, pero no se sabe si esta relación se mantiene con concentraciones inhibitorias de COX-2 superiores, que posiblemente son las que hay que alcanzar en clínica. Por otro lado, a pesar de que el meloxicam es un inhibidor selectivo de la COX-2, inhibe también la COX-1 aunque, posiblemente, con menor intensidad que los antiinflamatorios convencionales (Bennett y Tavares, 1995 citados por Instituto catalán de farmacología, 1997).

Principales propiedades del meloxicam según la Agencia Europea para la evaluación de Productos Medicinales [EMEA] (2006):

- Absorción: Después de una dosis única de meloxicam por vía subcutánea de 0.5 mg/kg, se alcanzaron valores de Cmax de 2.1 µg/ml en 7.7 horas en terneros rumiantes y 2.7 µg/ml al cabo de 4 horas en vacas en lactancia. Después de dos dosis de meloxicam de 0.4 mg/kg por vía intramuscular, se alcanzó un valor de Cmax de 1.9 µg/ml al cabo de 1 hora en cerdos.
- Distribución: Más del 98% del meloxicam se fija a las proteínas plasmáticas. Las mayores concentraciones de meloxicam se encuentran en hígado y riñón. Se detectan concentraciones comparativamente bajas en músculo esquelético y en grasa.
- Metabolismo: El meloxicam se encuentra predominantemente en el plasma. En bovino, el meloxicam es así mismo el producto mayoritario de excreción en la leche y la bilis, mientras que la orina contiene solamente trazas del compuesto inalterado. En cerdos, la bilis y la orina contienen solamente trazas del compuesto inalterado. El meloxicam es metabolizado a un alcohol, un derivado ácido y varios metabolitos polares. Se ha demostrado que todos los metabolitos principales son farmacológicamente inactivos. El metabolismo en equino no ha sido investigado.
- Eliminación: El meloxicam tiene una semivida de eliminación de 26 horas y 17.5 horas tras la inyección subcutánea en terneros rumiantes y vacas en lactancia, respectivamente. En cerdos, tras la administración intramuscular, la semivida de eliminación plasmática es de aproximadamente 2.5 horas. En equino, tras la inyección intravenosa el meloxicam tiene una semivida terminal de eliminación de 8.5

horas. Aproximadamente el 50% de la dosis administrada se elimina por la orina y el resto por las heces.

2.4.4 Estudios relacionados con la aplicación de inhibidores de prostaglandinas en reproducción

Schrick et al. (2001) usaron Banamine® (Flunixin Meglumine), como inhibidor de la ciclooxigenasa, para prevenir la liberación de PGF2α. En este estudio, receptoras tipo carne que recibieron 10 ml (no reportan la concentración usada, solo el volumen) de Banamine® de 2 a 5 minutos previos a la transferencia, tanto de embriones frescos como congelados, mostraron un incremento de 12.7% en tasas de preñez (63.8%) sobre los animales control (51.1%).

Purcell, Beal y Gray (2005) encontraron que el tratamiento con Flunixin meglumine (FM) al momento de la transferencia de embriones mejoró la tasa de preñez, pero fue dependiente de la localización geográfica de los trabajos (se vieron mejoras solo en algunas haciendas). Las interacciones significativas entre los efectos del tratamiento de la FM y otras variables independientes observadas en este estudio y en el estudio de Schrick et al. (2001) pueden ser una indicación que no es posible predecir cómo la FM va a afectar las tasas de preñez entre grupos de receptoras en diferentes lugares o después de la transferencia de tipos específicos de embriones. A pesar de estas variaciones impredecibles, el tratamiento con FM mejoró la tasa de preñez de las receptoras de embriones en ambos estudios.

Aiumlamai et al. (1990) describen: “El Flunixin meglumine es un fármaco antiinflamatorio no esteroide que tiene la capacidad de reducir la biosíntesis de

prostaglandinas mediante la inhibición de la enzima ciclooxigenasa". En consecuencia, cuando se utiliza intensivamente (cuatro veces al día por siete días), el medicamento ha mostrado la capacidad de inhibir la síntesis de PGF2α en la medida en que previene la luteólisis en bovinos.

Odensvik, Gustafsson y Kindahl (1997) exponen que cuando se administró FM de dos veces a tres veces, se presentó luteólisis durante el tratamiento. Sin embargo, cuando se utilizó un régimen de cuatro veces al día, se presentó luteólisis cuando se había terminado el tratamiento. No se registraron cambios en los niveles de progesterona, aunque la fase lútea aumentó cuando se prolongó la duración del ciclo estral. El número de pulsos de progesterona disminuyó significativamente, de 6 a 12 pulsos a 0 a 3 pulsos, cuando se administró FM cuatro veces al día. También se observó una reducción cuando las novillas recibieron el medicamento tres veces, pero la disminución no fue significativa. Se encontró que la vía oral de administración fue tan eficaz como la parental para afectar el mecanismo responsable de la luteólisis en novillas. Sin embargo, para inhibir y posponer la luteólisis, es necesaria la administración de FM cuatro veces al día. Estos resultados muestran que la administración oral de FM en la especie bovina puede ser de valor en la investigación, así como en la clínica, por ejemplo para apoyar la función lútea.

La administración parenteral intensiva de Flunixin meglumine es capaz de posponer la luteólisis y prolongar el ciclo estral en novillas (Odensvik y Gustafsson, 1994). Sin embargo también se ha demostrado que la aplicación oral de una sola

dosis de FM en forma de gránulos inhibe efectivamente la enzima ciclo-oxigenasa. (Odensvik, 1995; Odensvik y Magnusson, 1996).

Ogino et al. (1997) en su estudio evaluación del perfil farmacológico del meloxicam como agente antiinflamatorio, con especial referencia en su relativa selectividad por la ciclooxigenasa-2 sobre la ciclooxigenasa-1, encontraron que el meloxicam inhibe selectivamente la COX-2 alrededor de doce veces más que la COX-1. Sin embargo el Piroxicam inhibe ambas isoformas casi de igual manera. Sus resultados indican que el meloxicam es un potente agente antiinflamatorio con baja toxicidad gástrica.

Amiridis et al. (2009) en una fase de su investigación realizan la selección de un AINEs con la más alta inhibición de la PGF2α. La efectividad de cada sustancia se evaluó asumiendo su capacidad para prolongar la duración del ciclo estral de los animales tratados, se evaluaron flunixin meglumine, ketoprofeno y meloxicam, este último fue seleccionado como el más potente entre los tres AINEs. Se sincronizó el celo de 40 novillas (17 a 18 meses de edad), con dos inyecciones de PGF2α con un intervalo de 10 días; luego estos animales fueron distribuidos al azar en cuatro grupos (10 animales/grupo). Los días 16, 17 y 18 (celo = día 0) se aplicó Flunixin meglumine (Finixin, 2.2 mg/kg, cada 12 horas, iv; Schering-Plough, Friesoythe, Germany), ketoprofeno (Romefen, 3 mg/kg cada 24 horas, i.m; Rhone Merieux, Lyon, France), meloxicam (Metacam, 0.5 mg/kg cada 24 horas, sc; Boehringer-Ingelheim, Ingelheim am Rhein Germany), y no se aplicó nada al grupo control. La duración del ciclo se determinó por observación tres veces al día de los comportamientos de celo,

además se midió la concentración de P4 en muestras de sangre tomadas una vez al día. En los animales tratados con meloxicam, la duración del ciclo estral fue más larga ($P < 0.05$) en comparación con las del grupo control (21.6 días vs. 20.4 días). No se encontraron diferencias entre los otros dos AINEs y el grupo control.

McDougall, Bryan y Tiddy (2009) en su estudio efectos del tratamiento con el antiinflamatorio no esteroidal meloxicam sobre la producción de leche, recuento de células somáticas, probabilidad de retratamiento y sacrificio de vacas lecheras con mastitis clínica suave, describen: El meloxicam es un inhibidor preferencial de la COX-2 (Van Hecken et al., 2000; Lee et al., 2004 citados en McDougall, Bryan y Tiddy, 2009), que tiene licencia para uso en caballos, bovinos, cerdos y pequeños animales. Se ha probado para reducir las concentraciones de tromboxano B2 en leche durante su uso en casos de mastitis (Banting et al., 2000 citado en McDougall, Bryan y Tiddy, 2009), para reducir las concentraciones plasmáticas de los metabolitos PGFM de la PGF2α en ovejas (McKeown et al., 2000 citado en McDougall, Bryan y Tiddy, 2009), en vacas con desafío endotoxémico (Konigsson et al., 2002 citado en McDougall, Bryan y Tiddy, 2009) y para aminorar los signos clínicos de mastitis en el ganado lechero (Friton et al., 2002 citado en McDougall, Bryan y Tiddy, 2009).

Yousif y Thulesius (1998) presentan un estudio comparativo con el fármaco antiinflamatorio no esteroide, indometacina. El efecto tocolítico del meloxicam y la indometacina se evaluó *In vitro* en tiras uterinas con contracción espontánea de ratas no preñadas y de ratas en diversas etapas de gestación. La indometacina y el

meloxicam indujeron efectos inhibitorios dependientes de la dosis; el meloxicam demostró ser más potente en todos los grupos de estudio, especialmente en el comienzo de la gestación. Estos resultados sugieren que el meloxicam, que tiene menos efectos secundarios que los inhibidores de la ciclooxigenasa-1, podría ser un agente tocolítico potencialmente útil en el tratamiento del trabajo de parto prematuro.

McNaughtan (2004) presentá su tesis de maestría con el objetivo de determinar cómo la administración del inhibidor de prostaglandinas, flunixin meglumine en dosis de 10 ml, inmediatamente antes de la transferencia del embrión, aumenta la tasa de preñez en novillas. En este trabajo se encontró que la administración de un inhibidor de la síntesis de prostaglandina antes de la transferencia de embriones no aumenta la tasa de preñez en novillas para carne, por lo menos en las condiciones utilizadas en éste experimento.

Garrote y Scardaccione (2010) en su tesis encontraron que el porcentaje total de receptoras transferidas que resultaron preñadas fue del 57.4% (619/1079). En el caso de aquellas transferidas en el grupo meloxicam el porcentaje de preñez fue del 57.3 % (301/525) y para las transferidas en el grupo Control el porcentaje de preñez fue del 57.4% (318/554). Evaluando los dos grupos mencionados no encontraron diferencias estadísticamente significativas ni comercialmente relevantes. Así mismo, creen que otros estudios deberían ser realizados evaluando la aplicación de meloxicam en diferentes momentos previos a la transferencia embrionaria para verificar el efecto en la tasa de preñez lograda y además aumentando el tamaño

muestral en variables teóricamente sensibles a sus propiedades biológicas como ser la inovulación, experiencia del técnico y la calidad embrionaria.

3. METODOLOGÍA

3.1 Localización

El proyecto se llevó a cabo en 5 fincas ubicadas en los municipios de Aguazul, Maní y Yopal, en el departamento de Casanare, Colombia.

El departamento de Casanare tiene una extensión superficial de 44640 km2 la cual corresponde al 3.91% del total del área nacional y un poco menos de 1/5 de la región de la Orinoquia (17.55%). Sus coordenadas geográficas están entre los 4º1725" y los 06º2045" de latitud norte y los 69º5022" y 73º0433 de longitud oeste.

Limita por el Norte con el río Casanare, que lo separa del departamento de Arauca; por el Este con el río Meta que lo separa del departamento de Vichada; por el Sur con los ríos Upía y Meta, el último de los cuales los separa del departamento del Meta, y por el Oeste con los departamentos de Boyacá y Cundinamarca. (www.BusinessCol.com).

El municipio de Aguazul, tiene una temperatura promedio 27 °C, una humedad promedio de 81.05% y una Altura 290 msnm. (www.aguazul-casanare.gov.co)

El municipio de Yopal, tiene una temperatura promedio 26 °C, una humedad promedio de 74% y una Altura de 350 msnm. (http://yopal-casanare.gov.co/ nuestromunicipio).

El municipio de Maní, tiene una temperatura promedio 27 °C, una humedad promedio de 75% y una Altura 200 msnm. (www.mani-casanare.gov.co/ nuestromunicipio).

Los animales permanecieron en su habitad natural, sin luz artificial y la humedad y temperaturas correspondientes a la región, esto fue similar en las 5 fincas.

Las receptoras permanecieron en pastoreo rotacional con pasto *Brachiaria humidicola y Brachiaria dyctioneura*, sales minerales y agua a voluntad. El agua provenía de quebradas, reservorios o pozos profundos para todos los casos.

3.2 Población y muestra

Para la transferencia de embriones se utilizaron 100 novillas receptoras cruzadas *Bos indicus x Bos taurus*, las cuales una hora antes de la transferencia, fueron divididas al azar en dos grupos de estudio: el grupo control recibió 5 ml de solución salina fisiológica vía sub-cutánea (sc) y el grupo tratamiento recibió 0.5 mg/kg de meloxicam por vía sc (Meloxic 2% ® de Laboratorios Provet, Colombia). Todas las novillas fueron transferidas con un embrión congelado.

Las novillas receptoras fueron previamente seleccionadas por edad (36 a 42 meses), peso (330 a 380 kg), condición corporal (3 a 4 en escala de 1 a 5), estado reproductivo (vacías y cíclicas) y clínicamente sanas.

Se aclara que las 100 receptoras no se trabajaron en un solo día, sino que hicieron parte de diferentes trabajos de transferencia en las 5 fincas; los embriones fueron transferidos por el mismo técnico.

3.3 Métodos y procedimientos

3.3.1 Vacas donadoras de embriones

Se utilizaron como donadoras vacas Brahman y Simmental puras, libres de enfermedades reproductivas, con un plan de vacunación vigente, reproductivamente sanas, con más de 60 días de post-parto y habiendo registrado un ciclo previo de duración normal, con edades entre los 5 y 8 años, condición corporal 3.5 a 4.0 (en escala de 1 a 5) y aparentemente sanas al examen clínico.

Para la superovulación de las donadoras se utilizó el siguiente protocolo: un día aleatorio del ciclo estral denominado el día cero (0) se colocó un implante intravaginal impregnado con 1.0 gramo de progesterona (DIB® de Laboratorios Syntex, Argentina), 50 mg de progesterona vía intramuscular (Gestavec® 25 de Laboratorios Vecol S.A, Colombia), 2 mg de Benzoato de estradiol vía I.M (Benzoato de estradiol® de Laboratorios Syntex Argentina), el día cuatro (4) en la tarde, que corresponde al inicio de una nueva onda folicular se comenzó el tratamiento superovulatorio con FSH (Pluset®), cuatro días consecutivos, con dosis decrecientes administradas por vía I.M, dos veces al día (100 U.I., 100 U.I., 75 U.I., 75 U.I., 50 U.I., 50 U.I., 25 U.I., 25 U.I.), para una dosis total por animal de 500 U.I. de FSH (Pluset®). El día seis (6) en la tarde se administró una dosis luteolítica (150 µg) de PGF2α vía I.M, (Cloprostenol® de Laboratorios Calier). El día ocho (8) por la mañana se retiró el dispositivo intravaginal de progesterona y en la tarde del mismo día ocho (8) se aplicó 0.02 mg de GnRH vía I.M. (Conceptal® de Laboratorios Intervet de Colombia).

El día nueve (9) fueron inseminadas a tiempo fijo 12 y 24 horas después de la aplicación de GnRH.

Los embriones se colectaron 7 días después de la inseminación (día 16).

Para la colecta de los embriones, la vaca donadora se trabajó en un brete de contención, una vez que el material y equipos estuvieron listos, las heces de las donadoras fueron removidas cuidadosamente para evitar la aspiración de aire en el recto y se realizó una palpación de los ovarios para calcular un estimativo de la respuesta hormonal con la presencia de cuerpos lúteos, folículos y tamaño de los ovarios, enseguida se hizo la limpieza de la base de la cola (última vertebra sacra y primera coccígea) con alcohol al 70% y se realizó la anestesia epidural baja con 5 ml de lidocaína al 2% utilizando una aguja de una y media pulgadas de largo, después de determinar la acción de la anestesia por la aparición de la flacidez de la cola, se procedió a lavar con abundante agua, jabón y se desinfectó con alcohol al 70% la zona perianal y vulvar.

Para la técnica se utilizó un sistema cerrado de tres vías, con sonda Foley (Bioniche, Canadá) adecuado para el útero a trabajar, este catéter fue introducido con un estilete de acero que le dio rigidez para poderlo desplazar por el tracto reproductivo, una vez se pasó el cérvix, se ubicó en el cuerno ipsilateral del ovario donde hubo mayor presencia de cuerpos lúteos, luego se conectó una jeringa al apéndice que tenía la sonda para llenar el balón, el cual debió quedar inflado a la altura de la curvatura mayor del cuerno uterino.

Con la mano introducida dentro del recto se determinó el llenado del balón, se hizo una prueba halando un poco la sonda hacia atrás para determinar que quedara bien fija en el útero, una vez hecho esto se retiró el estilete y se conectó el

sistema para hacer el lavado utilizando un litro de solución de Hartman enriquecida con 80cc de solución ViGRO complete flush® (Bioniche, Canadá) por cada cuerno; la conexión se hizo a un sistema de conducción de silicona provisto de 2 controles para poder regular el paso de la solución de lavado, una salida va al filtro Miniflush® (Minitube) de colecta de embriones provisto de una malla de micro poros de 70 micras, para no permitir el paso del embrión que tiene entre 150 y 200 micras, este filtro permaneció aproximadamente con 50 ml de solución.

Se hizo masaje con la mano introducida en el recto sobre el cuerno donde estaba llegando la solución, se repitió de 9 a 11 veces el mismo procedimiento, con un volumen de 70 a 80 ml de solución cada vez que se le introdujo al cuerno.

Una vez terminado el lavado del cuerno uterino, se desinfló el balón de la sonda, anclando la jeringa al apéndice de la sonda y haciendo succión, luego se retiró la sonda y se repitió el mismo procedimiento con el cuerno opuesto, una vez finalizada la recolección de embriones en los 2 cuernos se le aplicaron 450 µg de un análogo sintético de la PGF2α vía intramuscular.

Colectados los embriones en el filtro fueron pasados a una caja de petri rayada para la búsqueda de los mismos, el filtro se lavó con solución de ViGRO complete flush®. La caja de petri fue conducida a un estereoscopio de marca Baush Lomb® y sometida a una rigurosa y ordenada inspección recorriendo todo el campo y repitiendo el ejercicio 2 veces, con aumento de 20 X y 40 X, una vez identificados los embriones fueron lavados en diez piscinas con medio para mantenimiento de embriones ViGRO Holding® (Bioniche, Canadá) con la finalidad de remover restos de descamación uterina y moco adherido a los embriones y así mejorar su observación.

Luego los embriones para este trabajo, fueron clasificados de acuerdo a sus características morfológicas y desarrollo embrionario según el manual de la Asociación Internacional de Transferencia de Embriones [por sus siglas en inglés, IETS], (1998) así: por calidad (calidad 1: Embriones excelentes y buenos. Son embriones esféricos, simétricos con células de tamaño, color y texturas uniformes. Puede haber pequeñas imperfecciones como algunas blastómeras sueltas, tamaño irregular o algunas vesículas. Estos embriones son los ideales para congelar y calidad 2: Embriones regulares. Tienen problemas más definidos incluyendo blastómeras sueltas, vesículas o células degeneradas) y por estadío (estadío 4: Mórula, donde las blastómeras son difíciles de distinguir unas de otras, la masa de células ocupa casi todo el espacio perivitelino; estadío 5: Blastocisto temprano donde el embrión ocupa el 70-80% del espacio perivitelino. Se puede diferenciar en forma visual el trofoblasto y el macizo celular interno; estadío 6: Blastocisto el cual presenta una diferencia clara entre el trofoblasto externo y el macizo celular interno).

Una vez clasificados los embriones por morfología, calidad y desarrollo, fueron equilibrados a temperatura ambiente durante 10 minutos en medio de congelación con etilenglicol, durante este periodo fueron empacados y luego llevados al congelador de embriones a -6°C, después de 5 minutos se realizó el seeding y a los 15 minutos se activó la curva de descenso de temperatura (0.5°C por minuto) hasta los -35°C, al alcanzar esta temperatura se sumergieron directamente en nitrógeno líquido.

3.3.2 Novillas Receptoras

Por facilidad de manejo de los lotes de animales todos los embriones que se trasfirieron eran congelados; para realizar la transferencia a tiempo fijo, los grupos de novillas recibieron el mismo tratamiento hormonal: el día cero (0) se colocó un implante intravaginal (DIB® de Laboratorios Syntex Argentina) y 2 mg de Benzoato de estradiol vía I.M (Benzoato de estradiol® de Laboratorios Syntex Argentina).

El día cinco (5) se les aplicó 400 U.I Gonadotropina coriónica equina (Novormon® de Laboratorios Syntex Argentina).

El día siete (7) se administró una dosis luteolítica (150 µg) de PGF2α vía I.M (Cloprostenol® Laboratorios Calier de los Andes S.A Colombia).

El día ocho (8) se retiró el dispositivo intravaginal.

El día nueve (9) se les aplicó 0.8 mg de Benzoato de Estradiol (Benzoato de Estradiol® de Laboratorios Syntex, Argentina) como inductor de ovulación así todas las novillas debieron presentar celo y ovulación el día diez (10) de iniciado el protocolo.

El día diecisiete (17) los embriones congelados con calidad uno o calidad dos, de acuerdo con la clasificación de la IETS y estadíos 4, 5 y 6, fueron transferidos por el mismo técnico, a las novillas de los dos grupos (tratamiento y control) que presentaron cuerpos lúteos superiores a 16 mm de diámetro, previa palpación rectal y ultrasonografía.

En el momento de la transferencia, las novillas fueron llevadas al corral y se fueron pasando al brete de contención, donde se les realizó una palpación rectal para determinar la presencia de cuerpo lúteo, en caso de ser aprobado el animal por el transferidor, se realizó limpieza de la base de la cola (última vertebra sacra y

primera coccígea) con alcohol al 70% y se realizó la anestesia epidural baja con 5 ml de lidocaína al 2%. Después de determinar la acción de la anestesia por la aparición de la flacidez de la cola, se procedió a lavar con agua y desinfectó con alcohol la zona perianal y vulvar y se transfirió el embrión en el tercio anterior del cuerno uterino ipsilateral al ovario con el cuerpo lúteo.

La información recopilada incluyó calidad del embrión, estadío del embrión y preñez.

3.3.3 Diagnóstico de preñez

El diagnóstico de preñez se realizó 43 días (día 50 de gestación) después de la transferencia por ultrasonografía transrectal utilizando un ecógrafo en tiempo real, modo-B (ESAOTE Pie Medical Tringa lineal) que poseía un transductor lineal multi-frecuencia de 5 a 7.5 MHz

3.3.4 Análisis estadístico

Para analizar los datos se utilizó la prueba de chi cuadrado para tablas de contingencia organizadas por las variables: meloxicam y control, estadío 4, estadío 5 y estadío 6, calidad 1 y calidad 2.

4. RESULTADOS

Se evaluó la tasa de preñez en novillas *Bos indicus x Bos taurus* receptoras de embriones congelados, en diferentes estadíos y calidades distribuidas al azar en dos grupos diferentes de estudio, el grupo tratamiento recibió meloxicam y el grupo control recibió solución salina como placebo. El trabajo arrojó los siguientes resultados.

4.1 Resultado general de preñez

En la tabla 4 se presentan los datos de las receptoras que quedaron gestantes en cada grupo y el porcentaje total de receptoras preñadas al completar las transferencias. De las 100 receptoras que se transfirieron, 48 se confirmaron como preñadas, la tasa de preñez no presenta diferencias significativas ($P>0.05$; $X^2=0.64$, $P=0.4233$) entre el grupo tratado (52.00%) y el grupo control (44.00%).

Tabla 4. Porcentaje general de preñez.

	EMBRIONES TRANSFERIDOS	RECEPTORAS PREÑADAS	RECEPTORAS VACÍAS	% DE PREÑEZ
GRUPO MELOXICAM	50	26	24	52%
GRUPO CONTROL	50	22	28	44%
TOTAL	100	48	52	48%

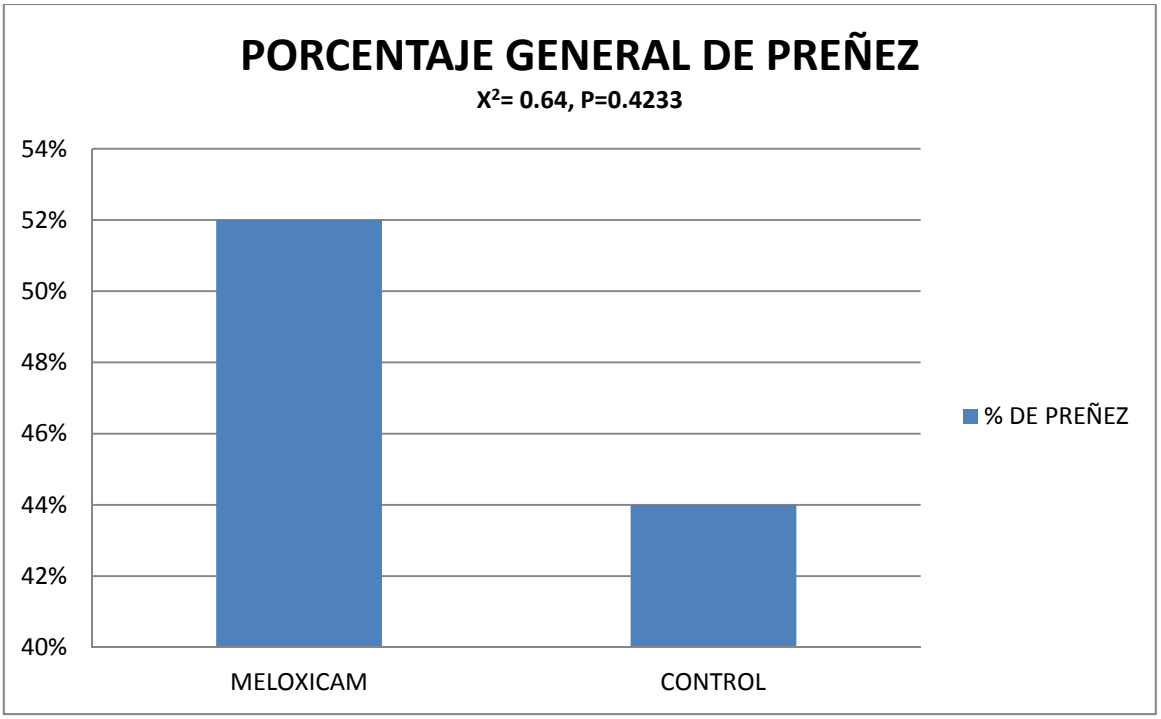

Gráfico 1. Resultado general de preñez.

4.2 Efecto de la calidad del embrión sobre el porcentaje de preñez según tratamiento

Solamente se trabajó con embriones calidad 1 y embriones calidad 2 según la clasificación de la sociedad internacional de transferencia de embriones IETS.

Tabla 5. Porcentaje de preñez de acuerdo con la calidad del embrión congelado según tratamiento.

	EMBRIONES TRANSFERIDOS CALIDAD 1	RECEPTORAS PREÑADAS	% DE PREÑEZ CALIDAD 1	EMBRIONES TRANSFERIDOS CALIDAD 2	RECEPTORAS PREÑADAS	% DE PREÑEZ CALIDAD 2
GRUPO MELOXICAM	44	23	52.27%	6	3	50.00%
GRUPO CONTROL	44	20	45.45%	6	2	33.33%
TOTAL	88	43	48.86%	12	5	41.66%

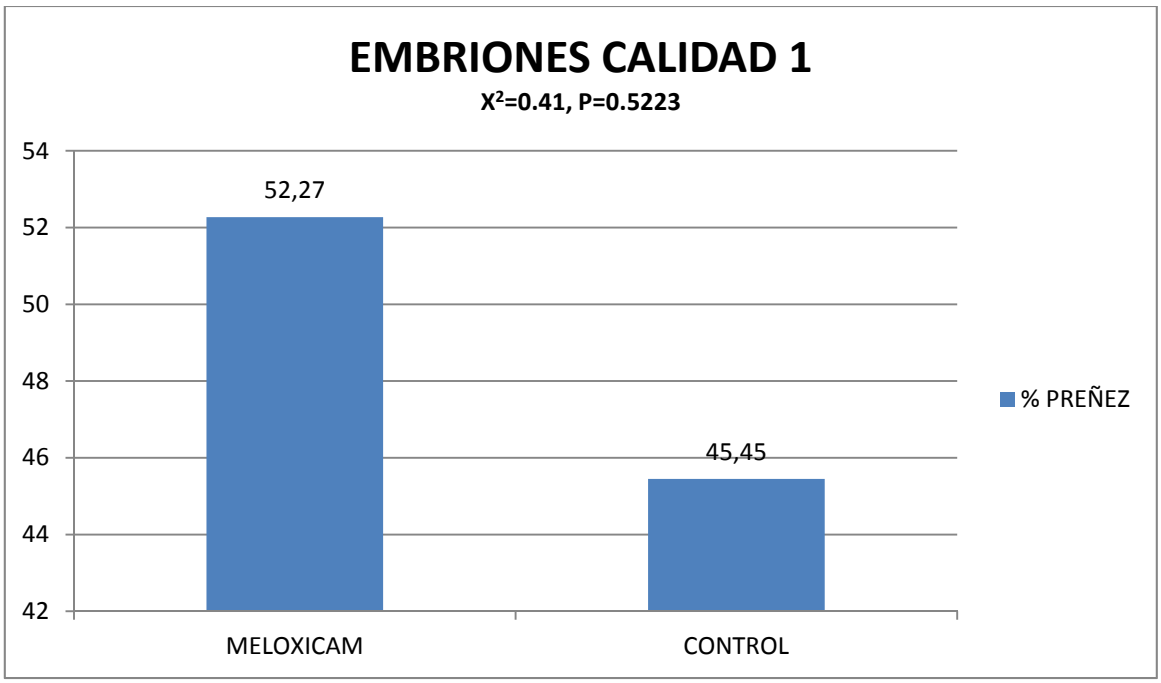

Gráfico 2. Porcentaje de preñez con embriones congelados calidad 1 según tratamiento

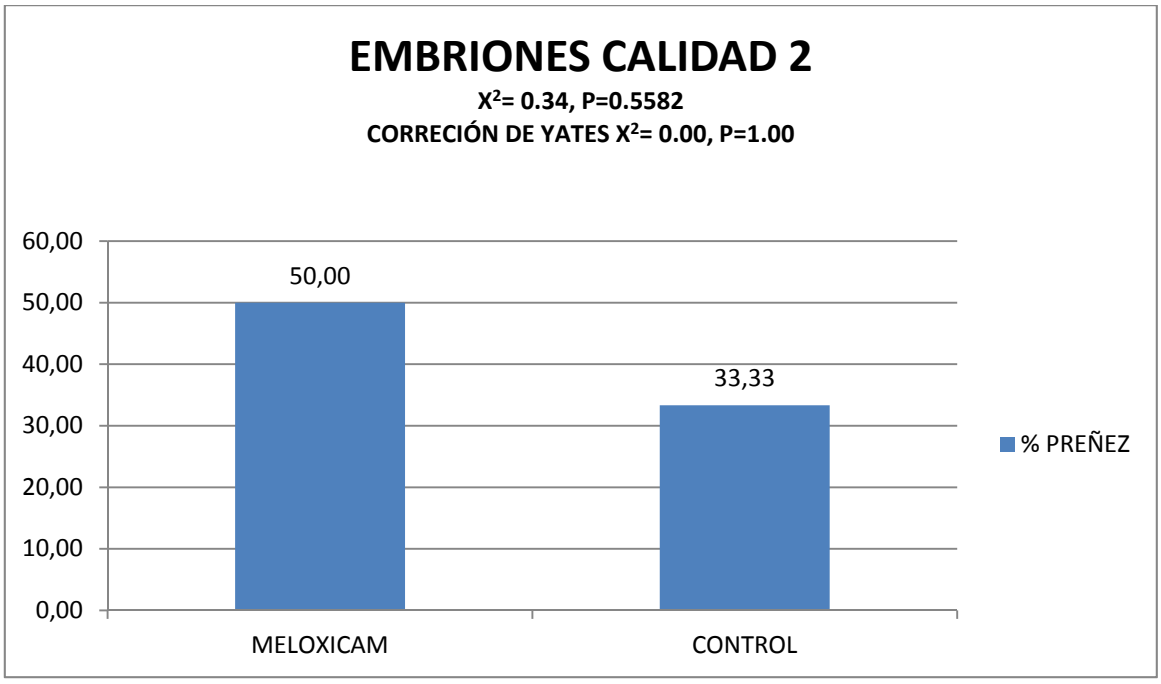

Gráfico 3. Porcentaje de preñez con embriones congelados calidad 2 según tratamiento.

Al comparar los resultados entre el grupo tratamiento y el grupo control con relación a los embriones calidad 1 y 2 se encontró mayor porcentaje de preñez en el grupo meloxicam 52.27% y 50.00% respectivamente, con relación al grupo control 45.45% y 33.33% respectivamente. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P>0.05).

4.3 Efecto del estadío del embrión sobre el porcentaje de preñez según tratamiento

Tabla 6. Porcentaje de preñez de acuerdo con el estadío del embrión congelado según tratamiento.

	ESTADÍO	EMBRIONES TRANSFERIDOS	RECEPTORAS PREÑADAS	RECEPTORAS VACÍAS	% DE PREÑEZ
GRUPO MELOXICAM	4	18	10	8	55.55%
	5	19	10	9	52.63%
	6	13	6	7	46.15%
GRUPO CONTROL	4	26	12	14	46.15%
	5	18	10	8	55.55%
	6	6	0	6	00.00%
TOTAL		100	48	52	48.00%

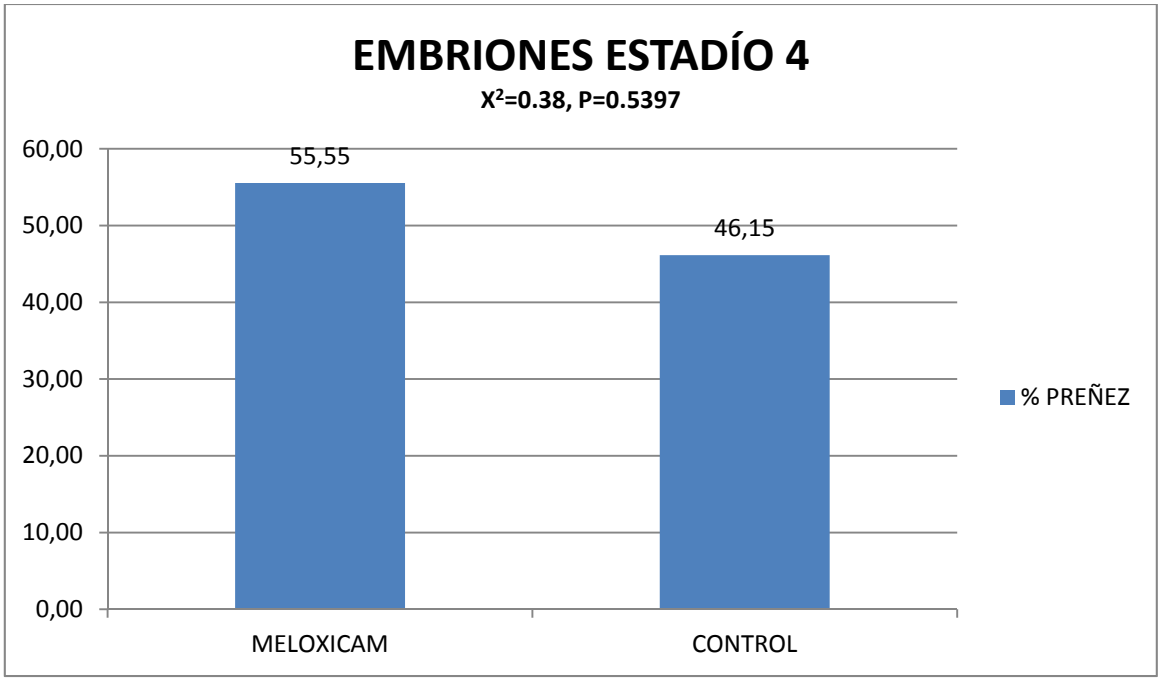

Gráfico 4. Porcentaje de preñez con embriones congelados estadío 4 según tratamiento.

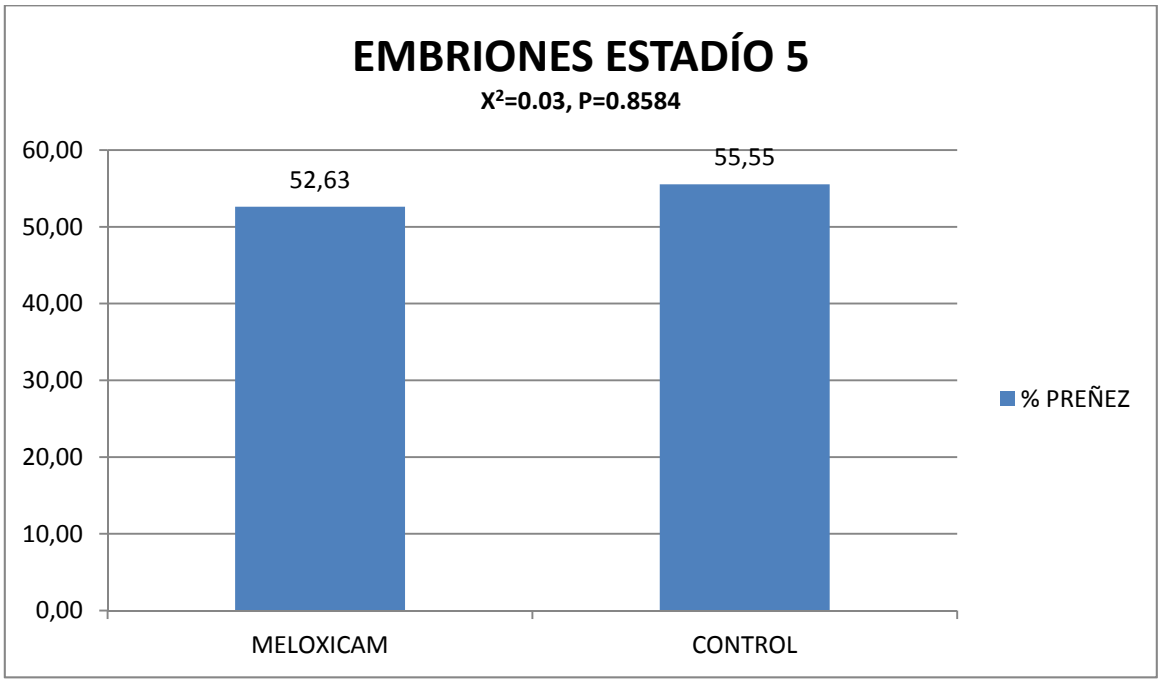

Gráfico 5. Porcentaje de preñez con embriones congelados estadío 5 según tratamiento.

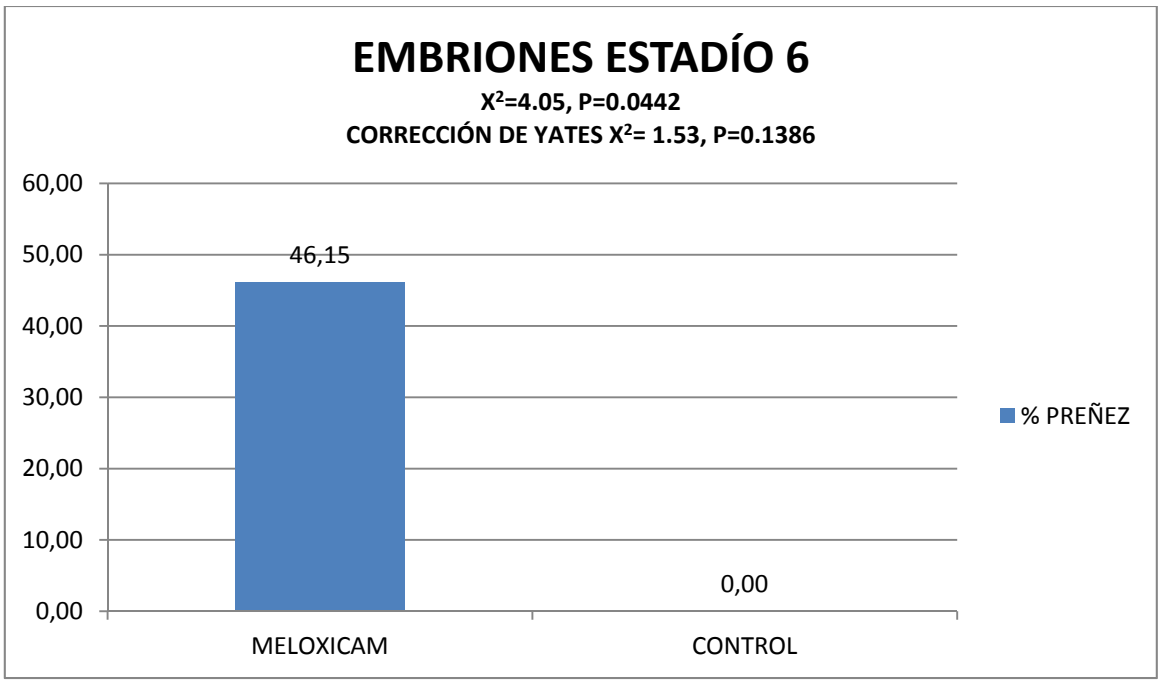

Gráfico 6. Porcentaje de preñez con embriones congelados estadío 6 según tratamiento

Al comparar los resultados entre el grupo tratamiento y el grupo control con relación a los estadíos del embrión, 4, 5 y 6, no se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de preñez. En el grupo meloxicam 55.55%, 52.63% y 46.15% respectivamente, con relación al grupo control 46.15%, 55.55 y 00.00% respectivamente (P>0.05 para todos los casos).

5. DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta la probabilidad de causar trauma sobre el endometrio y la subsecuente liberación de PGF2α, principal agente luteolítico y que mientras que en la inseminación artificial el embrión es 50% extraño a la madre por el reconocimiento antigénico paterno, en la transferencia de embriones, el embrión es 100% ajeno a la receptora, por lo tanto hay mayor probabilidad de activación de los mecanismos luteolíticos (Rodríguez, 2001), es importante desarrollar estrategias antiluteolíticas para mejorar las tasas de preñez, las cuales pueden ser hormonales, farmacológicas o combinación de las dos, ya que la progesterona (secretada por el cuerpo lúteo), es la responsable de cambios cualitativos y cuantitativos en el medio ambiente uterino, controlando la síntesis y secreción de por lo menos diez proteínas, por tanto se asume que deficiencias de progesterona podrían causar que el endometrio llegue a ser deficiente en cuanto a la nutrición histotrópica, fuente disponible para el crecimiento, mantenimiento y supervivencia del conceptus (Spencer et al., 2004; Neider y Corder, 1982 citado en Tovío et al., 2008).

Para el desarrollo de esta investigación se optó por elegir un AINE con propiedades COX-2 selectivas (meloxicam) como agente antiluteolítico, teniendo en cuenta que la transformación del ácido araquidónico en PGF2α, es regulada por la isoforma COX-2; la actividad de esta enzima se incrementa durante el diestro temprano por acción de la P4 la cual es inducida por el estradiol, factores de

crecimiento e interleuquinas, y disminuye cuando el IFN-τ comienza a ser secretado por parte del embrión (Neider y Corder, 1982; Rodríguez, 2001; Peña, Górgora y Estrada, 2007; Roberts et al., 1999; Burgdardt et al., 1997 citado en Tovío et al., 2008). Además, se ha propuesto que el IFN-τ también ejerce un efecto antiluteolítico incrementando los niveles de ácido linoléico, el cual inhibe por competencia de COX-2 al ácido araquidónico (Rodríguez, 2001).

Para este trabajo, las tasas de preñez fueron buenas (grupo tratado 52.00% y grupo control 44.00%), ya que están en el promedio (50 a 60 %), reportado por autores como Cutini et al. (2000), pero no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje general de preñez entre los grupos, este resultado concuerda con los obtenidos por Garrote y Scardaccione (2010) quienes encontraron valores absolutos de preñez muy similares entre receptoras tratadas con meloxicam y receptoras control (57.33% y 57.40% respectivamente). Sin embargo, Schrick et al. (2001) encontraron beneficio en la aplicación de 500 mg de flunixin meglumine al incrementar en 12.7% la tasa de preñez en receptoras de aptitud cárnica y Aguiar et al., (2013) aplicando 200 mg de meloxicam al terminar la transferencia, reportan diferencias estadísticas entre las tasas de preñez ($p < 0.01$) entre el grupo tratado con meloxicam y el grupo control (49.0% y 66.7%) respectivamente.

Además se puede concluir que la aplicación de 0.5 mg/kg de meloxicam por vía subcutánea en novillas *Bos indicus x Bos taurus* receptoras de embriones una hora previa a la transferencia, no favorece el porcentaje de preñez de embriones calidad 2 con relación al de los embriones calidad 1, así mismo se encontró que la

aplicación del meloxicam no influyó sobre los porcentajes de preñez en las receptoras que recibieron mórulas o blastocistos. Se puede encontrar explicación a estos resultados en otros estudios, donde se ha observado que la calidad de los embriones y su estadío de desarrollo pueden afectar las tasas de preñez, pero hay otros factores relacionados con la transferencia o las receptoras que pueden modificar dichos resultados, así como lo demuestran Elsden y Seidel (1990 citado en Cutini, Tervel y Cabodevila, 2000) donde embriones excelentes transferidos sin dificultad no terminan en preñez, mientras que embriones calidad buena y transferidos con dificultad, terminan en preñez; hay que contemplar también que la evaluación de los embriones se hace de forma subjetiva, donde se pueden clasificar de manera errónea embriones calidad 1 buenos como calidad 2 y distorsionar los resultados. Además el efecto que puede llegar a tener el estadío de desarrollo embrionario sobre los porcentajes de preñez, es un factor que ha sido estudiado por diversos autores con resultados variables (Cutini et al, 2000), por lo que se puede deducir que el estadío de desarrollo, como única variable no es un factor determinante sobre las tasas de preñez.

Aunque es subjetivo, se observó que tras la aplicación de meloxicam no se evidencia diferencia alguna con el grupo control en manejo (animales más calmados) o facilidad a la transferencia, lo cual podría ser importante si tenemos en cuenta lo descrito por Rowe et al. (1980 citado en Cutini et al., 2000) quienes demostraron que el tiempo transcurrido empleado para atravesar el cérvix y colocar el embrión en el cuerno uterino se correlaciona negativamente con el porcentaje de preñez.

Por todo lo anterior se puede deducir que si bien es cierto la aplicación de inhibidores de las prostaglandinas previene la luteólisis, como lo demuestran varios

autores (Aiumlamai et al., 1990; Odensvik et al., 1997; entre otros), parece ser que la liberación de agentes luteolíticos como la PGF2α (por posible trauma endometrial), no intervienen en el desarrollo e implantación del embrión congelado luego de su transferencia en novillas receptoras y en su lugar existen causas diferentes a la liberación de las prostaglandinas que afectan los porcentajes de preñez.

También es importante considerar la posibilidad de no encontrar efectos benéficos del meloxicam en este trabajo aplicado una hora previa a la transferencia embrionaria en una dosis única subcutánea de 0.5 mg/Kg, por un error en el tiempo de aplicación del fármaco, ya que aunque se podrían encontrar concentraciones inhibitorias en una hora, la Cmax se da aproximadamente a las 4 horas en bovinos (EMEA, 2006), o también por una mala elección del fármaco, ya que el meloxicam es COX-2 selectivo y se ha encontrado que la COX-2 es producida por el epitelio luminal del útero y el estroma que rodea el blastocito durante la implantación en ratas. Esta situación indica que la COX-2 tiene un rol fundamental en la implantación (Reese et al., 1999; Chakraborty et al., 1996 citado en Paksoy y Das, 2013). En otro estudio se ha demostrado que las ratas hembras que tienen deficiencia de COX-1 tienen fertilidad y camadas normales, ya que cuando se presenta deficiencia de la enzima COX-1, la COX-2 la suple (Reese et al., 1999 citado en Paksoy y Das, 2013). En cambio, en ratas que presentan deficiencia de la COX-2, son infértiles, debido a que la deficiencia de COX-2 genera defectos en ovulación, fertilización, implantación y decidualización (Lim et al., 1997 citado en Paksoy y Das, 2013).

Otra posible causa, puede ser la dosis utilizada para el propósito de este trabajo, ya que esta es una dosis recomendada para tratamientos antiinflamatorios, y como lo describen Elli et al. (2001) la dosis administrada de antiprostaglandínicos

puede ser un factor crucial en la explicación de los resultados, ya que se sabe que altas dosis de estos, inducen más efectos deletéreos que benéficos.

6. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados del presente trabajo se puede concluir que la aplicación de 0.5 mg/Kg de meloxicam por vía subcutánea una hora antes de la transferencia de embriones congelados en novillas receptoras *Bos indicus x Bos taurus*, no favorece el porcentaje de preñez independiente del estadío y la calidad del embrión (mórulas y blastocistos, con calidades 1 o 2).

Teniendo en cuenta los resultados favorables encontrados por otros autores con AINEs diferentes al meloxicam, creemos que se pueden realizar otros estudios con estos antiinflamatorios, pero enfocados a las condiciones agroecológicas del lugar de trabajo, cambiando dosis, momento de administración, tiempo de administración o combinación con otras estrategias antiluteolíticas ya sean hormonales o farmacológicas.

7. LISTA DE REFERENCIAS

Adams, H. R (2003). *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Editorial Acribia. Segunda Edición.

Aguiar, T., Araújo, C., Tirloni, R. and Martins, L. (2013), *Effect of Meloxicam on Pregnancy Rate of Recipient Heifers Following Transfer of In Vitro Produced Embryos*. Reproduction in Domestic Animals, 48: 984–988. doi: 10.1111/rda.12197

Aiumlamai, S., Odensvik, K., Stabenfeldt, G., Kindahl, H. (1990) *Regulation of prostaglandin biosynthesis with flunixin meglumine in the bovine species.* J. Vet. Med. A., 37, 16–22.

Amiridis, G.S., Tsiligianni, Th., Dovolou, E., Rekkas, C., Vouzaras, D., Menegatos, I. (2009) *Combined administration of gonadotropin-releasing hormone, progesterone, and meloxicam is an effective treatment for the repeat-breeder cow*. Theriogenology, 72, 542–548

Botana, L. M., Landoni, M. F., Martin-Jimenez, T. (2002). *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Editorial Mc Graw Hill. Interamericana Primera Edición.

Colazo, M.G y Mapletoft, R.J. (2007). *Estado actual y aplicaciones de la transferencia de embriones en bovinos*. Ciencia Veterinaria, 9 (1), 20-37.

Cutini, A., Teruel, M. y Cabodevila, J. (2000). *Factores que determinan el reultado de la transferencia no quirúrgica de embriones bovinos.* Taurus, 7, 28-39.

Elli M, Gaffuri B, Frigerio A, Zanderdelli M, Covini D, Candiani M, Vignali M. (2001). *Effect of a single dose of ibuprofen lysinate before embryo transfer on pregnancy rates in cows*. Reproduction, 121, 151-154.

Garrote, M., Scardaccione, L. (2010) *Efectos de la aplicación de Meloxicam al momento de la transferencia embrionaria sobre la tasa de preñez de receptoras bovinas.* (Trabajo Final Especialidad en Reproducción Bovina), Universidad nacional de Córdoba, facultad de ciencias agropecuarias. Argentina

Garzón, N., Urrego, Giraldo, C. A. (2007, octubre 31). *Algunos factores que afectan los tratamientos de superovulación en la transferencia de embriones bovinos.* Volumen 2. Número 2. Obtenido el 28 octubre, 2012, desde http://www.revistamvzces.com/revistas/vol2no2/articulo8.pdf.

Gómez, C., Transferencia de embriones experiencias en Colombia. Memorias del Congreso Internacional de Reproducción Bovina (Intervet), Bogotá, 2005, p.155-158.

Hafez, E.S.E, Hafez B; (2002). Reproducción e inseminación artificial en animales. Editorial Mc Graw Hill. Séptima edición.

Heinrich, A., Duffield, T. F., Lissemore, K. D. y Millman, S. T. (2010). *The effect of meloxicam on behavior and pain sensitivity of dairy calves following cautery dehorning with a local anesthetic.* Journal Dairy Science, 93, 2450 – 2457.

International Embryo Transfer Society. (2011, diciembre). *Statistics and Data Retrieval Committee Report The year 2010 worldwide statistics of embryo transfer in domestic farm animals Prepared by Brad Stroud, DVM – Chairperson. http://www.iets.org/pdf/December2011.pdf*

Instituto catalán de farmacología, *Meloxicam: implicaciones clínicas de la inhibición selectiva de la ciclooxigenasa*. Butlletí groc, Vol. 10, nº2 marzo - abril 1997, desde http://www.icf.uab.es/es/pdf/informacio/bg/bg102.97e.pdf

Looney, C.R., Nelson, J.S., Schneider, H.J., Forrest, D.W. (2006) *Improving fertility in beef cow recipients.* Theriogenology, 65, 201-209.

López, M. (2001) *Efectos renales de los inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2 (cox-2) en la cirrosis. Estudios In vivo en ratas inducidas a cirrosis y estudios In vitro en células mesangiales.* (Tesis de doctorado) Facultad de medicina, universidad de Barcelona. España.

McNaughtan, J. (2004) *the effect of prostaglandin inhibitor on pregnancy rates of heifer embryo transfer recipients.* (Tesis de maestría) Department of Plant & Animal Sciences Brigham Young University. EE.UU.

McDougall, S., Bryan, M.A. y Tiddy, R.M. (2009), *efectos del tratamiento con el anttinflamatorio no esteroidal meloxicam sobre la producción de leche, recuento de células somáticas, probabilidad de retratamiento y sacrificio de vacas lecheras con mastitis clínica suave.* J. Dairy Sci., 92, 4421–4431.

Micó, J.A., Moreno-Brea. M.R., (2000) *Inhibidores de la cox-2: mecanismo de acción.* Presentado en: congreso de la SED, IV Reunión de la sociedad del Dolor (Badajoz, 2000).

Odensvik, K., Cort, N., Basu, S., Kindahl, H. (1989), *Effect of flunixin meglumine on prostaglandin F2$_a$ synthesis and metabolism in the pig*. J. Vet. Pharmacol. Ther., 12, 307–311.

Odensvik, K., Gustafsson, H. (1994), *Effect of flunixin during asynchronous embryo transfer in the heifer*. Anim. Reprod. Sci., 36, 13–24.

Odensvik, K. (1995), *Pharmacokinetics of flunixin and its effect on prostaglandin F2ₐ metabolite concentrations after oral and intravenous administration in heifers*. J. Vet. Pharmacol. Ther., 18, 254–259.

Odensvik, K., Magnusson, U. (1996), *Effect of oral administration of flunixin meglumine on the inflammatory response to endotoxin in heifers*. Am. J. Vet. Res., 57, 201–204.

Odensvik, K., Gustafsson, H., Kindahl, H., (1997), *The effect on luteolysis by intensive oral administration of flunixin granules in heifers,* Animal Reproduction Science, 50, 35–44.

Ogino, K., Hatanaka, K., Kawamura, M., Katori, M., Harada, Y. (1997), *Evaluation of pharmacological profile of meloxicam as an anti-inflammatory agent, with particular reference to its relative selectivity for cyclooxygenase-2 over cyclooxygenase-1.* Pharmacology, 55(1), 44-53.

Oyuela, L.A., Jiménez, C. (2010). *Factores que afectan la tasa de preñez en programas de transferencia de embriones*. Revista Médica Veterinaria y Zootécnica, 57, 191-200

Paksoy, Z. y Das, H., (2013*). Nonsteroid Anti-Inflammatory Drugs to Improve Fertility in Cows, Success in Artificial Insemination - Quality of Semen and Diagnostics Employed*, Dr. Alemayehu Lemma (Ed.), ISBN: 978-953-51-0920-4, InTech, DOI: 10.5772/51910. Available from: http://www.intechopen.com/books/ success-in-artificial-insemination-quality-of-semen-and-diagnostics-employed/ nonsteroid-anti-inflammatory-drugs-to-improve-fertility-in-cows

Palma, G.A., (2001), *Biotecnología de la Reproducción*. Primera edición. Editor. Ediciones INTA. Balcarce. Argentina. 704 pp.

Palma, G.A., (2008), *Biotecnología de la reproducción*. Segunda edición. Ediciones INTA, Argentina. Balcarce. pp. 669.

Palma, G. A., BREM, G., (1993), *Transferencia de Embriones y biotecnología de la reproducción en la especie bovina*, hemisferio sur, Buenos Aires, Argentina, pp. 502.

Purcell, S.H., Beal, W.E., Gray, K.R., (2005), *Effect of a CIDR insert and flunixin meglumine, administered at the time of embryo transfer, on pregnancy rate and resynchronization of estrus in beef cattle.* Theriogenology, 64, 867–878

Rodríguez, J. M., (2001), *reproducción bovina.* Fundación Girarz, Venezuela.

Scenna, F.N., Edwards, J.L., Rohrbach, N.R., Hockett, M.E., Saxton, A.M., Schrick F.N., (2004), *Detrimental effects of prostaglandin F2 α on preimplantation bovine embryos*. Prostaglandins & other Lipid Mediators, 73, 215–226.

Scenna, F.N., Hockett, M.E., Towns, T.M., Saxton, A.M., Rohrbach, N.R., Wehrman, M.E., Schrick, F.N., (2005), *Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows*. Prostaglandins & other Lipid Mediators, 78, 38–45.

Schrick, F. N., Hockett, M. E., Towns, T. M., Saxton A. M. y Wert, N. E. (2001), *Administration of a prostaglandin inhibitor immediately prior to embryo transfer improves pregnancy rates in cattle*. Theriogenology, 55,370 (Abstract).

Seals, R.C., Lemaster, J.W., Hopkins, F.M. y Schrick, F.N., (1998), *Effects of elevated concentrations of prostaglandin F2α on pregnancy rates in progestogen supplemented cattle.* Prostaglandins & other Lipid Mediators, 56, 377–389.
Stringfellow, D. A., y Seidel, S. M. (1998). *Manual of the international embryo transfer society.* IL, USA

Sumano, L. H., Ocampo C. L., (2001). *Farmacología Veterinaria*. Editorial Mc Graw Hill. Tercera Edición.

Tovío, N., Duica, A., Grajales, H., (2008), *Desarrollo embrionario y estrategias antiluteoliticas hormonales en programas de transplante de embriones bovinos*. Rev.MVZ Córdoba, 13(1), 1240-1251.

Wanamaker, B. P., Locket, K. M. (2009). *Applied Pharmacology for Veterinary Technicians*. Editorial Elsevier. Cuarta Edición.

Yousif, M.H. y Thulesius, O., (1998), *Tocolytic effect of the cyclooxygenase-2 inhibitor, meloxicam: studies on uterine contractions in the rat*. J Pharm Pharmacol., 50(6), 681-685.

Agencia Europea para la evaluación de Productos Medicinales, 2006. Recuperado de www.emea.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_Product_Information/veterinary/000033/WC500065777.pdf

www.aguazul-casanare.gov.co

www.businesscol.com/comunidad/colombia/departamentos_de_colombia/casanare.htm

www.prostaglandina.com/bioqumica_de_las_prostaglandinas

www.mani-casanare.gov.co/nuestromunicipio

www.yopal-casanare.gov.co/nuestromunicipio