

Liberación de gonadotropinas hipofisiarias y factores que la afectan durante el postparto bovino. Revisión.

Guillermo Henao, MV, MS¹; Luis E. Trujillo, MV, Esp¹ y Juan G. Maldonado MV, MS²

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia.

²Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad de Antioquia.

(Recibido 3 diciembre, 99; aceptado 7 marzo, 2000)

Resumen

El restablecimiento de la actividad reproductiva durante el período postparto de los bovinos depende de la síntesis y liberación hipotalámica de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y de la recuperación de la sensibilidad hipofisiaria al estímulo de esta neurohormona para liberar diferencialmente hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), las cuales propician el crecimiento folicular y la ovulación. Pocos días después del parto el hipotálamo puede sintetizar y liberar GnRH en pequeños pulsos de baja frecuencia para estimular la liberación de FSH, que propicia el desarrollo de ondas foliculares, pero solamente después de un período de tiempo variable, puede liberar pulsos altos y frecuentes de GnRH para estimular la liberación de LH que propicia la maduración final del folículo y la ovulación. La liberación de LH está influenciada por diferentes factores, como el amamantamiento y el desbalance nutricional, que pueden retardar la oleada preovulatoria, prolongando el anestro postparto. La intervención zootécnica sobre los factores que controlan la síntesis y liberación de gonadotropinas hipofisiarias puede reducir el anestro postparto y mejorar la eficiencia reproductiva de los bovinos.

Palabras clave: amamantamiento, anestro postparto, GnRH, gonadotropinas, nutrición.

Introducción

La eficiencia reproductiva bovina es un carácter complejo de la producción pecuaria en cuya manifestación intervienen muchas funciones fisiológicas que interactúan en forma sincronizada. La función cíclica reproductiva de los mamíferos euterios depende de una integración equilibrada del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas para que en un momento determinado se favorezcan la maduración, la liberación y la unión de los gametos masculinos y femeninos para posibilitar la continuidad de las especies. Se ha reconocido que la principal deficiencia reproductiva de los bovinos es ocasionada por el prolongado anestro postparto, que

genera una tasa de natalidad inferior a la de su potencial biológico (41).

La recuperación de la función cíclica ovárica después del parto, está precedida por el restablecimiento de la liberación pulsátil hipotalámica de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) a la circulación portal y por la recuperación de la sensibilidad hipofisiaria al estímulo de esta neurohormona para liberar hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH) en cantidades, frecuencias y momentos adecuados, de manera que se establezca un ambiente propicio para el crecimiento folicular y la ovulación (19, 20, 40, 54).

Durante el período postparto de los bovinos, la actividad reproductiva frecuentemente es afectada por factores externos e internos, los cuales por diversos mecanismos y con diferente intensidad perturban el equilibrio neuro-endocrino, prolongando el anestro postparto y disminuyendo la eficiencia reproductiva. Aunque durante los primeros días del período postparto la GnRH no se libera en pulsos frecuentes, no parecen existir limitaciones para el desarrollo folicular a causa de una deficiencia de FSH, pero sí de LH, especialmente en vacas tipo carne que amamantan permanentemente (56) y en vacas lecheras con balance energético negativo (3). En esta revisión se enunciarán los mecanismos de liberación de gonadotropinas hipofisarias y los principales factores que la alteran durante el período postparto, con el fin de contribuir al esclarecimiento del problema del anestro postparto prolongado. Se tendrá en cuenta información de modelos *in vitro* e *in vivo* en ovinos, murinos y bovinos.

Liberación de gonadotropinas hipofisarias.

Las gonadotropinas hipofisarias FSH y LH son glucoproteínas que regulan la función gonadal, incluyendo la producción de hormonas esteroideas sexuales, la maduración de los folículos ováricos en las hembras y el desarrollo de los espermatoцитos en los machos. Cada una de estas hormonas está compuesta por dos subunidades llamadas α y β unidas por enlaces disulfuro. La subunidad α es idéntica para las dos gonadotropinas en la misma especie, mientras que la subunidad β es substancialmente diferente en cada hormona y como tal determina la actividad biológica (9, 11, 29). Las subunidades de gonadotropinas están codificadas por genes diferentes localizados en cromosomas separados (29).

Producción y liberación de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). El mantenimiento de la función de los gonadotropos (células hipofisarias que producen las gonadotropinas), depende de la unión entre el sistema nervioso y el endocrino mediante señales pulsátiles de GnRH sobre la glándula hipófisis. La GnRH es un decapeptido (pyGlu1-His2-Trp3-Ser4-Tyr5-Gly6-Leu7-Arg8-Pro9-Gly-amide10) sintetizado y almacenado en una amplia malla de neuronas distribuidas en el hipotálamo, de donde se libera en forma de pulsos al sistema porta-hipofisario que lo conduce a la hipófisis anterior, para estimular la síntesis y la liberación de FSH y de LH (10).

En la mayoría de mamíferos la GnRH se produce en neuronas localizadas desde la banda diagonal

telencefálica de Broca hasta la cama de núcleos de la estría terminal y del área diencefálica e incluye los núcleos septales triangular y medial, el área periventricular, las áreas preóptica lateral y medial, el hipotálamo anterior y la zona media retroquiásmática del tracto óptico. La mayoría de axones de estas neuronas se proyectan por diferentes rutas hacia la eminencia media y hacia otras estructuras caudales. En las especies en las cuales las células productoras de GnRH están presentes en el hipotálamo medio basal, los axones se extienden hacia la eminencia media y con frecuencia continúan hasta el tallo infundibular para inervar la hipófisis posterior. No todas las neuronas productoras de GnRH envían fibras a la eminencia media (en roedores entre 50 y 75% de las neuronas productoras de GnRH de las áreas septal, preóptica e hipotalámica, son aferentes a la eminencia media), algunas fibras se proyectan extra-hipotalámicamente. Se desconoce la función de estas neuronas productoras de GnRH que no envían fibras a la eminencia media (49).

Receptores de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH-R). La GnRH es liberada y transportada en forma pulsátil a la hipófisis anterior donde tiene afinidad por receptores altamente específicos que regulan la síntesis y la liberación de las gonadotropinas (18). La frecuencia de liberación de GnRH cambia bajo ciertas condiciones fisiológicas y las variaciones en la frecuencia de liberación de pulsos de GnRH regulan diferencialmente la secreción de FSH y de LH y la expresión de genes para las subunidades α , β FSH y β LH *in vivo* (54).

La acción de la GnRH se ha estudiado *in vivo* e *in vitro* utilizando diferentes modelos animales y celulares, sustancias agonistas y antagonistas y técnicas de biología molecular, que han dado origen a un avance rápido en la comprensión de su función y que crearon la posibilidad de su aplicación en procesos zootécnicos y en el tratamiento de diversas alteraciones reproductivas.

Debido a que no ha sido posible mantener cultivos inmortales de células hipofisarias y a la promiscuidad celular en esta glándula, se han dificultado los estudios *in vitro* sobre la GnRH y sus receptores. Recientemente se han logrado cultivos inmortales de células hipofisarias tumorales de ratón (α T3-1) capaces de expresar GnRH-R y la subunidad α de gonadotropinas,

facilitando el estudio de la acción de la GnRH. Otro tipo de células inmortales derivado de células somatolactotrópicas transfectadas con cDNA de subunidad α y con cDNA de GnRH-R son las GGH3, que expresan mRNA para GnRH-R y mRNA para la subunidad α de gonadotropinas, igual que sus proteínas. Estos cultivos celulares han permitido estudiar la afinidad de la GnRH por sus receptores y la regulación sobre ellos. Mientras tanto, los modelos *in vivo* han utilizado ovejas y ratas hipofisectomizadas o castradas con remplazo hormonal (27).

Las células α T3-1 y GGH3 expresan en sus membranas GnRH-R de alta afinidad por la GnRH y sus agonistas (buserelina, cistorelina, gonadorelina, deslorelin, donadorelin, etc.). El número de GnRH-R se aumenta en estas células cuando se exponen a la GnRH; este estímulo parece ocurrir a nivel postranscripcional mejorando la eficiencia de la traducción, puesto que no se determinan cambios en el mRNA de GnRH-R ante el estímulo con la GnRH. El número de GnRH-R en cultivos primarios de gonadotropos de ovejas se aumenta bajo el estímulo de estradiol, pero en células α T3-1 disminuye, mostrando diferencia de la respuesta de estas células con respecto a la de los gonadotropos primarios frente al estímulo estrogénico (27).

Expresión de subunidades de gonadotropinas: La unión de la GnRH con sus receptores activa las proteínas g_q y g_{11} , que estimulan la síntesis de fosfoinosítidos, los cuales bajo la acción de la fosfolipasa C intracelular se transforman en inositol trifosfato (IPT) y diacilglicerol (DAG). El DAG activa la proteínaquinasa C (PKC) a través de la cual la GnRH estimula la síntesis y la liberación de gonadotropinas (27).

La GnRH se libera de manera pulsátil en respuesta a estímulos nerviosos, ejerciendo un efecto diferencial sobre las concentraciones de mRNA de las subunidades α y β de gonadotropinas, que depende de la amplitud y de la frecuencia de los pulsos. En ratas, la administración pulsátil de GnRH activa diferencialmente la concentración del mRNA de la subunidad α y las subunidades β FSH y β LH. Diferentes amplitudes de los pulsos hicieron aumentar las subunidades α y β FSH, pero solamente los pulsos altos hicieron expresar el mRNA de β LH y de GnRH-R. La alteración de la frecuencia de los pulsos de GnRH también produce una expresión diferenciada de gonadotropinas. La secre-

ción máxima de LH ocurrió con pulsos cada 15 a 60 minutos y la de FSH con pulsos cada 120 minutos. Para aumentar el mRNA de GnRH-R se requirieron pulsos con intervalos menores de 120 minutos (23).

En bovinos la expresión de las subunidades de gonadotropinas también es regulada diferencialmente por la frecuencia pulsátil de la GnRH. Vizcarra et al. (54), aplicaron 2 μ g de un agonista de GnRH continuamente o con frecuencias de un pulso cada hora o cada 4 horas a vacas con anestro nutricional y encontraron que la concentración de mRNA para la subunidad α y para β FSH no estuvo influenciada por el tratamiento, mientras que la administración continua decreció la concentración de mRNA de la subunidad β LH y de los GnRH-R. La concentración de LH en el suero aumentó cuando se administró el agonista de GnRH con pulsos cada hora. Estos datos son compatibles con el desarrollo de ondas foliculares en vacas con anestro postparto (24, 25) y con la hipótesis que afirma que la FSH circulante no se encuentra limitada en vacas con anestro nutricional (54). De esta manera también se refuerza el concepto fisiológico de que la amplitud y frecuencia de episodios de liberación de GnRH regula diferencialmente la transcripción de genes de FSH, LH y GnRH-R y la concentración sérica de estas dos hormonas (29, 54).

El patrón de secreción de GnRH que inicia y mantiene los pulsos de LH no es muy claro. En la revisión efectuada por Williams (56), se estableció una relación entre el aumento de la actividad eléctrica de las neuronas del núcleo arcuato y la secreción de LH y entre ésta y la liberación de GnRH a la circulación porta-hipofisiaria. Los estudios sobre requerimientos de GnRH para la ovulación realizados por Karsch et al. (30), llevan a considerar dos modelos teóricos sobre el papel de la GnRH en la liberación de LH. De acuerdo con el modelo determinístico, se necesita un incremento rápido de GnRH para inducir la liberación preovulatoria de LH como ocurre en ratas, conejos y ovejas. De acuerdo con el modelo permisivo, no se requieren cambios en los pulsos corrientes de GnRH para que el ciclo progrese en sus diferentes estados, incluyendo la generación del pico preovulatorio de LH. En este caso, toda la acción relevante de la retroalimentación de los esteroides gonadales se ejerce sobre la hipófisis anterior para sintetizar y liberar LH sin aumentar los niveles ni la frecuencia de liberación de GnRH, como sucede en primates.

Efecto de esteroides, inhibinas, activinas, prolactina, opioides y hormonas tiroideas sobre la

liberación de gonadotropinas: Además de la GnRH, otras sustancias pueden regular la liberación de gonadotropinas:

Testosterona: Los esteroides gonadales son predominantemente responsables de la inhibición de la secreción de GnRH. En ratas machos castrados remplazados con testosterona se reduce el mRNA de gonadotropinas a niveles semejantes a los de los machos intactos, indicando un efecto inhibitorio de la testosterona sobre la liberación de gonadotropinas. Cuando se aumentan los niveles de testosterona se inhibe la secreción de GnRH con reducción consecuyente de gonadotropinas especialmente de LH. Niveles bajos de testosterona estimulan la síntesis de mRNA de la subunidad β FSH y la secreción de niveles basales de FSH. Así, durante períodos de estímulos bajos de GnRH se mantienen los niveles de mRNA de β FSH y la secreción basal de FSH (23, 29).

Estradiol: En ratas hembras ovariectomizadas remplazadas con estradiol (E2) se reduce el mRNA de las tres subunidades de gonadotropinas, aunque el mRNA de la subunidad α se sigue expresando en un 50% de lo expresado por las ratas intactas. Lo anterior indica el efecto inhibitorio de E2 sobre la síntesis de gonadotropinas. Cuando el E2 actúa directamente sobre la hipófisis, causa disminución de la expresión de genes de la subunidad β FSH, reduciendo la transcripción y la estabilidad del mRNA a nivel citoplasmático (29). En bovinos se reconoce el efecto del E2 sobre la inhibición de la secreción de FSH durante la fase folicular (19, 20, 28); sin embargo en humanos y en micos, el E2 estimula directamente a la hipófisis para aumentar la síntesis de GnRH-R y mejorar la respuesta hipofisiaria al estímulo de GnRH según el modelo permisivo (30).

De manera diferente a la acción sobre la hipófisis, el E2 es un estimulante hipotalámico de la secreción de GnRH. Se han encontrado receptores de E2 en neuronas productoras de GnRH en cuyos genes parecen existir elementos respondedores al E2 que estimulan la transcripción de GnRH (23). Para estudiar la acción de retroalimentación del E2 sobre la secreción de GnRH, Karsch et al. (30) utilizaron un modelo fisiológico endocrino de la fase folicular del ciclo estral de ovejas. Inmediatamente después de la ovariectomía se restauraron vía exógena el E2 y la progesterona (P4), de una manera aproximada a la secuencia temporal durante el ciclo. Se creó una fase folicular artificial

mediante la disminución de los niveles de P4 y aumento de los niveles de E2, desde un nivel basal hasta un pico semejante al de la fase folicular. La utilización de este modelo en asocio con la recolección de muestras de sangre del sistema porta, permitió observar que el E2 afecta profundamente la liberación pulsátil de GnRH durante la oleada de LH. La GnRH del sistema porta-hipofisiario se incrementó rápidamente, e inmediatamente se inició una oleada de LH que alcanzó su pico máximo alrededor de dos horas y descendió en las siguientes cuatro horas, sin perdurar tanto como la oleada de GnRH, la cual se sostuvo durante varias horas después del descenso de LH (30). Se desconoce el papel de este incremento de GnRH más allá de la terminación de la oleada de LH.

Progesterona: El efecto de la progesterona sobre la liberación de gonadotropinas depende del medio hormonal que prevalezca al momento de su aplicación o liberación. La conjugación de P4 con E2 es más efectiva que el E2 sólo para reducir el mRNA de las subunidades α , β FSH y β LH después de la ovariectomía. Este efecto se produce por inhibición de la secreción de GnRH y por un efecto inhibitorio directo sobre los gonadotropos (23).

Inhibina y activinas: Se ha demostrado una relación inversa entre la inhibina circulante y la FSH durante el ciclo estral de varios mamíferos. También se ha demostrado una relación cuantitativa entre el incremento de la secreción de inhibina y la supresión de la secreción de FSH en vacas superovuladas. Durante el crecimiento de los folículos dominantes se detecta un incremento de inhibina inmunoreactiva e inmunoactiva, sugiriendo que los folículos de bovinos superovulados secretan gran cantidad de inhibina que se eleva concomitantemente con el nivel de E2 y disminuye el nivel de FSH circulante. Estos hallazgos indican que en las vacas superovuladas el incremento del número de folículos está involucrado en la supresión de FSH endógena por medio de la secreción de inhibina y de E2 (52).

El efecto de la inhibina sobre la síntesis y secreción de LH es menos claro. Algunos estudios muestran aumento, otros disminución y otros no muestran ningún efecto. Tampoco está claro el mecanismo por el cual la inhibina regula la liberación de FSH, pero se cree que a nivel hipofisiario disminuye el número de receptores de GnRH o inhibe la síntesis de proteínas. En ovejas con desconexión hipotálamo-hipófisis el trata-

miento con inhibina disminuye rápidamente los niveles de mRNA de β FSH (23). Otra evidencia clara del papel regulador de la inhibina sobre la FSH se deriva del estudio de inmunoneutralización contra inhibina realizado por Kaneko et al. (28) durante la fase folicular de vacas cíclicas. Estos investigadores encontraron que la inmunización contra inhibina produce incremento marcado de la FSH y aumento del número de folículos medianos y grandes.

El efecto de las activinas sobre el control de las gonadotropinas ha sido menos estudiado debido a la baja disponibilidad de activina recombinante. La activina A aumenta los niveles de mRNA de β FSH dentro de 2 a 4 horas, seguido por estimulación de la secreción de FSH. No se han observado cambios en la secreción de LH o en la concentración de mRNA de las subunidades α o β LH inducidos por activinas (23). Las activinas y la follistatina también regulan la expresión de GnRH-R. La activina A incrementa los niveles de mRNA de GnRH-R en células α T3-1 en una forma dependiente del tiempo y de la dosis. Contrariamente, la follistatina bloquea el efecto de la activina (9, 27).

Prolactina: Después del parto los niveles de prolactina se aumentan en vacas que amamantan o son ordeñadas; sin embargo la hiperprolactinemia en bovinos, a diferencia de otras especies, no interfiere con la liberación de LH ni se relaciona con la prolongación del anestro postparto (48, 31).

Opioides endógenos: El amamantamiento aumenta la liberación de péptidos opioides endógenos y disminuye la concentración media de LH plasmática. La administración de naloxone (inhibidor de péptidos opioides endógenos) a vacas que amamantan, antagoniza inmediatamente el efecto negativo del amamantamiento sobre la liberación de LH. La concentración media de LH en el suero de vacas amamantando tratadas con naloxone, fue similar a la de vacas que se les removió la cría, lo cual refuerza el concepto de que la remoción del estímulo del amamantamiento elimina la inhibición de la liberación de LH por los opioides endógenos (39), pero el amamantamiento no es la única causa de liberación de péptidos opioides endógenos.

Otros factores también pueden regular la expresión de genes de gonadotropinas; por ejemplo, las hormonas tiroideas pueden aumentar o disminuir los niveles hipofisarios de mRNA de las subunidades β FSH y β LH, dependiendo de la dosis y de la presencia de gónadas (33).

Reanudación de la liberación de gonadotropinas postparto.

La reanudación de la actividad cíclica ovárica postparto se produce cuando se restablece el equilibrio neuro-endocrino entre el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios. Durante la etapa final de la gestación el hipotálamo y la hipófisis están sometidos a la acción de altas concentraciones de esteroides placentarios que inhiben la producción y la liberación de GnRH y de gonadotropinas (40). La expulsión de la unidad fetoplacentaria durante el parto se acompaña de una disminución aguda de la concentración de P4 y de E2 en la circulación. Esto ocasiona la remoción de la acción de retroalimentación negativa del eje hipotálamo hipófisis y permite la recuperación gradual de la función de los gonadotropos (40). El hipotálamo contiene cantidades suficientes de GnRH para estimular la hipófisis en el postparto temprano (5 a 30 días) de vacas tipo carne (38), pero su liberación parece estar inhibida. Braden et al. (5) detectaron menores cantidades de GnRH hipotalámica en vacas cíclicas que en vacas anéstricas y sugirieron que durante el período de anestro postparto la liberación de GnRH puede estar inhibida y por eso su producción se acumula en depósitos hipotalámicos.

Durante el postparto temprano se reanuda la síntesis de LH en los gonadotropos bovinos y se presenta un incremento gradual desde 400 μ g/g el día 5 hasta 1100 μ g/g el día 30. Durante este mismo tiempo no se detectan cambios significativos en el número de receptores de GnRH en los gonadotropos (38). El estímulo con agonistas de GnRH durante el postparto temprano produce liberación de niveles de LH semejantes a los de la fase lútea de un ciclo estral normal (16). Esta información sugiere que durante el postparto temprano no existe alteración en la sensibilidad de la hipófisis para responder al estímulo de la GnRH y en vez de esto, se produce una recuperación gradual de los gonadotropos para sintetizar LH.

La concentración de FSH en los gonadotropos no está deprimida durante el postparto temprano aunque se observa una tendencia a disminuir el nivel de 12 μ g/g el día 5 postparto a 8 μ g/g el día 12; esta disminución no contribuye al anestro postparto, pero tampoco excluye la posibilidad de que se altere la liberación de FSH durante este período (38).

Los cambios para el restablecimiento de la producción y liberación de GnRH y de gonadotropinas duran-

te el postparto representan una recuperación del eje hipotalámico-hipofisiario y del efecto de retroalimentación negativa que ejercían los esteroides durante la fase final de la gestación, el parto e inicio del postparto. Desde el punto de vista endocrino, una vez ocurra esta recuperación, la hembra estaría lista para reanudar el ciclo estral (40).

Alteración postparto de la liberación de gonadotropinas.

La prolongación del anestro postparto en bovinos es la causa más frecuente de retardo de la concepción después del parto. Los principales factores que están asociados con el anestro postparto prolongado son el amamantamiento y la nutrición, los cuales alteran la producción o liberación sincrónica de hormonas necesarias para el restablecimiento del ciclo estral (48).

Amamantamiento: El amamantamiento es el factor que más altera la reanudación de la actividad cíclica postparto en el ganado tipo carne. Las vacas a las cuales se les retira la cría después del parto presentan un anestro postparto más corto que las que amamantan. Mediante estudios ultrasonográficos y hormonales, Henao (24) detectó la ocurrencia de la primera ovulación a los 34.8 ± 13 días postparto en vacas Brahman sin amamantamiento, mientras que en las que amamantaban se presentó a los 63.9 ± 15.5 días ($P < 0.05$). Resultados similares fueron informados por Escobar et al. (13), quienes encontraron presencia de CL a los 59.9 días después del parto en vacas Cebú que no amamantaron y a los 101 días en las vacas con amamantamiento tradicional.

Independientemente del amamantamiento las vacas Brahman reanudan la formación de ondas foliculares con folículo dominante durante el postparto temprano (24), sin embargo, las vacas sin amamantamiento pueden ovular el folículo dominante de la primera o segunda onda postparto (53), mientras las que amamantan presentan una formación sucesiva de ondas con atresia de los folículos dominantes hasta la ocurrencia tardía de la primera ovulación (24).

Las vacas tipo carne (Angus X Hereford) que no amamantan ni tienen contacto con sus crías, pueden presentar su primera ovulación postparto más temprano (14.3 días postparto) que las que no amamantan pero tienen contacto visual, táctil y olfatorio con ellas (22.5 días) y que las que amamantan libremente (35.4 días). Esto sugiere que la presencia de la cría, inde-

pendientemente del amamantamiento, prolonga el período anovulatorio (26). De manera similar, las vacas gemelas que se ordeñan y no tienen contacto con sus crías, presentan aumento del nivel de LH más temprano y desarrollan un anestro postparto más corto que sus gemelas amamantando, indicando un efecto del amamantamiento y no de la lactancia sobre el nivel de LH y primera ovulación postparto (50).

Nett (40) deduce que durante el período postparto de los bovinos ocurren dos fases de recuperación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadas. La primera fase tarda de dos a cinco semanas después del parto y se caracteriza por liberación poco frecuente de pulsos de GnRH a la circulación portal (un pulso cada 4-8 horas). Este modo de secreción estimula la actividad biosintética de los gonadotropos, sin embargo los pulsos de GnRH son muy espaciados y solo alcanzan a estimular la liberación de cantidades pequeñas de LH. La tasa de síntesis de LH se aumenta paulatinamente, pero su liberación sigue estando disminuida, de manera que cada día son mayores los depósitos de esta hormona en los gonadotropos. Puesto que la amplitud de los pulsos de LH depende de la cantidad de LH almacenada en la hipófisis, los pulsos de LH durante el postparto temprano, no tienen suficiente magnitud para inducir la maduración folicular. Cuando la hipófisis recupera sus niveles normales, los pulsos de LH liberados a la circulación tienen suficiente amplitud para estimular el crecimiento folicular y esto marca el comienzo de la segunda fase del proceso de recuperación. Durante esta fase el incremento de la concentración de LH circulante promueve el crecimiento folicular y la síntesis de estradiol, el cual estimula sus propios receptores hipotalámicos y a la hipófisis, incrementando la sensibilidad de estos tejidos al efecto de retroalimentación positivo estrogénico. Así se aumenta la frecuencia de descargas de GnRH, produciendo liberación más frecuente de pulsos de LH que actúan sobre la maduración final del folículo e inducen la ovulación.

Se desconoce el mecanismo por el cual el amamantamiento inhibe la secreción pulsátil de LH, pero se postula que la presencia de la cría es importante. Según Hoffman et al. (26), estímulos sensoriales aún no bien determinados, inducidos por el amamantamiento o la presencia del ternero, atenúan la liberación hipotalámica de GnRH a la circulación portal o la capacidad de la hipófisis para responder apropiadamente al estímulo de la GnRH.

Los estudios realizados por Griffith y Williams (21) con vacas normales, ciegas y anósmicas, que ama-

mantaban sus propias crías o crías ajenas o que no amamantaban, confirman la disminución de la secreción de LH en vacas que amamantan, solamente cuando la madre reconoce a su cría. Las vacas ciegas y anósmicas que amamantaron sus crías y las intactas que amamantaron crías ajenas, presentaron aumento de la frecuencia de pulsos de LH durante el tratamiento (4.6 ± 0.3 pulsos en 5 horas). Las vacas intactas que amamantaron sus crías, tuvieron baja frecuencia de pulsos de LH (1.2 ± 0.01 pulsos en 5 horas). La eliminación de la visión y del olfato impidió a las vacas identificar sus crías y sufrir el efecto negativo del amamantamiento sobre la secreción de LH. Myers et al. (39), anularon el efecto del amamantamiento sobre la disminución de la secreción de LH al aplicar un inhibidor de opioides endógenos (naloxone) y sugirieron que el amamantamiento, al menos parcialmente, inhibe la secreción de LH a través de un mecanismo que involucra a los opioides endógenos.

Las vacas que amamantan y se les interrumpe el amamantamiento en forma brusca, inician un cambio en la función hipotálamo-hipófisis, que conduce al incremento de la liberación de LH de los depósitos en los gonadotropos. Esto promueve el desarrollo folicular y un incremento en la secreción de estrógeno, el cual mejora la respuesta hipofisiaria al estímulo de la GnRH y eventualmente conduce a una oleada de liberación de LH. En vacas anéstricas, la remoción de los terneros después de la tercera semana postparto, produce un aumento de la concentración tónica de LH sérica. La baja concentración de LH en vacas que amamantan no parece ser ocasionada por la lactación sino por el amamantamiento. Williams (56) informa los resultados de sus experiencias sobre el efecto del amamantamiento, del destete, del ordeño de las vacas 8 veces al día, de la presencia de la cría con nariguera y de la combinación del ordeño con la presencia de la cría. Con excepción de las vacas que amamantaron, todas exhibieron liberación tónica de LH y desarrollaron actividad lútea. Sin embargo, las manifestaciones de calor no estuvieron asociadas uniformemente con esta ovulación aparente. Estos resultados confirman que se requiere de un estímulo somatosensor específico proveniente del amamantamiento del ternero para inhibir la liberación de gonadotropinas.

La interrupción del amamantamiento durante 72 horas (destete temporal) por tres veces con intervalo de 20 días a partir de 2.5 meses postparto, redujo significativamente ($P < 0.05$) el anestro postparto (42).

De manera similar, la supresión temporal de la lactancia (cuatro días) en vacas Cebú con anestro postparto prolongado, evaluadas ultrasonográfica y hormonalmente por Henao et al. (25), indujo la manifestación de calor y de ovulación en el 50% de ellas. Las vacas que ovularon después de la supresión temporal de la lactancia, habían presentado previamente ondas foliculares con folículo dominante de diámetro semejante al de un folículo ovulatorio, el cual desarrollaba atresia para dar paso a la emergencia de una nueva onda folicular. Las vacas que no ovularon después de la supresión temporal de la lactancia, habían presentado previamente ondas foliculares con folículo dominante de diámetro menor que el de un folículo ovulatorio y en ellas, los folículos dominantes desarrollados después de la supresión temporal de la lactancia alcanzaron el diámetro de un folículo ovulatorio. Los autores sugieren que en las vacas Cebú con anestro postparto prolongado, la supresión temporal de la lactancia puede inducir estro y ovulación en las vacas que presentaron previamente ondas foliculares con folículo dominante de diámetro semejante al de un folículo ovulatorio y puede inducir incremento del diámetro del folículo dominante en vacas anéstricas con subdesarrollo previo de folículos dominantes.

La limitación del amamantamiento a una vez por día durante 30 a 60 minutos (lactancia restringida) disminuye el período de anestro postparto (6, 43), pero la limitación a dos veces por día, produce resultados inconsistentes (2).

La respuesta a la remoción del ternero de las vacas amamantando, en función del nivel de la LH, depende temporalmente del nivel de energía en la dieta. En dos grupos de vacas cruzadas que recibieron respectivamente 80% y 120% de energía en la dieta (NRC) antes de la remoción del ternero a los 60 días postparto, la concentración sérica de LH el primer día fue mayor en el grupo con 120% de suministro de energía (0.9 ± 0.03 vs 0.05 ± 0.03 ng/ml). A las 24 horas se aumentó aún más la concentración de LH en el grupo sobrealimentado, pero no cambió en el subalimentado. Sin embargo a las 48 horas, la concentración de LH se aumentó ($P < 0.01$) en el grupo subalimentado a 1.4 ± 0.6 ng/ml y se hizo similar al nivel de LH presentado por las vacas sobrealimentadas. De manera similar, el primero y el segundo días, el número de pulsos y el nivel del pulso máximo de LH fueron mayores en las vacas con dietas de 120% de energía que en las de 80%, pero a partir de las 48 horas el número de pulsos y la

amplitud del pulso máximo no fueron diferentes entre los dos tratamientos (55)

Nutrición: La nutrición inadecuada perjudica la función reproductiva en algunas especies mamíferas. Los efectos negativos de la subnutrición pueden actuar sobre los ovarios, el hipotálamo o la hipófisis (44). Las vacas lecheras desarrollan un período típico de balance energético negativo durante la lactación temprana, que se correlaciona negativamente con la primera ovulación postparto (8). Las vacas con balance energético negativo pueden presentar anestro con ovarios inactivos o pueden presentar anestro y desarrollar folículos que no alcanzan la madurez o que se tornan quísticos (35).

La maduración final del folículo ovárico requiere del efecto de la secreción pulsátil de LH. Una restricción de la energía en la dieta suprime la liberación episódica de LH (12, 44), por lo tanto, un mecanismo a través del cual la subnutrición energética afecta el control neuro-endocrino del desarrollo folicular y la ovulación, puede incluir a la LH. Sin embargo, la síntesis de LH no parece alterarse durante los períodos de alimentación deficiente: en cerdas hipoglicémicas no se disminuye la respuesta de la hipófisis al estímulo con dosis fisiológicas de agonistas de GnRH (1); de manera similar responden las ovejas subnutridas castradas (17), las ovejas con hipoglicemia inducida por la aplicación de insulina (12) y las vacas que amamantan y se les restringe el consumo de alimento (47), lo que sugiere que la baja frecuencia de pulsos de LH es un resultado del estrés hipoglicémico. Las observaciones realizadas por Ebling et al. (14) indican que las corderas en crecimiento que reciben dieta restringida, sintetizan suficiente GnRH en el hipotálamo pero desarrollan una falla en el mecanismo de su liberación. Posiblemente el mecanismo de liberación pulsátil de GnRH es relativamente sensible a la subnutrición severa (12; 54).

Mejorando el balance energético en la dieta, Ljokjel et al. (34) acortaron el número de días desde el parto hasta el máximo aumento de progesterona de la primera fase lútea de vacas noruegas; sin embargo, a los 200 días postparto, Scott et al. (45) encontraron en anestro un número mayor de vacas suplementadas con jabones cálcicos de ácidos grasos de cadena corta (CALCFA) que en las vacas no suplementadas. Uno de los métodos más utilizados para mejorar el balance energético de los bovinos durante el postparto temprano, involucra la suplementación en la dieta con dife-

rentes tipos de grasas. La mayoría de estudios sobre suplementación se han desarrollado con objetivos relacionados con índices productivos (consumo de materia seca, digestibilidad, producción y composición de la leche) y menor número de ellos se ha orientado a mejorar el comportamiento reproductivo. En los estudios enfocados hacia la evaluación del efecto de la suplementación con grasas sobre el rendimiento reproductivo de los bovinos, se han encontrado resultados que no son concluyentes debido principalmente a las variaciones de las condiciones entre los tratamientos, aunque a menudo se muestra una influencia positiva de la suplementación grasa sobre el estado reproductivo de las vacas.

No obstante las deficiencias en el conocimiento sobre la relación de la suplementación con grasas y la reproducción, Staples et al. (51) proponen 4 hipótesis a través de las cuales se podría explicar el mecanismo por el cual la suplementación con grasas mejora el comportamiento reproductivo de las vacas:

1. un mejoramiento del estado energético que conduce a un retorno temprano al estro postparto;
2. un aumento de la esteroidogénesis que propicia la fertilidad;
3. la influencia sobre el nivel de insulina para estimular el desarrollo folicular;
4. la estimulación o la inhibición de la producción y liberación de prostaglandina F2a que influye sobre la vida media del cuerpo lúteo.

Los estudios ultrasonográficos recientes realizados por Beam and Butler (3, 4) para caracterizar la función y el patrón de desarrollo del folículo dominante durante las primeras ondas foliculares postparto de vacas Holstein de alta producción, alimentadas con niveles energéticos altos, medios y bajos, o suplementadas con lípidos sobresapasantes (protegidos contra la fermentación ruminal), mostraron que independientemente de la dieta, durante la segunda semana postparto todas las vacas presentaron una onda folicular con desarrollo de folículo dominante (de clase III o IV). Es de tener en cuenta que durante el período evaluado, las vacas en todos los grupos de tratamientos no presentaron diferencias en los niveles de insulina, hormona del crecimiento, ácidos grasos no esterificados ni glucosa. Esto indica que en las vacas lecheras la emergencia de folículos dominantes no es un factor limitante del comportamiento reproductivo durante el postparto temprano y es independiente de las condi-

ciones metabólicas típicas de la primera y segunda semanas postparto.

Considerando todas las vacas del estudio realizado por Beam and Butler (4), la ultrasonografía mostró tres patrones de desarrollo folicular:

1. ovulación del folículo dominante estrógeno-activo de la primera onda postparto;
2. desarrollo de folículo dominante no ovulatorio de la primera onda, con producción de niveles bajos de estradiol, seguido por una o más ondas con folículo dominante no ovulatorio;
3. desarrollo de un folículo dominante no ovulatorio estrógeno-activo que se convierte en quiste.

Una mayor proporción (83.3%) de vacas no quísticas que recibieron niveles energéticos medios en la dieta, ovularon el folículo dominante de la primera onda, comparadas con las que recibieron dietas energéticas bajas (30.8%) y altas (41.7%), mostrando que el número de días a la primera ovulación postparto estuvo correlacionado significativamente con el balance energético. Las vacas que no ovularon el folículo dominante de la primera onda tardaron más en llegar al nadir del balance energético que las que ovularon. La anterior información hace énfasis en la importancia del balance energético durante el período postparto temprano sobre la reanudación de la función reproductiva.

Factores menores que afectan la liberación de gonadotropinas: Además de los factores mayores: amamantamiento y nutrición, otros factores que incluyen, afectan la longitud del anestro postparto (7,15,48). Estos factores pueden afectar independientemente o interactuar para prolongar el anestro. No se conoce el mecanismo por el cual los factores menores prolongan el anestro postparto, sin embargo, es posible que su acción interfiera con la liberación de gonadotropinas. Recientemente se demostró que la raza del padre de la cría afecta la duración del anestro postparto, el cual fue más largo ($P < 0.05$) en vacas Brahman que parieron crías de padre Angus que en vacas del mismo grupo genético que parieron crías de padre Brahman (7). En esta misma investigación se encontró mayor concentración de progesterona y estradiol durante el periparto en el grupo de vacas Brahman gestando de toro Angus que en las que gestaron de toros Brahman, posiblemente como consecuencia de una función adrenal diferente de los fetos de cada grupo genético. Las concentraciones altas de progesterona y estradiol durante

el pre-parto se asociaron con el anestro durante las primeras semanas después del parto, impidiendo que el eje hipotámico-hipófisis fuera capaz de secretar concentraciones adecuadas de gonadotropinas (40); contrariamente, en las novillas Holstein que parieron crías hijas de toros de diferentes razas, se encontró una asociación entre las concentraciones menores de progesterona y estradiol pre-parto y una mejor sincronía de la ovulación después del estímulo de la hipófisis con agonistas de GnRH (22).

El estrés es otro factor que altera el comportamiento reproductivo de manera dependiente de la intensidad y duración y del grado de adaptación. Actividades tan sencillas como la toma de muestras de sangre de vacas tipo carne durante el proestro, anulaban la expresión de signos de estro e inhibieron el pico preovulatorio de LH y la ovulación en el 70% de las vacas (15). Cuando se realizó sujeción y muestreo sanguíneo frecuente de las vacas inmediatamente después del inicio de la manifestación de los signos de estro, el 33% no ovuló ni presentó oleada preovulatoria de LH, pero cuando las vacas se acostumbraron a la sujeción y al muestreo sanguíneo durante 60 días, presentaron menores concentraciones de cortisol y mayor frecuencia de pulsos de LH que las vacas no acostumbradas a este estrés (15). El estrés ambiental también induce la secreción de péptidos opioides endógenos, los cuales a su vez inhiben las descargas hipotalámicas de GnRH y consecuentemente reducen la frecuencia de liberación pulsátil de LH (40).

Otra forma de estrés que altera el comportamiento reproductivo bovino es el estrés térmico, frecuente en zonas tropicales. Las vacas anéstricas sometidas a estrés térmico secretan concentraciones mayores de progesterona que las vacas en confort. Se sugiere que el origen de esta progesterona es adrenal y puede alcanzar hasta 0.7 ng/ml, nivel que puede inhibir la liberación preovulatoria de LH y la ovulación (32). De manera semejante se altera el sincronismo de vacas inducidas al estro con prostaglandinas y se decrecen los picos de LH cuando permanecen largo rato en corrales sin sombra (36). Durante el estrés térmico agudo o crónico se afecta la función endocrina, pero con más facilidad la función dependiente de las hormonas asociadas con el control del balance hídrico, como las hormonas suprarrenales. La acción de los glucocorticoides sobre los gonadotropos parece ejercerse a través del bloqueo de la capacidad de la GnRH para estimular la secreción de LH, aunque este efecto solo se ha comprobado bajo exposición prolongada de la

hipófisis a los glucocorticoides como cuando se hace tratamiento farmacológico o en enfermedades adrenales. En cultivos de gonadotropos bovinos, ovinos y porcinos, el cortisol decrece la cantidad de LH liberada bajo el estímulo de GnRH. Los estudios *in vivo* en bovino indican que los glucocorticoides disminuyen la respuesta de la primera aplicación pero no la respuesta a subsecuentes aplicaciones. Esta diferencia en el efecto de los glucocorticoides sobre la acción de la GnRH puede indicar que los esteroides adrenales actúan preferencialmente sobre la liberación de LH almacenada, sin afectar la síntesis de gonadotropinas. Existe la posibilidad de que durante el estrés se sintetizen y liberen β endorfinas y encefalinas. Estos opioides secretados por la hipófisis durante el estrés pueden inhibir directamente la liberación de gonadotropinas (37).

Conclusiones

En la última década se han adelantado varias investigaciones dirigidas a esclarecer la complicada relación entre el hipotálamo, la hipófisis y las gónadas, las cuales han permitido acumular conocimientos importantes para su aplicación clínica o zootécnica. Se han tenido grandes dificultades en este progreso debido principalmente a la imposibilidad para mantener cultivos celulares inmortales de gonadotropos y a la promiscuidad de las células adenohipofisarias; no obstante, se ha avanzado en la búsqueda del conocimiento por medio de la utilización de cultivos de células tumorales α T3-1 y GGH3, manipulados bajo diferen-

tes técnicas de biología molecular y con la aplicación de modelos *in vivo* con tratamientos quirúrgicos o de replazo hormonal.

El aumento de la concentración de esteroides placentarios en la circulación durante la última fase de la gestación inhibe la producción y liberación de gonadotropinas. Durante el postparto temprano de los bovinos ocurre una recuperación rápida de la capacidad del hipotálamo para sintetizar GnRH, de la hipófisis para sintetizar y secretar gonadotropinas y de las gónadas para responder al estímulo hipofisiario, pero factores mayores como el amamantamiento y el desbalance energético y factores menores como el grupo genético de la vaca, la raza del padre de la cría, el estrés fisiológico, la presencia de toro, la estación del año, la presentación de distocia y la palpación uterina, interfieren el equilibrio neuro-endocrino, afectan la liberación pulsátil de GnRH y prolongan el anestro postparto.

Algunas modificaciones a los sistemas tradicionales de cría, tales como el amamantamiento restringido, el destete precoz, el destete temporal y el balance de la dieta antes del parto y durante la lactancia temprana, favorecen la recuperación de la actividad cíclica ovárica postparto.

Debido a la variedad y complejidad de factores que influyen sobre la duración del anestro postparto, se requieren más investigaciones que ayuden a aclarar el mecanismo de liberación de gonadotropinas.

Summary

Pituitary gonadotropin release and factors affecting bovine postpartum. A review

The reestablishment of reproductive activity during postpartum period in bovine depends on the hypothalamic synthesis and release of gonadotropin releasing hormone (GnRH) and the recovery of pituitary responsiveness for stimulation to this neurohormone to cause differential release of follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH), which produce follicular growth and ovulation. Few days after calving, hypothalamus may synthesize and release GnRH in small pulses of low frequency to stimulate release of FSH that causes the development of follicular waves but only after a variable time, it can release GnRH in high and greater frequency pulses to stimulate release of LH that causes final maturation of the follicle and ovulation. Mayor factors such as suckling and nutritional unbalance and minor factors like breed and season, influence LH release and can delay the preovulatory LH surge and the postpartum anestrus. Technical intervention on factors that control pituitary gonadotropins synthesis and release may reduce postpartum anestrus and improve the bovine reproductive efficiency.

Key Works: *Suckling, postpartum anestrus, GnRH, gonadotropins, nutrition*

Referencias

1. Armstrong JD, Britt JH. Nutritionally-induced anestrus in gilts; metabolic and endocrine changes associated with cessation and resumption of estrous cycle. *J. Anim. Sci.* 1987; 65:508-523.
2. Bastidas P, Troconiz O, Silva O. Effect of restricted suckling on ovarian activity and uterine involution in Brahman cows. *Theriogenology.* 1984; 21: 525.
3. Beam SW, Butler WR. Energy Balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipids. *J. Dairy Sci.* 1998; 81:121-131.
4. Beam SW, Butler WR. Energy balance and ovarian follicular development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.* 1997; 56: 133-142.
5. Braden TD, Cermak DL, Mans J, Niswinder GD, Nett TM. Hypotalamic GnRH, pituitary FSH and LH and pituitary receptors for GnRH and estradiol in cycling beef cows. *Proc. West. Sect. Amer. Soc. Anim. Sci.* 1983; 34:215-218.
6. Brito R, Tolno TY, García R. Comparación entre el sistema de limitación del amamantamiento y el de cría tradicional en el ganado Cebú. *Rev. Cub. Cienc. Vet.* 1988; 19(4):299-303.
7. Browning R Jr., Leite-Browning ML, Lewis AW, Randel RD. Sire Breed of calf influences peripartum endocrine profiles and postpartum anestrus in Brahman cows. *Dom. An. Endocrin.* 1996; 13(6):511-517.
8. Butler WR, Everett RW, Coppock CE. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 1981; 53:742-748.
9. Childs GV. Cytochemical studies of multifunctional gonadotropes. *Microsc. Res. Tech.* 1997; 39:114-130.
10. Conn MP. The molecular mechanism of gonadotropin-releasing hormone action in the pituitary. In: *The Physiology of Reproduction*. Second Edition. Edited by E. Knobil and DJ Neil. New York, Raven Press, Ltd., 1994; 32: 1815-1832.
11. Cooke DJ, Crowe MA, Roche JF, Headon DR. Gonadotropin heterogeneity and its role in farm animal reproduction. *Review. Animal Reprod. Sci.* 1996; 41:77-99.
12. Downing JA, Scharamuzzi RJ. The effect of the insulin infusion during the luteal phase of the estrous cycle on the ovulation rate and on plasma concentration of LH, FSH and glucose in ewes. *Theriogenology.* 1997; 47: 747-759.
13. Escobar JF, Jara LC, Galina CS, Fernández-Baca S. Efecto del amamantamiento sobre la actividad reproductiva postparto en vacas Cebú, criollas y F1 (Cebú x Holstein) en el trópico húmedo de México. *Veterinaria Mex.* 1984; 15:243-248.
14. Ebling FJP, Wood R, Karsch FJ et al. Metabolic interfaces between growth and reproduction III. Central mechanisms controlling pulsatile luteinizing hormone secretion in the nutritionally growth-limited female lamb. *Endocrinol.* 1990; 126:2719-27-27.
15. Echterkamp SE. Relationship between LH and cortisol in acutely stressed beef cows. *Theriogenology.* 1984; 22(3):305-311.
16. Fernández IC, Thatcher WW, Wilcox CJ, Call EP. LH release in response to GnRH during the postpartum periods of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 1978; 46: 446-448.
17. Foster DL, Ebling FJP, Micka AF et al. Metabolic interfaces between growth and reproduction. I. Nutritional modulation of gonadotropin, prolactin, and growth hormone secretion in the growth-restricted lamb. *Endocrinol.* 1989; 116:375-387.
18. Gharib SD, Wierman ME, Supnik MA, Chin WW. Molecular biology of the pituitary gonadotropins. *Endocrin. Rev.* 1990; 11: 177-199.
19. Ginther OJ, Kot K, Kulick LJ, Wiltbank MC. Sampling follicular fluid without altering follicular status in cattle: oestradiol concentration early in a follicular wave. *Journal of Reproduction and Fertility.* 1997; 109:181-186.
20. Ginther OJ, Wiltbank M, Cfricke PM, Jibons JR, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.* 1996; 55:1187-1194.
21. Griffith MK, Williams G. Roles of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion, expression of maternal selectivity, and lactational performance in beef cows. *Biol. Reprod.* 1996; 54(4):761-768.
22. Guilbault LA, Thatcher WW, Collier RJ, Wilcox CJ, Drost M. Carry-over effects of periparturient endocrine changes on postpartum reproductive function of Holstein heifers bred to genetically different service sires. *J. Anim. Sc.* 1985; 61:1516-1526.
23. Haisenleder DJ, Dalkin AC, Marshl JC. Regulation of gonadotropin gene expression. In: *The Physiology of Reproduction*, edited by E. Knobil and J.D Neill, New York, Raven Press, Ltd., 1994, 31: 1793-1813.
24. Henao G. Descripción y comparación del restablecimiento del ciclo estral postparto en vacas Brahman sin y con amamantamiento en el trópico colombiano. Tesis MS, Universidad de Antioquia, Colombia, 1998. 28p.
25. Henao G, Trujillo LE, Vásquez JF. Cambios de la dinámica folicular en vacas cebú anéstricas sometidas a suspensión temporal de la lactancia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.* In press. Medellín, Colombia, 2000.
26. Hoffman DP, Stevenson JS, Minton JE. Restricting calf presence without suckling compared with weaning prolongs postpartum anovulation in beef cows. *J. Anim. Sci.* 1996; 74:190-198.
27. Kaiser UB, Conn M, Chin WW. Studies of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) action using GnRH receptor-

- Expressing pituitary cell lines. *Endocrinol Rev.* 1997; 18 (1):46-70.
28. Kaneko H, Nakanishi Y, Akagi S et al. Immunoneutralization of inhibin and estradiol during the follicular phase of the oestrus cycle in cows. *Biol Reprod.* 1995; 53:931-939
 29. Kochman K, Gajewaska A. Biosynthesis of gonadotropins *in vivo*. *Acta Neurobiol. Exp.* 1996; 56:753-756.
 30. Karsch FJ, Bowen JM, Caraty A, Evans NP, Moenter SM. Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. *Biol Reprod.* 1997; 56:303-309.
 31. Lamming GE, Wathes DC, Peters AR. Endocrine patterns of the postpartum cow. *J. Reprod. Fert.* 1981; Suppl. 30:155-170.
 32. Lee CN. Environmental stress effects on bovine reproduction. *Vet. Clin. North Am.: Food Animal Practice* 1993; 9(2):263-273.
 33. Lerrant Y, D' Angelo-Bernard G, Moumni N, Counis R. Effect ambivalent de la thyroxine sur l'expression des gènes des gonadotropines chez le rat intact et gonadectomisé. *Pathol. Biol.* 1988; 36: 973-978.
 34. Ljokjel BK, Klemensdal G, Prestlokken E, Ropstad E. The effect of energy balance on ovarian activity in a herd of norwegian cattle. *Acta Vet. Scand.* 1995; 36:533-542.
 35. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RD, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular development in cattle. *J. Anim. Sci.* 1992; 70:3615-3626.
 36. Madan HL, Johnson HD. Environmental heat effects on bovine reproduction. *J. Dairy Sci.* 1973; 56:1420-1423.
 37. Moberg GP. How behavioral stress disrupts the endocrine control of reproduction in domestic animals. *J. Dairy Sc.* 1991; 74:304-311.
 38. Moss GE, Parfe JR, Marvin CA, Allrich RD, Diekman MA. Pituitary concentrations of gonadotropins and receptors for GnRH in suckled beef cows at various intervals after calving. *J. anim. Sci.* 1985; 60:286-293.
 39. Myers TR, Myers DA, Gregg DW, Moss GE. Endogenous opioid suppression of release of luteinizing hormone during suckling in postpartum anestrous beef cows. *Dom Animal Endocrinol.* 1989; 6(3):183-190.
 40. Nett TM. Function of the Hypotalamic-hypofisial axis during the post-partum period in ewes and cows. *J. Reprod. Fert.*, 1987; (Suppl.) 34:201-213.
 41. Plasse D. Factores que influyen en la eficiencia reproductiva de bovinos de carne en América Latina tropical y estrategias para mejorarla. Manejo de la reproducción bovina en condiciones tropicales. Seminario Internacional. Memorias. Cartagena, 1994; 82-120.
 42. Prieto E, Espitia A, González M. Interrupción temporal del amamantamiento en vacas Brahman del sistema cría libre. *El Cebú*, Octubre 1997; 42-46.
 43. Randel RD. Effect of once-daily suckling on postpartum interval and cow-calf performance of first calf Brahman x Hereford heifers. *J. Anim. Sci.* 1981; 53:755-757.
 44. Schillo KK. Effect of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 1992; 70:1271-1282.
 45. Scott TA, Shaver RD, Zepeda R, Yandel D, Smith TR. Effect of rumen-inert fat on lactation, reproduction and health of high producing Holstein herds. *J. Dairy Sci.* 1995; 78:2435-2451.
 46. Shearer JK, Beede DK. Effects of high environmental temperature on production, reproduction and health of dairy cattle. *Agri-Practice.* 1990; 11(5) Reprinted Veterinary Practice Publishing Company, Santa Barbara, CA. 1991.
 47. Schrick FN, Spitzer JC, Jenkins TC, Henricks DM, Althem TG. Effect of dietary energy restriction on metabolic and endocrine response during the estrous cycle of the suckled cow. *J. Anim. Sci.* 1990; 68:3313-3321.
 48. Short RE, Bellow RA, Staigmiller RB, Berardinelli JG, Custer EE. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.* 1990; 68:799-816.
 49. Silverman AJ, Livne I, Witkin JW. The gonadotropin releasing hormone (GnRH), neuronal system: Immunohistochemistry and in situ hybridization. In: *The Physiology of Reproduction*, Second Edition, edited by E. Knobil and J.D Neill, Raven Press, Ltd., New York, 1994; 28:1683-1709.
 50. Smith JF, Payne E, Tervit HR et al. The effect of suckling upon the endocrine changes associated with anestrous in identical twin dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 1981; (Suppl.)30: 241-249.
 51. Staples CR, Burke JM, Thatcher WW. Symposium: Optimizing energy nutrition for reproducing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1998; 81:856-871.
 52. Taya K, Kaneko H, Takedomi T, Kishi H, Watanabe G. Role of inhibin in the regulation of FSH secretion and folliculogenesis in cows. *Anim Reprod Sci.* 1996; 42: 563-570.
 53. Toribio RE, Molina JR, Fernández M, Kindahl H, Eqvist LE. Effects of calf removal at parturition on postpartum ovarian activity in Zebu (*Bos indicus*) cows in the humid tropics. *Acta Vet Scand.* 1995; 36(3):343-352.
 54. Vizcarra AJ, Wetterman RT, Braden T.D, Turzillo AM, Nett TM. Effect of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) pulse frequency on serum and pituitary concentrations of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone, GnRH receptors, and messenger ribonucleic acid for gonadotropin subunits in cows. *Endocrinol.* 1997; 138 (2):594-601.
 55. Whisnau CS, Kiser TE, Thompson FN, Hall JB. Effect of nutrition on the LH response to calf removal and GnRH. *Theriogenology.* 1985; 24 (5):565-573.
 56. Williams GL. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. *J. Anim. Sci.* 1990; 68: 831-852.