

## LA DETERMINACION DE PROGESTERONA EN LECHE COMO UN PARAMETRO EN EL CONTROL DE LA FERTILIDAD EN BOVINOS

Vivian González\*  
Richard Taylor\*\*

El no retorno al estro y la palpación del tracto reproductivo por personal calificado han sido los métodos clásicos utilizados para el diagnóstico de preñez en bovinos (29, 42). La utilización del primer método en bovinos puede conducir a un descenso en la tasa de fertilidad del hato (20), ya que para que resulte efectivo es imprescindible una detección exacta del estro por parte del personal de la finca que garantice la inseminación en el momento adecuado (5, 6, 15, 29, 45). Appleyard en un estudio realizado en varias fincas encontró que el personal logró detectar únicamente un 65 % de los estros (5), Shemesh *et al.* reportaron valores de exactitud para el personal de la finca debidamente entre-

nado, los inseminadores y la determinación del estro mediante niveles de progesterona en leche de 83 %, 95 % y 96 % respectivamente (35). Frecuentemente el estro en bovinos es de corta duración, pobremente definido y se manifiesta durante la noche (5, 15), razón por la cual algunos autores atribuyen hasta un 90 % de los casos de anestro a una inadecuada detección del mismo (5).

Durante el ciclo estral, que en bovinos tiene una duración promedio de 21 días, los niveles de progesterona varían de acuerdo con el estado funcional del cuerpo lúteo, observándose una elevación en los niveles de esta hormona a partir del día tres, los que se mantienen altos hasta el día 17 ó 18 del ciclo y como consecuencia de la luteólisis en vacas no preñadas, los niveles de progesterona descienden a partir de este momento (5, 11, 34, 37). Por otro lado, en vacas preñadas el nivel de esta hormona se mantiene ele-

\* Escuela de Zootecnia. Facultad Agronomía. Universidad de Costa Rica.

\*\* Cátedra de Fisiología. Escuela de Medicina Veterinaria. UNA, Apdo. 86, Heredia. Costa Rica.

vado después del día 17 ó 18 hasta unas dos o tres semanas antes del parto, en que descienden los niveles, hasta la reiniciación de la actividad ovárica post partum (7, 8, 11).

Inicialmente, en los estudios de subfertilidad se utilizó como complemento el análisis de los perfiles en el plasma o suero sanguíneo, y con el advenimiento de nuevas técnicas ha sido posible determinar los niveles hormonales en leche (5, 10, 12, 25). Múltiples investigaciones han demostrado que la determinación de progesterona en leche es un parámetro importante para evaluar el estado reproductivo en los bovinos (5, 13, 18, 32). La mayoría de los autores han encontrado la existencia de una correlación altamente significativa entre los perfiles de progesterona determinados en leche y plasma o suero sanguíneo (16, 24, 45, 46), observándose, que los niveles de esta hormona son más elevados en la leche. Sin embargo, los perfiles hormonales en ambos líquidos durante el ciclo estral muestran tendencias similares (7, 16, 24, 35, 45, 46). Algunos autores opinan que las diferencias existentes en los niveles de progesterona en la leche respecto a los encontrados en el plasma o suero sanguíneo, se deben fundamentalmente a la presencia de metabolitos esteroides y a otros elementos no determinados que pueden reaccionar de manera inespecífica con el antisuero (16, 19, 26, 29, 33, 36, 38). Heap *et al.* afirman que en las técnicas empleadas para la determinación de la hormona se asume que la cantidad de otros elementos diferentes a la progesterona en reacción con el antisuero, no cambia significativamente durante las primeras cuatro semanas de gestación, y existe además evidencia de que las concentraciones de metabolitos derivados de la progesterona no varían de un animal a otro (14, 17).

Existen factores externos que se deben estandarizar previamente para evitar que se alteren

los niveles detectables de la hormona. Entre los más importantes a considerar están, la conservación y almacenaje de las muestras, la hora de obtención de las mismas y la cantidad de grasa presente en la leche. En lo que respecta a la determinación en plasma y suero sanguíneo, se ha observado que los niveles de progesterona detectables por radioinmunoensayo descienden en relación directa con el tiempo de separación de estos líquidos. Se cree que las causas de este fenómeno se pueden deber a una posible adherencia de la hormona a la superficie de las células sanguíneas, a un posible efecto metabólico sobre la hormona o a factores desconocidos presentes en la sangre total (43, 44). Recomendándose por lo tanto, separar en el menor tiempo posible el suero o plasma con el propósito de minimizar al máximo las variaciones. Es además aconsejable mantener las muestras congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta que se realice la determinación de la hormona. Algunos autores han encontrado que la homogeneización de las muestras de leche mediante calentamiento previo al análisis, aumenta el porcentaje de ligación no específica de la progesterona tritiada, alcanzando niveles no aceptables en el radioinmunoensayo. Este efecto se corrige manteniendo las muestras durante al menos 20 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$  antes de llevar a cabo la determinación (26, 45).

En lo que respecta a la conservación de las muestras de leche se han utilizado diversos tipos de preservantes tales como la azida de sodio y el dicromato de potasio, encontrándose que estas sustancias no hacen variar de manera alguna los niveles detectables de la hormona (9).

Se ha determinado además, que la utilización de una sola muestra en bovinos, ovinos y suinos para el diagnóstico de preñez es poco preciso, reportándose errores hasta del 20 % (18, 41). Se ha logrado determinar que al aumentar el número de muestras obtenidas en diferentes

días, se incrementa la efectividad del diagnóstico de preñez (21, 26).

Estudios realizados por Pope *et al.* afirman que los niveles de progesterona pueden ser afectados por la separación parcial de las fases en la ubre, lo que tiende a hacer variar las muestras durante el ordeño (31). La cantidad de grasa en la leche va a depender de la hora del muestreo, siendo los niveles de progesterona más elevados cuando la muestra se toma durante el ordeño de la tarde (17, 26, 31, 40), ya que el contenido de grasa de la leche es más alto que en el ordeño de la mañana, observándose un aumento del contenido de grasa en la leche hacia el final del ordeño (26). Diversos estudios han hecho evidente la correlación positiva entre la cantidad de grasa en la leche y la concentración de progesterona (3, 8, 17, 26, 27, 45). El análisis de los niveles de esta hormona se realiza tanto en leche descremada como íntegra; y a pesar de que los perfiles hormonales son similares se ha encontrado diferencias significativas entre las concentraciones de la hormona en ambos líquidos (29, 40). En lo que respecta a las concentraciones de progesterona en la leche íntegra y descremada, se ha observado que los niveles en la primera son más elevados, lo que se atribuye al carácter liposoluble de la progesterona y al paso de la hormona de la sangre a la grasa de la leche (3, 15, 29, 40). Algunos autores consideran que la progesterona encontrada en la grasa de la leche proviene no solo del cuerpo lúteo, sino también de una posible síntesis de la hormona a nivel de la glándula mamaria (15, 16).

La utilización de la progesterona en la leche descremada y en contraposición a la leche íntegra, presenta la ventaja de que al momento de toma de la muestra deja de ser una variable importante al eliminarse la grasa, con lo que el análisis se vuelve más rápido y económico al evitarse la extracción de la hormona con solventes orgánicos.

Existen en la actualidad varios métodos para cuantificar los niveles de progesterona, entre los más utilizados están la cromatografía de gases (26) y el radioinmunoensayo (2, 4, 5, 15, 22, 26, 39). Diversos estudios han demostrado que la determinación de progesterona mediante radioinmunoensayo, además de ser el método más confiable, ofrece grandes posibilidades como un complemento valioso en los estudios de fertilidad en bovinos (13, 18, 22, 23, 34).

La mayoría de los investigadores coinciden en que el mejor momento para diagnosticar la preñez mediante la medición de progesterona en plasma sanguíneo y/o leche es entre los 17 y los 21 días posmonta o inseminación, observándose sin embargo, una preferencia por el día 21 (3, 13, 17, 29, 31, 35, 41, 45). Los rangos de exactitud para la determinación varían para animales preñados entre 76 y 98 ‰, mientras que en el caso de los no preñados es de un 100 ‰ (18, 30, 31, 40).

Los niveles de progesterona van a depender principalmente del método de análisis utilizado y de la raza; así, por ejemplo, Agarwal *et al.* encontraron que el ganado Zebú presenta niveles de progesterona más bajos que las razas exóticas (1, 28, 31, 46).

Se ha determinado que los niveles de progesterona en vacas alrededor del día 21 posmonta o inseminación, independientemente de que el análisis se lleve a cabo en plasma o suero sanguíneo, leche íntegra o descremada, muestran un incremento no menor a cuatro veces del observado en animales no preñados (18, 30, 31, 41). El diagnóstico de preñez realizado mediante los niveles de progesterona en la mayoría de los estudios, se ha confirmado mediante palpación rectal 40 a 90 días posmonta o inseminación (3, 29, 31, 41, 45).

Como resultado de estas investigaciones se puede concluir que la determinación de progesterona en leche es de mayor utilidad en la identificación de animales no preñados, afirmándose esto por la presencia de los llamados falsos positivos, producto principalmente del diagnóstico incorrecto del estro al momento de la inseminación o monta (29), a la mortalidad embrionaria (5, 8, 11, 13, 17, 18, 21, 29, 31, 35, 41, 45, 46), a la presencia de un estro seguido de atresia folicular sin desarrollo del tejido luteal (5), a muestras mal tomadas (18), a la elongación del ciclo (8, 18, 35, 41, 45) o a la persistencia del cuerpo lúteo (31).

En la industria lechera, el incremento de los costos de producción hace hoy día más necesario la introducción de técnicas nuevas y novedosas como la discutida en esta revisión, que representa una ayuda para el productor y el médico veterinario.

La determinación de los niveles de progesterona en leche se puede aplicar en la identificación temprana de vacas no preñadas, para confirmar y evaluar el diagnóstico del estro y valorar la función ovárica en animales problema desde el punto de vista reproductivo. También este método puede ser útil en la identificación de quistes foliculares y luteales y en la determinación de la respuesta al tratamiento de los mismos (4, 35, 45).

#### — REFERENCIA BIBLIOGRAFICA —

1. AGARWAL, S. P., RAHMAN, S. A., LAUMAS, K. R., AGARWAL, V. K., AHMAD, A. **Studies on steroid hormones: Progesterone concentration in the blood serum of Zebu cows during oestrus cycle.** *Indian J. Anim. Sci.* **47**: 715-719 (1977).
2. AGTHE, O., KOLM, H. P. **Oestrogen and progesterone levels in the blood plasma of cows with normal parturition or with a retained placenta.** *J. Reprod. Fert.* **43**: 163-166 (1975).
3. ARORA, R. C., BATRA, S. K., PAHWA, G. S., JAIN, G. C., PANDEY, R. S. **Milk progesterone levels to monitor reproductive status of Murrah Buffalo.** *Theriogenology.* **13**: 249-253 (1980).
4. AMSTUTZ, H. E. **Notes on bovine reproduction.** *Modern Veterinary Practice.* **62**: 37-38. (1981).
5. APPELYARD, W. T., COOK, B. **The detection of oestrus in dairy cattle.** *Vet. Rec.* **99**: 253-256 (1976).
6. BULMAN, D.C., LAMMING, G. E. **Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows.** *J. Reprod. Fert.* **54**: 447-458 (1978).
7. CATCHPOLE, H. R. **Hormonal Mechanisms in pregnancy and parturition in Reproduction in domestic animals.** Eds. H. H. Cole y P. T. Cuppe. Academic Press. New York., pp. 341-368 (1977).
8. CAUDLE, A. B., CLEKIS, T., THOMPSON, F. N., VAN CAMP, S. D. **Progesterone in bovine milk fat.** *Theriogenology.* **14**: 329-338 (1980).
9. DOBSON, H., MIDMER, S. E., FITZPATRICK, R. J. **Relationship between progesterone concentrations in milk and plasma during the bovine oestrus cycle.** *Vet. Rec.* **96**: 222-223 (1975).
10. DOBSON, H., FITZPATRICK, R. J. **Clinical application of the progesterone in milk test.** *Br. Vet. J.* **132**: 538-542 (1976).
11. DONALDSON, L. E., BASSETT, J. M., THORBURN, G. D. **Peripheral plasma progesterone concentration of cows during puberty, oestrus cycles, pregnancy and lactation, and the effects of undernutrition or exogenous oxytocin on progesterone concentration.** *J. Endocrinol.* **48**: 599-617 (1970).
12. DZIUK, P. J., ELSAESSER, F., ELLENDORFF, F. **Differences in level of progesterone ( $P_4$ ) between vessels of chronically catheterized gilts,** in **Procedures of the Annual Conference of the Society for the Study of Fertility.** University of Edinburgh., p. 33 (1981).
13. ELLENDORFF, F., MEYER, J. N., ELSAESSER, F. **Prospects and problems of pregnancy and fertility diagnosis in the pig by aid of progesterone determination.** *Br. Vet. J.* **132**: 543-550 (1976).
14. GROSSKOPF, J. F. W., VAN MIEKERK, C. H., MORGENTHAL, J. C. **Plasma progesterone levels in progesterone treated cows.** *Journal of the South African Veterinary Association.* **50**: 37-43 (1979).
15. GINTHER, O. J., NUTI, L., WENTWORTH, B. C., TYLER, W. J. **Progesterone concentration in milk and blood during pregnancy in cows.** *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **146**: 354-357 (1974).

16. HEAP, R. B., GWYN, M., LAING, J. A., WALTERS, D. E. **Pregnancy diagnosis in cows; changes in milk progesterone concentration during the oestrus cycle and pregnancy measured by a rapid radioimmunoassay.** *J. Agric. Sci. Camb.* 81: 151-157 (1973).
17. HEAP, R. B., HOLDSWORTH, R. J., GADSBY, J. E., LAING, J. A., WALTERS, D. E. **Pregnancy diagnosis in the cow from milk progesterone concentration.** *Br. Vet. J.* 132: 445-464 (1976).
18. HOFFMANN, B., GÜNZLER, O., HAMBURGER, R., SCHMIDT, W., **Milk progesterone as a parameter for fertility control in cattle; methodological approaches and present status of application in Germany.** *Br. Vet. J.* 132: 469-476 (1976).
19. HOLDSWORTH, R. J., BOOTH, J. M., SHARMAN, G. A. M., RATTRAY, E. A. S. **Measurement of progesterone levels in whole and fore - mil from dairy cows.** *Br. Vet. J.* 136: 546-554 (1980).
20. LAING, J. A. **Progesterone assays of milk and the control of infertility.** *Br. Vet. J.* 132: 534-537 (1976).
21. LAING, J. A., GIBBS, H. A., EASTMAN, S. A. K. **A herd test for pregnancy in cattle based on progesterone levels in milk.** *Br. Vet. J.* 136: 413-415 (1980).
22. LAMMING, G. E., BULMAN, D. C. **The use of milk progesterone radioimmunoassay in the diagnosis and treatment of subfertility in dairy cows.** *Br. Vet. J.* 132: 507-517 (1976).
23. LENTON, E. A., NEAL, L. N. *Rescue of the corpus luteum: correlation between the appearance of hCG and the increase in progesterone secretion, in Proceedings of the Annual Conference of the Society for the Study of Fertility.* University of Edinburgh., p. 29 (1981).
24. McCAUGHEY, W. J., COOPER, R. J. **An assessment by progesterone assay of the accuracy of oestrus detection in dairy cows.** *Veterinary Record.* 107: 508-510 (1980).
25. MOUGY, S. A., HESHMAT, H. A., TAHA, A., ABDEL FATAH, A. *Plasma levels of progesterone oestrogen and prostaglandins in the pregnant onehumped camel, Camelus dromedarius, in Proceedings of the Annual Conference of the Society for the Study of Fertility.* University of Edinburgh., p. 31 (1981).
26. NUTI, L. C., WENTWORKTH, B. C., KARAVOLAS, H. J., TYLER, W. J., GINTHER, O. J. **Comparison of Radioimmunoassay and Gas Liquid Chromatography Analysis of Progesterone Concentration, in COWS, Milk.** *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.* 149: 877-880 (1975).
27. OLTNER, R., EDQVIST, L. E. **Progesterone in defatted milk: its relation to insemination and pregnancy in normal cows as compared with cows on problem farms and individual problem animals.** *Br. Vet. J.* 137: 78-87 (1981).
28. OYEWOLE, A., EVERETT, H. **Plasma progesterone concentration in Bos taurus and Bos indicus heifers.** *Theriogenology.* 14: 411-419 (1980).
29. PENNINGTON, J. A., SPAHR, S. L., LODGE, J. R. **Factors affecting progesterone in milk for pregnancy diagnosis in dairy cattle.** *Br. Vet. J.* 132: 487-496 (1976).
30. POPE, G. S., HODGSON-JONES, L. S. **Use of plasma progesterone levels in an assessment of embryonic loss in dairy cattle.** *The Veterinary Record,* p. 154 (1975).
31. POPE, G. S., MAJZLIK, I., BALL, P. J. H., LEAVER, J. D. **Use of progesterone concentration in plasma and milk in the diagnosis of pregnancy in domestic cattle.** *Br. Vet. J.* 132: 497-507 (1976).
32. RAPPORT, A. **Hormones and the efficiency of lactation.** *Archives Internales de Physiologie et de Biochimie.* 84: 879-885 (1976).
33. ROBERTSON, H. A., SARDA, I. R. **A very early pregnancy test for mammals: its application to the cow, ewe and sow.** *J. Endocrinol.* 49: 407-419 (1971).
34. ROBERTSON, H. A. **Sequential changes in plasma progesterone in the cow during the estrous cycle, pregnancy at parturition and post partum.** *Can. J. of Anim. Sci.* 52: 645-658 (1972).
35. SHEMESH, M., AYALON, N., SHALEV, E., NERYA, A., SCHINDLER, H., MILGUIR, F. **Milk progesterone measurement in dairy cows: correlation with estrus and pregnancy determination.** *Theriogenology.* 9: 343-351 (1978).
36. SHEMESH, M., AYALON, N., MAZOR, T. **Early pregnancy diagnosis in the ewe, based on milk progesterone levels.** *J. Reprod. Fert.* 56: 301-304 (1979).
37. STABENFELDT, G. H., OSBURN, B. J., EWING, L. L. **Peripheral plasma progesterone levels in the cow during pregnancy and parturition.** *American Journal of Physiology.* 218: 571-575 (1970).
38. STAPLES, L. D., FLEET, I. R., HEAP, R. B. *Progesterone in lymph of the uteroovarian lymphatic network of sheep; a possible immunoregulatory role in early pregnancy, in Proceedings of the Annual Conference of the Society for the Study of Fertility.* University of Edinburgh., p. 62 (1981).
39. SUGDEN, E. A. **Rapid Radioimmunoassay of progesterone in unextracted bovine plasma.** *Can. J. Comp. Med.* 42: 229-234 (1978).

40. THIEBER, M., FOURBET, J. F., PAREZ, M. Relationship between milk progesterone concentration and milk yield, fat and total nitrogen content *Br. Vet. J.* **132**: 477-486 (1976).
41. THIRAPATSUKUN, T., ENTWISTLE, K. W., GARTNER, R. J. W. Plasma progesterone levels as an early pregnancy test in beef cattle. *Theriogenology*. **9**: 323-328 (1978).
42. THUN, VON R., EGGENBERGER, E., ZEROBIN, K., SUMMERMATTER, P., F' LUKIGER, A., GAILLARD, C. Praktische Erfahrung mit dem Milch-Progesterone-Test (MPT) zur brunst' und Non-return - diagnose beim Rind. *Zuchthyg.* **15**: 7-14 (1980).
43. VAHDAT, F., HURTGEN, J. P., WHITMORE, H. L., SEGUIN, B. E., JOHNSTON, S. D. Decline in assaya-  
ble progesterone in bovine plasma: Effect of time temperature, anticoagulant, and presence of blood cell. *American Journal of Veterinary Research.* **42**: 521-522 (1981).
44. VAHDAT, F., HURTGEN, J. P., WHITMORE, H. L., HOHNSTON, S. D., KETELSEN, C. L. Effect of time and temperature on bovine serum and plasma progesterone concentration. *Theriogenology*. **12**: 371-374 (1979).
45. VAN DE WIEL, D. F. M., VAN ELDIK, J., KOOPS., W., POSTMA, A., OLDENBROEK, J. K. Fertility control in cattle by use of the "Milk progesterone test". *Tijdschr. Diergeneesk.* **103**: 91-101 (1978).
46. WISHART, D. F., HEAD, V. A., HORTH, C. E., SEARLE, G. D. Early pregnancy diagnosis in cattle. *Vet. Rec.* **96**: 34-38 (1975).