

ARTÍCULO ORIGINAL

Suplementación energética y su efecto en el nivel de colesterol y el perfil hormonal preovulatorio en vacas

Mónica Andrea Moyano Bautista*, Carlos Eduardo Rodríguez

Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Grupo de Investigación en Bioquímica y Nutrición Animal-GIBNA, Avenida Central del Norte, Tunja, Colombia.

RESUMEN: Un balance energético negativo en vacas se traduce en un retraso en la ovulación postparto, por falta de metabolitos para secreción hormonal, afectando la rentabilidad de las producciones lecheras. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de la suplementación, con grasa protegida, sobre la concentración sanguínea de colesterol, progesterona, estradiol y hormona luteinizante preovulatoria en vacas en el municipio de Paipa, Boyacá. Se emplearon 12 vacas de raza Holstein mantenidas en pastoreo a base de kikuyo, trébol y falsa poa y con consumo de agua *ad libitum*; se formaron tres grupos al azar para el suministro de las siguientes dietas: Dieta control, D1: 200g de grasa protegida (Megalac-E®) y D2: 400g de grasa protegida. El periodo de suplementación fue de 60 días; la toma de muestras de sangre se realizó en el pico preovulatorio, examinado mediante evaluación ecográfica, aproximadamente entre 30 y 90 días postparto. Las muestras de sangre fueron enviadas al laboratorio para la cuantificación de cada parámetro. Las vacas suplementadas con grasa protegida evidenciaron un incremento en los niveles de colesterol, progesterona y estradiol, respecto a las del grupo control, con diferencias estadísticas ($p<0,05$) entre grupos. En cuanto a la hormona luteinizante (LH) se presentaron diferencias entre la D2 y los otros dos grupos ($p<0,05$). Se puede inferir que la inclusión de suplementos tales como la grasa protegida en la dieta de vacas recién paridas sirve de coadyuvante para la producción de hormonas gonadotrópicas y esteroides que están directamente relacionadas con la próxima ovulación.

Palabras clave: Grasa protegida, gonadotropinas, hormonas esteroideas.

Energy supplementation and its effect on cholesterol levels and preovulatory hormonal profile in cows

ABSTRACT: A negative energy balance in cows results in a delayed postpartum ovulation, due to the lack of metabolites for hormone secretion, affecting the profitability of milk production. The aim of this work was to evaluate the effect of protected fat supplementation on blood cholesterol concentration, progesterone, estradiol and LH preovulatory hormone in cows of Paipa municipality, Boyacá. Twelve Holstein cows were used; they were kept consuming kikuyu, clover and false poa pasture and water *ad libitum*. Three randomized groups were formed for the provision of the following diets: Control diet, D1: 200 g of protected fat (Megalac - E ®) and D2: 400 g of protected fat. The supplementation period was 60 days and blood sampling was examined in the preovulatory peak with ultrasound evaluation, approximately 30 to 90 days postpartum. Blood samples were sent to a laboratory for the quantification of each parameter. Protected fat supplemented cows showed an increase in cholesterol, progesterone and estradiol levels, regarding the control group with statistically significant differences ($p<0,05$) between groups; regarding LH, there were differences between D2 and the other two groups ($p<0,05$). The inclusion of supplements such as protected fat in the diet of fresh cows is as an adjuvant for the production of gonadotropic hormones and steroids that are directly related to the next ovulation.

Key words: protected fat, gonadotropins, steroid hormones.

* Mónica Andrea Moyano Bautista. Grupo de Investigación en Bioquímica y Nutrición Animal -UPTC. Avenida Central del Norte. Tunja-Boyacá-Colombia. E-mail: moniquitamvz@hotmail.com, moniquitamvz@gmail.com. Teléfono: 3123692097.

INTRODUCCIÓN

La eficiencia reproductiva es uno de los parámetros técnico-económicos que incide con mayor importancia en la rentabilidad de una producción lechera, lo que implica la implementación de estrategias para un adecuado manejo de cada uno de los procesos que intervienen en esta, para llegar a feliz término con la pronta preñez. Lo primero a tener en cuenta es que las vacas estén ciclando normalmente, pues de ello depende la obtención de folículos ováricos, que bien fertilizados se convertirán en embriones y estos en nuevos especímenes para la producción (1).

La dinámica folicular constituye un proceso de continuo crecimiento y regresión folicular, que conduce finalmente al desarrollo del folículo ovárico de cada periodo interestral. Este proceso dinámico, equilibrado y sincrónico, depende de un complejo sistema de relaciones inter e intra-ováricas y de una adecuada función hormonal (1). La hormona luteinizante (LH), es una hormona gonadotrópica de naturaleza glicoproteica, que es producida en la hipófisis y controla la maduración de los folículos, la ovulación, la iniciación del cuerpo lúteo y la secreción de progesterona. El estrógeno y la progesterona son hormonas esteroideas producidas en los ovarios, la primera interviene en el crecimiento del folículo dominante y la segunda refleja la función del cuerpo lúteo y prepara la matriz para la implantación del huevo fecundado (2). Estas hormonas esteroideas se forman a partir del colesterol, el cual es un lípido que se encuentra en los tejidos corporales y en el plasma sanguíneo de los mamíferos, de ahí la importancia del suministro adecuado de alimentos energéticos en aspectos reproductivos de hembras (3).

Un déficit de energía y bajas concentraciones de insulina durante el periodo postparto pueden limitar la capacidad de respuesta del ovario a la estimulación de gonadotropinas, interrumpiendo el ciclo ovulatorio normal (4). Se ha descrito que vacas con un balance energético negativo presentan una disminución de glucosa, disminución de la frecuencia de picos de LH, disminución de la progesterona en plasma y una actividad ovárica limitada (5). Trabajos realizados en ganado bovino y ovino sugieren que con la suplementación de grasa, se presentan cambios metabólicos, morfológicos y hormonales que pueden incrementar el número y el diámetro de los folículos ováricos disponibles para la fertilización. Igualmente, se sugiere que las lipoproteínas del colesterol, promueven la viabilidad de las células granulosas *in vitro* e incrementan la proliferación de células de la teca *in vivo* y que ejercen profundos efectos sobre el sistema de comunicación neurohormonal que

regula la función sexual tanto antes como después de la madurez sexual. Por último, se reporta que los ácidos grasos pueden influenciar en la fertilidad, ya que actúan como precursores de prostaglandinas y pueden afectar la esteroidogénesis a través del incremento en la disponibilidad del colesterol (6).

Sin embargo, el uso de grasas en rumiantes debe ser controlado, ya que transferir ácidos grasos insaturados directamente a los tejidos resulta un poco complejo debido a la biohidrogenación lipídica efectuada por microorganismos ruminales (7). Por ello, se han venido desarrollando estudios con el uso de las grasas protegidas, que son grasas que se caracterizan por ser inertes en el rumen, mantener el contenido energético, no inferir en la digestibilidad de la fibra y ser digeridas completamente en el intestino delgado (6). Desde entonces, varios estudios han demostrado su eficacia en la mejora de aspectos productivos y reproductivos, especialmente en ganado de leche como el incremento del porcentaje de sólidos totales en leche, mantención de condición corporal y aumento en las tasas de preñez aproximadamente en un 30% (9,10). Actualmente, existen productos elaborados a partir de ácidos grasos de aceite de palma cubiertos con moléculas de calcio, denominados Jabón Cálxico, que contiene ácidos grasos poli insaturados como el linoleico y el linolénico.

Los anteriores resultados son muy interesantes; sin embargo, el uso de este tipo de grasa sobrepasante como suplemento energético en el comportamiento hormonal preovulatorio no ha sido bien establecido y la información encontrada en hembras bovinas es muy dispersa; razón por la cual el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto que puede ocasionar la suplementación postparto con grasa protegida de origen comercial sobre la concentración preovulatoria de colesterol, progesterona, estradiol y hormona luteinizante en vacas Holstein mantenidas en pastoreo en el municipio de Paipa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio de tipo experimental con asignación aleatorizada para evaluar el efecto de dos tratamientos de suplementación energética sobre el nivel de colesterol, progesterona, estradiol y hormona luteinizante en vacas Holstein, con un total de 12 hembras (unidades experimentales), durante un periodo total de 60 días. Este ensayo se desarrolló en la Granja experimental Tunguavita de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, localizada en la vereda el Salitre del municipio de Paipa (Boyacá). La granja se encuentra ubicada a una Latitud 0,5°45' Norte,

Longitud 73°45' Oeste, a una altura de 2840 msnm, cuenta con una temperatura promedio de 14,3°C, humedad relativa de 78% y una precipitación anual de 737.9 mm³.

Diseño experimental

Se utilizó un total de 12 vacas de raza Holstein, que tenían entre 2 y 4 partos y se encontraban recién paridas, con condición corporal de 3,0 y un peso promedio de 480 Kg.

Las vacas se mantuvieron bajo el sistema de rotación de praderas a base de kikuyo (*Penisetum clandestinum*), trébol rojo (*Trifolium pratense*) y falsa poa (*Holcus lanatus*) con un consumo en materia seca del 3,2% y consumo de agua *ad libitum*. Se realizó un manejo sanitario establecido en la Granja. Antes de comenzar la fase experimental se realizó examen clínico y reproductivo a todos los animales, para garantizar las condiciones óptimas para la realización del estudio. Las vacas fueron asignadas al azar en tres grupos (cuatro animales en cada uno), para el suministro de las siguientes dietas:

Dieta Control: Sin suplementación de Grasa protegida.

Dieta 1 (D1): Suplementación con 200g de grasa protegida/día (MEGALAC-E®), suministrada en dos tomas (ordeño mañana y tarde), previa adaptación.

Dieta 2 (D2): Suplementación con 400g de grasa protegida/ día (MEGALAC-E®), suministrada en dos tomas, previa adaptación.

El estudio tuvo una duración de 60 días, que comprendía la suplementación energética desde 30 días postparto hasta el momento de la primera ovulación, con el fin de determinar la influencia de cada una de las cantidades de grasa protegida sobre los niveles de colesterol, progesterona, estradiol y hormona luteinizante preovulatorios. Los primeros siete días se manejaron como tiempo de adaptación a las dietas y los restantes 53 días fueron de experimentación, donde se determinarán los parámetros a evaluar. Durante este periodo se realizaron evaluaciones ecográficas periódicas para determinar el momento próximo a la ovulación, teniendo en cuenta que la primera ovulación postparto se presenta normalmente durante los primeros 60 a 90 días (11) y de esta manera realizar la toma de muestras de sangre a cada vaca en el momento preciso. En dicho contexto, el inicio y el final del estro se determinó mediante observación visual del comportamiento homosexual a intervalos de una hora durante las 24 horas del día; el inicio del estro fue considerado cuando la vaca fue receptiva a la monta por primera vez; después de 16 horas fueron palpadas y seguidas ecográficamente cada 3 horas para la determinación

del momento de la ovulación, la cual se verificó mediante la detección de la depresión ovulatoria. En promedio se tomaron muestras los días 45, 60 y 75 días postparto, en dependencia del tiempo de días abiertos de cada vaca. De esta manera en cada grupo de vacas se tomaron muestras de sangre en el momento del pico preovulatorio. De cada vaca se extrajeron muestras de 5 ml de sangre desde la vena coccígea, se almacenaron en tubos vacutainer sin anticoagulante, se centrifugaron a 2500 rpm. Posteriormente, el suero se envió al Laboratorio Animal Lab®, en la ciudad de Sogamoso (Boyacá). Se evaluaron los siguientes parámetros: Concentración de colesterol, Concentración de progesterona, estradiol (17 β estradiol), y LH preovulatorios.

Concentración preovularia de Colesterol

El método empleado para su determinación fue el de Freidewald (1) que se fundamenta en que el colesterol de alta densidad (HDL) es precipitado en presencia de ácido fosfotúngstico y determinado mediante un método enzimático-colorimétrico aplicado para la determinación del colesterol total de la muestra. Este parámetro fue cuantificado en el laboratorio en mg/dl, tomando un rango de referencia para vacas de 80 a 120 mg/dl.

Concentración preovularia de progesterona (P4)

En el presente estudio se utilizó la técnica analítica de Radio Inmuno Análisis (2) (Inmunossay kit®) para la cuantificación de los niveles de P4 en sangre con una variación intra e interensayo del 10% y 13%, respectivamente. Este parámetro se cuantificó en el laboratorio en ng/ml, tomando un rango de referencia para vacas de 0,2 a 14,5 ng/dl.

Concentración preovularia de estradiol (E2)

Se utilizó la técnica analítica de Radio Inmuno Análisis (2) (Inmunossay kit®), prueba que permite determinar residuos de sustancias estrogénicas, particularmente 17 β Estradiol (E2), evitando las posibles reacciones cruzadas con otras estructuras biológicamente similares, utilizando la capacidad o propiedad que tiene el anticuerpo para unirse específicamente a su antígeno. Este parámetro fue reportado por el laboratorio en pg/ml, dando un valor de referencia de 0,5 a 120 pg/ml con una variación intra e interensayo del 5% y 11%, respectivamente.

Concentración preovularia de LH

La cuantificación de esta hormona se realizó por Radio Inmuno Análisis de doble anticuerpo (3). Este parámetro fue reportado por el laboratorio en UI/ml, dando un valor de referencia de 0 a 200 UI/ml.

Procesos estadísticos

El tamaño de la muestra se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 \sigma^2 N}{e^2 (N-1) + Z^2 \sigma^2}$$

Nivel de confianza 95%.

n = tamaño de la muestra.

N = tamaño de la población .

σ =Desviación estándar de la población (como no se tiene su valor se usa una constante de 0.5) .

Z = Valor obtenido mediante niveles de confianza. Es un valor constante que, si no se tiene su valor, se toma en relación al 95% de confianza equivalente a 1,96.

e = Límite aceptable de error muestral que, ya que no se tiene un valor, se toma entre 1% (0,01) y 9% (0,09); para nuestro caso se decidió 0,05 (5%).

Los resultados se compararon entre grupos a través de un análisis de varianza y las diferencias estadísticas se determinaron mediante la prueba de comparación de medias de Tukey. Adicionalmente, se aplica la prueba de análisis de medidas repetidas. La significancia se reportó con un nivel de confianza de 95%. Para ello se usó el paquete estadístico SAS versión 9.2 para Windows. (12)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla se resumen los datos obtenidos en el presente estudio.

Colesterol

A medida que se aumentó el gramaje de grasa protegida en la dieta, aumentó significativamente el nivel de colesterol ($p < 0,05$) entre grupos, el grupo control estuvo por debajo de 160 mg/dl (Tabla).

Inicialmente, se puede observar que los niveles de colesterol en los tres grupos sobrepasan el rango de referencia, debido quizás a un desbalance energético-proteico en los requerimientos de los animales. En lo que respecta al estudio, se puede observar que las vacas suplementadas con grasa protegida evidenciaron un aumento significativo en los niveles de colesterol sanguíneo en momentos previos a la ovulación, lo que concuerda con lo planteado por Portillo (11) donde se describe que la suplementación con lípidos incrementa la concentración total de colesterol en vacas y hembras de otras especies. Se ha observado que una suplementación lipídica, además de aumentar las concentraciones de colesterol, influye directamente en el incremento de la concentración de hormonas como la progesterona, mencionando como posible causa de esto la ovulación de folículos más grandes, y con ello un incremento en la esteroidogénesis (12). En un estudio realizado por Lammoglia *et al.* (4) se alimentaron 37 vacas con dietas de diferente concentración de ácidos grasos, una de ellas con 3,74% (baja concentración grasa), la segunda con 5,20% (mediana concentración grasa) y otra con 6,55% (alta concentración grasa), evidenciado que el colesterol medido en el postparto fue alto en aquellas vacas que recibieron la dieta con alta concentración de grasas respecto a las que recibieron las otras dos dietas (3); encontrándose además mayor concentración plasmática de progesterona, mayor tamaño del folículo ovulatorio, control sobre la regresión del cuerpo lúteo y mejoramiento de los índices de concepción y preñez

TABLA. Valores de colesterol (mg/dl), progesterona (ng/ml), estradiol (pg/ml) y Hormona luteinizante (UI/ml) preovulatorias en vacas Holstein suplementadas con grasa sobrepasante./ *Values of cholesterol (mg/dl), progesterone (ng/ml), estradiol (pg/ml) and preovulatory luteinizing hormone (UI/ml) in Holstein cows supplemented with bypass fat.*

DIETA	NIVELES COLESTEROL	NIVELES DE PROGESTERONA	NIVELES DE ESTRADIOL	NIVELES DE LH
Rango de referencia	80 – 120 (mg/dl)	0,2 - 14,5 (ng/ml)	0,5 – 120 (pg/ml)	(0 - 200 UI/ml)
Control	158,2 ^a (D.S0,22 / E.S0.12)	0,4 ^a (D.S0,077 / E.S0.044)	6,1 ^a (D.S0,22 / E.S0.12)	1,4 ^a (D.S0,28 / E.S0.16)
200 gr de grasa protegida	171,5 ^b (D.S0,52 / E.S0.48)	1,1 ^b (D.S0,65 / E.S0.37)	6,6 ^b (D.S0,22 / E.S0.12)	1,5 ^a (D.S0,54 / E.S0.31)
400 gr de grasa protegida	201,5 ^c (D.S0,34 / E.S0.26)	4,3 ^c (D.S0,44 / E.S0.25)	7,7 ^c (D.S0,22 / E.S0.12)	1,8 ^b (D.S0,36 / E.S0.21)

* Medias con letras diferentes en la misma columna, diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

*DS=Desviación estándar, ES=Error estándar

(14).

Progesterona

Los niveles de progesterona promediados fueron de 0,4ng/ml, 1,1ng/ml y 4,3 ng/ml, respectivamente, en cada dieta, mostrando diferencias significativas estadísticamente ($p<0,05$) entre grupos (Tabla). Los datos obtenidos de la cuantificación de progesterona mostraron diferencias significativas entre dietas, donde se puede observar que las vacas de la dieta D2 tuvieron niveles de 3,9 ng/ml y 3,2 ng/ml superiores al grupo control y D1, respectivamente, señalando que son cambios muy representativos, derivados del incremento en los niveles de colesterol sanguíneo. Respecto a esto, Wehrman *et al.* (5) encontraron que la síntesis de P4 se mejora marcadamente ($p<0,05$) en hembras después de ser suplementadas con grasa por 30 días, asociadas a un incremento en la concentración de colesterol en sangre. Estudios realizados en la ciudad de México, evaluaron tres dietas: control, grasa bovina y grasa protegida sobre la concentración de progesterona resultando 3,3; 3,5 y 4,4 ng/ml de progesterona, respectivamente (16). Por su parte, Williams (6) suplementó vacas con 8% de grasa y determinó en este grupo de animales que el colesterol plasmático total se incrementó 1.7 veces sobre el grupo control y que a los 7 días después de una sincronización de celo los niveles de progesterona circulante preovulatorios fueron mayores de 8,0 ng/ml, mientras que en el grupo control el promedio fue menor de 2 ng/ml (18), datos muy diferentes a los encontrados en el presente estudio.

Estradiol

Los valores de estradiol promediados fueron 6,1 pg/ml; 6,6 pg/ml y 7,7 pg/ml en la dieta control, D1 y D2, respectivamente; notándose diferencias entre los tres grupos que resultaron estadísticamente significativas ($p<0,05$) (Tabla). Los niveles de estradiol, particularmente 17 β estradiol, mostraron un incremento significativo en los grupos de vacas suplementadas con grasa protegida, evidenciando diferencias estadísticas de relevancia, derivadas del incremento en la cantidad de colesterol en la dieta. Según la literatura, las concentraciones de estradiol son de poco valor diagnóstico debido a las amplias variaciones, es decir un rango amplio de concentración, en animales bajo condiciones fisiológicas normales (fluctúa mucho y con gran rapidez, incluso en situaciones patológicas); por lo que estaría indicado realizar determinaciones seriadas en espacios mucho más cortos de tiempo. Sin embargo,

existen reportes que indican que las dietas de vacas suplementadas con grasa protegida incrementan la concentración de metabolitos como el colesterol y las lipoproteínas, tanto en plasma sanguíneo como en el líquido folicular, favoreciendo la capacidad esteroidogénica de las células de la teca interna y de la granulosa, estimulando la producción de 17 β -estradiol en los folículos primarios que se desarrollan durante el periodo postparto, luego de la estimulación provocada por la FSH y la LH.

Hormona Luteinizante

Los niveles de LH obtenidos en las diferentes muestras fueron promediados mostrando valores de 1,4 UI/ml, 1,5 UI/ml y 1,8 UI/ml, para las respectivas dietas; hallándose diferencias significativas estadísticamente ($p<0,05$) entre las vacas de D2 respecto a las otras dos dietas (Tabla). En cuanto a la LH, se observaron ligeras variaciones entre dietas, pero solo la D3 mostró diferencias significativas respecto al grupo control y D2, señalando que la inclusión de grasa protegida en la dieta sí afecta la secreción de esta hormona. Ensayos en ovejas y vacas indican que la adición de ácidos grasos a la dieta aumenta la frecuencia de secreción de LH sugiriendo que estos son parte de las señales que afectan la secreción de las gonadotropinas (18). En un estudio realizado en México, se concluyó que el régimen alimenticio influyó en el pico preovulatorio de LH ($<0,05$), registrándose más rápido en grupos de animales alimentados con concentrado, comparado con el grupo de animales alimentado con heno de avena, y la amplitud y duración del pico de LH no fueron afectadas en el estudio.

El mecanismo por el cual la suplementación de grasa estimula la liberación de LH es desconocido pero hay evidencia de que en vacas productoras de leche existe una disminución de la glucosa en la glándula mamaria proveyendo una señal al sistema de control hipotálamo-pituitaria para secretar más LH. De igual forma, la suplementación de grasa puede incrementar la producción de glucosa a través del incremento de la producción de propionato. Este incremento en glucosa puede tener un efecto positivo en la liberación de LH.

En un estudio realizado por Amescua *et al.* (7) donde se suplementaron vacas Cebú con 400g/animal/día de grasas protegidas (saponificadas), se pudo observar que en este grupo se redujeron significativamente los intervalos parto-primera ovulación y parto-primer celo. Lo que da a entender que la suplementación energética permite optimizar la producción de hormonas esteroides que influyen positivamente en el retorno de la ciclicidad postparto en vacas.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados de este estudio se puede establecer que la suplementación con una dieta energética tiene efectos importantes en la producción de colesterol, LH y hormonas esteroideas en vacas, lo que permitiría reanudar la función reproductiva después del parto rápidamente y presentar una mejor síntesis de hormonas esteroides asociadas a la fertilidad de estos animales. Sin embargo, sería importante realizar estudios donde se realicen evaluaciones más frecuentes a las concentraciones plasmáticas de estas hormonas; así como, su correlación con la próxima preñez.

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Colciencias Jóvenes Investigadores e Innovadores "Virginia Gutiérrez de Pineda", a la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, a la Dirección de Investigaciones (DIN), al Grupo de Investigación en Bioquímica y Nutrición Animal y a los trabajadores de la Granja Tinguavita.

REFERENCIAS

1. Motta P, Ramos N, González C, Castro E. Dinámica folicular en la vida reproductiva de la hembra bovina. *Vet. Zootec.* 2011;5(2):88-99.
2. Castellanos Puerto ACM, Pendás R, Dafonte GSR. Determinación de la hormona luteinizante (LH) en plasma por un métodos inmunoenzimático. *Rev Cubana Invest Biomed.* 2002;2(1):15-20.
3. Colesterol en Bovinos. Portal Veterinaria Albeitar. [Online]; 2001 cited 2013 Diciembre 15. Available from: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/3323/ARTICULOS-RUMIANTES-ARCHIVO/Colesterol-en-bovinos.html>.
4. Galvis R, Correa H. Interacciones entre el metabolismo y la reproducción en la vaca lechera: es la actividad gluconeogénica el eslabón perdido? *Rev Col Cienc Pec.* 2002;15(1):36-50.
5. Santos JE. Factores nutricionales que afectan la reproducción en ganado lechero; 2007. p. 21. En: In II Simposio Internacional de Reproducción Animal; Argentina: Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC); 2007; Córdoba. p. 21-23.
6. Espinoza JL, Ortega R, Palacios A, Guillen A. Efecto de la suplementación de grasas sobre características productivas, tasas de preñez y algunos metabolitos de los lípidos en vacas para carne en pastoreo. *Arch Med Ve.* 2012;42(1):25-32.
7. Reyes D, Hernández M, Ramírez B, Guerrero L, Aranda O, Mendoza M. Efecto de la suplementación con grasa protegida sobre la producción y calidad de carne de toretes mexicanos doble propósito. *Rev MVZ Córdoba.* 2011;16(1): 2292-2301.
8. Friedewald W, Levy R, Fredrickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18(6):499-502.
9. Dudley RA, Vavrejn B. Radioinmunoanálisis en diagnóstico y pruebas médicas. OIEA publications. 2004;24(4): 41-44.
10. Hurn B, Landon J. Antisera for radioimmunoassay. In: Kirkham K, Hunter W. Radioimmunoassay methods. Londres, 1973; p. 121-142
11. Portillo G. Reproducción animal. [Online].; 2013 [cited 2013 Diciembre 16. Available from: http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/libro_reproduccionbovina/cap8.PDF.
12. Zarate Martínez J, Vinay Vadillo J, Carballo O, Hernández Hernández V, Amezcua Manjarres E. Efecto de la alimentación con grasas protegidas en vacas de doble propósito. *Agronomía mesoamericana México.* 2011;22(2):359-366.
13. Lammoglia MA, Willard ST, Hallford DM, Randel RD. Effects of dietary fat on follicular development and circulating concentrations of lipids, progesterone, estradiol - 17 β , 13,14 - dihydro - keto - prostaglandin f₂ and growth hormone in estrous cyclic Brahman cows. *J Anim Sci.* 1997;75(6):1591-1600.
14. Salas Razo G, Herrera Camacho J, Vázquez Gutierrez E, Ku Vera J, Ake López J. Reinicio de la actividad ovárica posparto y concentración plasmática de metabolitos lípidos y progesterona en vacas suplementadas con grasa de sobrepaso.

- Tropical and Subtropical Agroecosystems México. 2011;14(2):385-393.
15. Wehrman ME, Roberson MS, Cupp AS, Kojima FN, Stumpf TT, Werth LA, et al. Increasing exogenous progesterone during synchronization of estrus decreases endogenous 17 beta-estradiol and increases conception in cows. *Biology of Reproduction*. 1993;49(2):214-220.
16. Espinoza J, Palacios A, Ortega R, Guillén A. Efecto de la suplementación de grasas sobre las concentraciones séricas de progesterona, insulina, somatotropina y algunos metabolitos de los lípidos en ovejas Pelibuey. *Arch Med Vet México*. 2008;40(2):135-140.
17. Williams G, Stanko R. Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. *J Anim Sci*. 2000;77:1-12.
18. Uribe Velásquez L, Vélez Marin M, Correa Orozco A. Concentraciones plasmáticas de las hormonas esteroides y de LH en respuesta a la administración de prostaglandinas en ovejas Bergamacia. *Revista Científica, FCV-LUZ*; 2010; 0(5):512-518.
- Recibido: 1-8-2013.
Aceptado: 6-1-2014.