

APLICACIÓN INTRAUTERINA DE FLAVONOIDES EN VACAS LECHERAS PUERPERALES: INVOLUCION DEL TRACTO REPRODUCTIVO Y FERTILIDAD EN AMBIENTES DE ALTITUD ELEVADA

Intrauterine application of flavonoids in puerperal dairy cows: reproductive tract involution and fertility at high-altitude environments

Miguel A. Gutierrez-Reinoso¹, José B. Uquillas-Patiño², Manuel Garcia-Herreros^{3,4}

1 Dirección de
Investigación, Universidad
Técnica de Cotopaxi
(UTC), Latacunga,
Ecuador.

2 Asociación de Ganaderos
Sierra y Oriente (AGSO),
Quito, Ecuador.

3 SENESCYT, Proyecto
Prometeo, Quito, Ecuador.

4 Instituto Nacional de
Investigação Agrária e
Veterinária, I.P. (INIAV),
Portugal

Correspondencia:
Secretaría Nacional de
Educación Superior, Ciencia,
Tecnología e Innovación
(SENESCYT), Av. 9 de
Octubre N22-64 y Ramírez
Dávalos, Quito, Ecuador.
Tel.: (593) 2 2222-777
ext. 2704.

E-mail:
herrerosgm@gmail.com

RESUMEN

El objetivo principal del presente estudio fue evaluar los efectos de la administración intrauterina de flavonoides con el fin de acelerar la involución del tracto reproductivo y acortar el intervalo parto-concepción en vacas lecheras puerperales. Se utilizaron 40 vacas de la raza Holstein (2^a-3^a lactación; CC: 3-3,5) divididas en 4 grupos [1 control (T1) y 3 grupos tratados (T2, T3 y T4)]. El tratamiento consistió en una única administración intrauterina de 90 mg (T2), 180 mg (T3) y 360 mg (T4) de flavonoides ultrapuros (20 ml) el día 10 post-parto. Se midió ultrasonográficamente el cérvix (longitud, anchura y grosor de la pared), útero (diámetro y grosor de la pared) y ovarios (longitud y anchura) durante el período post-parto (días 10, 15 y 21). Como parámetros de fertilidad se tomaron el índice de detección de celo, la tasa de gestación y el intervalo parto-concepción. El diagnóstico de gestación se realizó mediante ultrasonografía (35 días post-inseminación). Se observaron múltiples diferencias significativas en las dimensiones de las estructuras del aparato reproductor (cérvix y útero) en los valores obtenidos a partir de T1, T2, T3 y T4 en los días 10, 15 y 21 post-parto ($p < 0,05$). No se observaron diferencias significativas en las dimensiones ováricas entre los grupos T1, T2, T3 y T4 durante el período post-parto entre los días 10, 15 y 21 ($p > 0,05$). El índice de detección de celos, la tasa de gestación y intervalo parto-concepción difirieron significativamente entre los grupos T1 y T2-T3-T4 ($p < 0,05$), sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los grupos T2, T3 y T4 ($p > 0,05$). En conclusión, la aplicación intrauterina de flavonoides durante el puerperio bovino aceleró la involución del tracto reproductivo (cérvix y útero). Por último, aunque sin diferencias significativas entre tratamientos, la aplicación intrauterina de flavonoides mejoró el índice de detección de celo, la tasa de gestación y el intervalo parto-concepción en comparación con las vacas no tratadas.

Palabras clave: Bovino; flavonoides, tracto reproductivo; involución; fertilidad

ABSTRACT

The main objective of the present study was to evaluate the effects of postpartum intrauterine administration of flavonoids in order to hasten reproductive tract involution and to shorten the parturition-to-conception interval in dairy cows. A total of 40 Holstein cows (2nd-3rd lactation; BC: 3-3.5) were divided randomly into 4 groups [1 control group (T1) and 3 treatment groups (T2, T3 and T4)]. Treatments consisted of one single intrauterine administration on day 10 postpartum of 90 mg (T2), 180 mg (T3) and 360 mg (T4) of ultrapure flavonoids (20 ml). Ultrasonographic measurements of different reproductive tract anatomical structures were scored from cervix (length, width and thickness), uterus (diameter and thickness) and ovaries (length and width) during the postpartum period (day 10, 15 and 21 postpartum). As fertility parameters rate of return to estrus, pregnancy rate and calving-to-conception interval were scored as well. Pregnancy status was performed using ultrasonography (day 35 post-insemination). There were multiple differences ($p < 0.05$) among reproductive tract structure dimensions (cervix and uterus) in values obtained from T1, T2, T3 and T4 groups after ultrasonographic analysis at day 10, 15 and 21. No significant differences were observed ($p > 0.05$) in ovarian dimensions from T1, T2, T3 and T4 groups during the postpartum period after ultrasonographic analysis at day 10, 15 and 21. Return to estrus index, pregnancy rate and calving-to-conception interval differed

between T1 and T2-T3-T4 groups ($p < 0.05$), however, no differences were observed among T2, T3 and T4 groups ($p > 0.05$). In conclusion, intrauterine application of flavonoids enhanced the cervical and uterine involution. Finally, although no significant differences among treatments, the intrauterine application of flavonoids improved the return to estrus index, pregnancy rate and calving-to-conception interval compared with non-treated dairy cows.

Keywords: bovine, flavonoids, uterine involution, fertility

INTRODUCTION

Los problemas de tipo reproductivo son frecuentes durante el período puerperal en el ganado bovino mantenido en ambientes de altitud elevada (Gutiérrez-Reinoso *et al.*, 2016). Esta característica es determinante para los procesos reproductivos que se darán a futuro, tales como el índice de retorno a celo y la tasa de gestación. Por tanto, la involución de las estructuras anatómicas del aparato reproductor de la hembra durante el puerperio debe realizarse de una manera adecuada, respetando los períodos de recuperación de los tejidos ovárico, uterino y cervical, para que su potencial reproductivo y productivo no se vean afectados (Gutiérrez-Reinoso *et al.*, 2016). Además, el eje hipotálamo-hipofisario debe recuperar la funcionalidad adecuada para que el ciclo estral se reanude de nuevo con normalidad y preparar todas las estructuras anatómicas para llevar a cabo una nueva gestación. Así, este período de recuperación reproductiva tiene una importancia crucial para conservar la productividad del ganado bovino, evitando disminuir su fertilidad debido a la dificultad de detección del celo, la prolongación del tiempo de anestro post-parto por una deficiente involución uterina o las bajas tasas de gestación por el estrés generado debido a condiciones ambientales y los sistemas de explotación (Mee, 2012).

Por ello, la aplicación de tratamientos intrauterinos preventivos puede ser una solución factible para evitar problemas reproductivos durante el período puerperal en diferentes condiciones ambientales (Gutiérrez-Reinoso *et al.*, 2015). Sin embargo, a pesar de que se han probado diversos tratamientos durante dicho período, el resultado no ha sido del todo satisfactorio (Silvestre *et al.*, 2009). Este hecho se debe a que muchos principios activos no han tenido un efecto terapéutico adecuado o requieren un período de retiro o supresión del producto tras la administración de éstos. Este hecho aumenta la necesidad de probar nuevos principios activos que además de mejorar la eficiencia reproductiva (índice de concepción en los primeros 85 días post-parto), no tengan como inconveniente una bajada de productividad, generalmente establecida en un parto al año (Hansen, 2014).

Los flavonoides son metabolitos secundarios de origen vegetal de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilo (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los flavonoides están formados a partir de las rutas metabólicas del ácido shikímico y de los policétidos. Así, a partir de las isoflavononas derivadas de las chalconas procedentes de la vía del fenilpropanoide, se formarán los flavonoides. Se ha descrito que los flavonoides se sintetizan a partir de los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina, y también de unidades de acetato (Peluso *et al.*, 2015). Las isoflavonas, aunque no son esteroides, tienen los grupos de hidroxilo en la posición 7 y 4, y una conformación análoga al grupo hidroxilo de la molécula del estradiol. De esta manera tienen la capacidad de ligarse con los receptores del estrógeno. Se han descrito diversas propiedades derivadas de la acción de los flavonoides como principio activo, tales como función antibacteriana, antiviral, antioxidante, antihistamínica, anticoagulante y quelante metabólico (Peluso

et al., 2015). Además estudios muestran que los flavonoides influyen en el crecimiento, la proliferación celular y la apoptosis, debido a su influencia en la expresión génica sobre la transcripción principalmente influyendo en la actividad de las proteínas kinasas y en actividades de carácter antiinflamatorio (Serafin *et al.*, 2010). A pesar del efecto potencial de los flavonoides como agentes antibacterianos y antiinflamatorios, no existen estudios en referencia a su aplicación para mejorar el estado reproductivo post-parto en ganado bovino. Teniendo en cuenta todo lo expuesto anteriormente, el objetivo principal del presente estudio fue evaluar la aplicación intrauterina de flavonoides durante el puerperio con el fin de evaluar su efecto en la evolución de la involución uterina, índice de retorno a celo y tasa de gestación en ganado bovino lechero mantenido en ambientes de altitud elevada.

MATERIAL Y METODOS

En el presente estudio se utilizaron 40 vacas de raza Holstein Friesian (de 3° y 4° parto) ubicadas en el cantón Mejía, provincia de Pichincha, Ecuador (latitud: 0° 30' 36.36" S; longitud: 78° 34' 11.28" W; altitud: 3.200 msnm). El clima de esta región según la clasificación del sistema Köppen-Geiger es Cfb con temperaturas que oscilan desde los 0°C hasta los 21°C y humedad ambiental del 90%. Todos los animales fueron sometidos a un riguroso control sanitario verificando la ausencia de patologías.

Los animales se dividieron en 4 grupos (10 animales por grupo). El primero (T1) se utilizó como grupo control, y a los otros tres grupos se les aplicó intrauterinamente a los 10 días postparto, un volumen de 20 mL de solución terapéutica compuesta por flavonoides identificados mediante el ensayo de reacción de Shinoda (fracción II) y cuantificados mediante espectrofotometría de resonancia magnética (Laboratorios CONFARNAT, Bogotá, Colombia). La aplicación se realizó a diferentes concentraciones (T2: 10%, T3: 20% y T4: 40%) correspondientes a un total de 4,48 mg, 8,96 mg y 17,92 mg totales, respectivamente. Simultáneamente, se tomaron medidas de las diferentes estructuras anatómicas del aparato reproductor (cérvix, útero y ovarios) mediante ultrasonografía (Aloka SSD-500, 5 MHz, Japón). Estas mediciones se repitieron 3 veces a lo largo del puerperio, cada 5 días a partir del día de aplicación de los flavonoides, correspondiendo a los días 10, 15 y 21 postparto. Las mediciones tomadas respecto al cervix fueron las siguientes: longitud total, anchura total y grosor de la pared. Respecto al útero se tomaron las medidas correspondientes a: diámetro mayor y grosor de la pared. En cuanto a los ovarios (izquierdo y derecho) se midió: longitud total, anchura total, tipo de estructuras (folículos y cuerpos lúteos) y número total de éstas. Como parámetros de control de la fertilidad se tomaron el índice de retorno a celo [(N° vacas inseminadas/N° total vacas) X100] y la tasa de gestación [(N° vacas gestantes /N° vacas inseminadas) X100]. El diagnóstico de gestación se realizó mediante ultrasonografía a los 35 días post-inseminación. Finalmente, se realizó un nuevo diagnóstico de confirmación de la gestación el día 75 post-inseminación a todos los animales. Además, se realizó la

estimación de los costos que suponen dichos tratamientos para determinar su viabilidad económica de éstos respecto a los resultados de fertilidad obtenidos. El análisis de los datos se llevó a cabo mediante la utilización del software estadístico SPSS v. 15 para Windows. Tras una previa exploración de los datos, se procedió a la aplicación del test ANOVA para la comparación de las medias. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $P < 0,05$.

RESULTADOS

A continuación en la Tabla 1 se muestran detalladamente los resultados ultrasonográficos correspondientes al cérvix llevados a cabo en el presente estudio:

Tabla 1. Resultados obtenidos respecto a las medidas ultrasonográficas tomadas a partir del cérvix, durante y tras la aplicación intrauterina de flavonoides en los diferentes grupos experimentales

Grupo	Longitud Total (cm)			Ancho Total (mm)			Grosor Pared (mm)		
	10 Días Post-Pt	15 Días Post-Pt	21 Días Post-Pt	10 Días Post-Pt	15 Días Post-Pt	21 Días Post-Pt	10 Días Post	15 Días Post-Pt	21 Días Post-Pt
T1 (CTRL)	8,07 ± 0,28 ^{Aa}	7,28 ± 0,12 ^{ABa}	6,82 ± 0,18 ^{Ba}	57,62 ± 2,08 ^{Aa}	50,62 ± 1,51 ^{Ba}	41,58 ± 1,58 ^{Ca}	12,51 ± 0,71 ^{Aa}	9,22 ± 0,67 ^{Ba}	6,51 ± 0,40 ^{Ca}
T2 (10%)	9,62 ± 0,41 ^{Ab}	7,25 ± 0,59 ^{Ba}	6,62 ± 0,24 ^{Ba}	59,88 ± 3,96 ^{Aa}	49,05 ± 2,62 ^{Ba}	37,56 ± 1,83 ^{Cb}	16,11 ± 1,84 ^{Ab}	9,84 ± 0,59 ^{Ba}	5,73 ± 0,32 ^{Ca}
T3 (20%)	8,81 ± 0,44 ^{Acb}	7,33 ± 0,38 ^{ABa}	6,36 ± 0,27 ^{Ba}	54,54 ± 4,47 ^{Ab}	44,46 ± 3,39 ^{ABb}	36,20 ± 2,31 ^{Bb}	12,51 ± 1,20 ^{Aa}	8,65 ± 0,71 ^{ABb}	6,34 ± 0,57 ^{Ba}
T4 (40%)	9,00 ± 0,36 ^{Acb}	7,36 ± 0,37 ^{ABa}	6,83 ± 0,30 ^{Ba}	53,66 ± 6,26 ^{Ab}	46,56 ± 5,30 ^{ABb}	36,21 ± 2,19 ^{Bb}	11,47 ± 1,15 ^{Aa}	8,73 ± 0,58 ^{ABb}	6,50 ± 0,41 ^{Ba}

Las diferencias entre valores dentro de cada fila (A-C) y dentro de cada columna (a-c) se consideraron significativas cuando $P < 0,05$.

Tabla 2. Resultados obtenidos respecto a las medidas ultrasonográficas tomadas a partir del útero, durante y tras la aplicación intrauterina de flavonoides en los diferentes grupos experimentales

Grupo	Diámetro Total (mm)			Grosor Pared (mm)		
	10 Días Post-Pt	15 Días Post-Pt	21 Días Post-Pt	10 Días Post-Pt	15 Días Post-Pt	21 Días Post-Pt
T1 (CTRL)	46,90 ± 3,14 ^{Aa}	43,99 ± 2,63 ^{ABa}	37,48 ± 1,41 ^{Ba}	15,23 ± 3,34 ^{Aa}	10,29 ± 0,83 ^{ABa}	7,31 ± 0,85 ^{Ba}
T2 (10%)	41,46 ± 6,48 ^{Ab}	34,15 ± 3,86 ^{ABb}	19,96 ± 1,28 ^{Bb}	13,69 ± 3,97 ^{Acb}	9,65 ± 2,65 ^{ABab}	5,74 ± 0,95 ^{Ba}
T3 (20%)	39,86 ± 3,67 ^{Ab}	28,92 ± 1,97 ^{Bc}	24,01 ± 1,40 ^{Bbc}	11,08 ± 0,72 ^{Ab}	7,77 ± 0,59 ^{ABb}	5,28 ± 0,46 ^{Ba}
T4 (40%)	44,76 ± 5,68 ^{ABb}	34,56 ± 3,30 ^{Bb}	28,38 ± 1,76 ^{Bc}	11,73 ± 1,47 ^{Ab}	9,51 ± 1,76 ^{ABab}	5,88 ± 0,48 ^{Ba}

Las diferencias entre valores dentro de cada fila (A-B) y dentro de cada columna (a-c) se consideraron significativas cuando $P < 0,05$.

Como podemos observar en la Tabla 1., se obtuvieron múltiples diferencias significativas en cuanto a las dimensiones de las estructuras del aparato reproductor (cérvix) en los valores obtenidos a partir de T1, T2, T3 y T4 en los días 10, 15 y 21 post-parto ($p < 0,05$).

A continuación en la Tabla 2 se muestran detalladamente los diferentes resultados obtenidos respecto a las medidas ultrasonográficas tomadas a partir del útero, durante y tras la aplicación intrauterina de flavonoides en el presente estudio:

Como podemos observar en la Tabla 2., se encontraron múltiples diferencias significativas en cuanto a las dimensiones de las estructuras del aparato reproductor (útero) en los valores obtenidos a partir de T1, T2, T3 y T4 en los días 10, 15 y 21 post-parto ($p < 0,05$).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a las dimensiones ováricas (longitud y anchura del ovario derecho) entre los grupos T1, T2, T3 y T4 durante el período post-parto entre los días 10, 15 y 21 ($p > 0,05$).

A continuación en la Tabla 3 se muestran detalladamente los diferentes resultados obtenidos respecto a las medidas ultrasonográficas tomadas a partir del ovario izquierdo, durante y tras la aplicación intrauterina de flavonoides en el presente estudio:

El índice de detección de celos, la tasa de gestación y el intervalo parto-concepción difirieron significativamente entre los grupos T1 y T2-T3-T4 ($p < 0,05$), sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los grupos T2, T3 y T4 ($p > 0,05$). Como podemos observar en la Tabla 3., se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al índice de detección de celo entre T1 y los diferentes tratamientos T2-T3-T4 ($p < 0,05$). Igualmente, se observaron

diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la tasa de gestación entre T1 y los diferentes tratamientos T2-T3-T4 ($p < 0,05$). Finalmente, en cuanto al intervalo parto-concepción, observamos que también existieron diferencias estadísticamente significativas entre T1 y los diferentes tratamientos T2-T3-T4 ($p < 0,05$). Finalmente, no se observaron diferencias significativas entre los grupos T2, T3 y T4 ($p > 0,05$).

Tabla 3. Resultados obtenidos tras la aplicación intrauterina de flavonoides respecto al índice de detección de celo, tasa de gestación e intervalo parto-concepción en los diferentes grupos experimentales

Grupo	Índice de Detección Celos (%)	Tasa de Gestación (%)	Intervalo Parto-Concepción (Días*)
T1 (CTRL)	50 ^A	40 ^A	117 ± 21 ^A
T2-T3-T4 (10/20/40%)	75 ^B	66 ^B	94 ± 18 ^B

Las diferencias entre valores dentro de cada columna (A-B) se consideraron significativas cuando $P < 0,05$. * En el parámetro Intervalo parto-concepción no se contabilizan los días de espera (35 días) para el diagnóstico de gestación ultrasonográfico

DISCUSIÓN

El estrés por cambios de temperatura, el gasto energético, la hipoxia, la insuficiencia cardiaca, el edema pulmonar y cerebral son algunas de las consecuencias derivadas de la exposición de animales a elevadas altitudes que conjuntamente afectan al desempeño reproductivo, especialmente la raza Holstein, que difícilmente aguanta altitudes superiores a los 3500 msnm. En el presente estudio, se analizó la utilización de flavonoides durante el período puerperal, mediante el lavado intrauterino con soluciones a diferentes concentraciones, con el fin de evaluar su efecto en la dinámica de la involución uterina, índice de detección de celo, la tasa de gestación y el intervalo parto-concepción en vacas lecheras mantenidas en ambientes de altitud elevada. Como quedó reflejado en los resultados, el tratamiento mediante lavado uterino utilizando flavonoides mejoró los tiempos de involución uterina respecto al control (T1), así como el índice de detección de celo y el intervalo parto-concepción independientemente del porcentaje de flavonoides utilizado. De hecho, los resultados muestran que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre T2-T3-T4, lo que significa que podrían utilizarse satisfactoriamente cualquier tratamiento para garantizar buenos resultados.

Una de las ventajas de realizar lavados uterinos con flavonoides radica en que se trata de un principio activo de origen natural, y este hecho podría ser relevante si en futuros estudios se comprueba que su metabolización dentro del animal asegura que no existan pérdidas de productividad debido a que necesite realizarse un período de retiro o supresión del producto tras la administración de éstos. En climas templados-fríos la tasa de gestación tras la inseminación se encuentra alrededor del 60% (Gutiérrez-Reinoso *et al.*, 2016). En el presente estudio los resultados indicaron que la aplicación de flavonoides aceleró

significativamente el proceso de involución del tracto reproductor evaluada mediante ultrasonografía, además de adelantar el celo, aumentar la tasa de gestación y disminuir el intervalo parto-concepción. Por otro lado, la involución del tracto, así como el índice de detección de celo, la tasa de gestación y el intervalo parto-concepción no difieren significativamente entre tratamientos, y que el costo de los tratamientos es prácticamente el mismo, se aconsejaría utilizar el tratamiento T3 donde existe un equilibrio entre el precio del tratamiento y los resultados obtenidos respecto a los diferentes parámetros de fertilidad. Este hecho confirma que la aplicación de flavonoides durante el puerperio mejora la eficiencia reproductiva, y además disminuye el intervalo entre partos debido a que el intervalo parto-concepción se reduce a los primeros 94 días post-parto disminuyendo así el intervalo entre partos de forma significativa.

Es importante señalar que el porcentaje de detección del celo en esta raza se estableció entorno al 43% de los individuos (Fonseca *et al.*, 1983) y el momento de la primera inseminación se estableció tras los 45 días postparto (Lewis *et al.*, 1984). Se han realizado estudios para disminuir el tiempo de involución uterina mediante GnRH aplicada a los 15 días postparto con resultados positivos (Etherington *et al.*, 1985), sin embargo, la incidencia de patologías asociadas a dicho tratamiento (por ejemplo, piometra) aumentaron drásticamente, con el consecuente descenso de la tasa de gestación. De igual manera la utilización de cloprostenol como terapia de recuperación en el día 24 postparto amplió el tiempo y la tasa de concepción de dichos animales (Etherington *et al.*, 1985). Sin embargo, la combinación de GnRH con FSH tuvo mejores resultados, sobretodo en la tasa de concepción a la primera inseminación, aunque no en el tiempo de involución del tracto reproductor (Okuda *et al.*, 1988). El uso de agonistas de la GnRH como la Deslorelina aplicada como implante en el día 2 postparto en combinación con PGF2-alfa inyectada el día 9 postparto fue la que mejor resultados dio en cuanto a favorecer la involución uterina, aunque a nivel ovárico suprimió el desarrollo folicular (Silvestre *et al.*, 2009). Otros autores utilizaron somatotropina bovina recombinante con efectos negativos debido a retrasos en la involución uterina, aparición de quistes ováricos y anestros prolongados (Esteban *et al.*, 1994). Posteriormente, la utilización de eCG en el día 14 postparto tampoco influyó en el tiempo de involución uterina (Sheldon *et al.*, 2000). Años más tarde, Meléndez *et al.*, (2004) utilizaron PGF2-alfa en el día 12 postparto, incrementando la tasa de concepción y acelerando el proceso de involución uterina en animales primíparas. No obstante, la utilización de PGF2-alfa sola en combinación con PGE2 del día 21 al día 35 postparto no tuvo ningún efecto en ningún parámetro de involución, índice de retorno a celo o tasa de gestación (Hirsbrunner *et al.*, 2006). La suplementación con beta-caroteno, selenio y alfa-tocoferol tampoco mejoró la tasa de concepción ni el tiempo de involución uterina (Akordor *et al.*, 1986; Wichtel *et al.*, 1996).

Por otro lado la suplementación con grasa bypass 40 días antes del parto hasta el día 90 postparto mejoró los tiempos de involución uterina así como la aparición de ciclicidad y la tasa de concepción (Tyagi *et al.*, 2010). A diferencia de los estudios anteriores acerca de la eficiencia de diferentes tratamientos y suplementos en vacas lecheras, en el presente estudio, existen factores ambientales adicionales que podrían influir notablemente en los resultados obtenidos por otros autores debido a que factores de estrés tales como la altitud y las bajas temperaturas podrían afectar directamente sobre el índice de retorno a celo, ciclicidad y tasa de gestación al 1er servicio. En el presente estudio se observaron porcentajes

de tasa de gestación del 40% en el grupo control (T1), comparado con los grupos T2-T3-T4 en los que se obtuvieron porcentajes del 60-70%, lo cual indica que dichos tratamientos se acercan a porcentajes similares a los de animales mantenidos a unas altitudes inferiores, reflejando que el tratamiento con flavonoides favorece la eficiencia de la involución uterina, el índice de detección de celo, la tasa de gestación y el intervalo parto-concepción en ambientes de altitud elevada.

CONCLUSION

En conclusión, los resultados obtenidos en el presente estudio indicaron que la aplicación intrauterina de flavonoides durante el puerperio bovino, aceleró la involución del tracto reproductivo (cérvis y útero). Además, aunque sin diferencias significativas entre tratamientos, la aplicación intrauterina de flavonoides mejoró el índice de detección de celo, la tasa de gestación y el intervalo parto-concepción en comparación con las vacas no tratadas, manteniendo un nivel de fertilidad aceptable semejante a los de otros ambientes donde la temperatura y la altitud no alcanzan niveles tan críticos.

Agradecimientos

Nos gustaría agradecer a la Secretaría Nacional de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT) del Gobierno de Ecuador por hacer posible el presente trabajo de investigación a través de su programa Proyecto Prometeo. También nos gustaría agradecer el esfuerzo de todos los técnicos, haciendas y centros experimentales que hicieron posible la ejecución de la presente investigación.

Contribuciones de los autores

Todos los autores listados en el presente trabajo han contribuido en la preparación y ejecución de la presente investigación. MG-R, JU-P y MG-H han contribuido en el desarrollo de la metodología. MG-R y MG-H han contribuido en la concepción y diseño del estudio, la edición del artículo y la supervisión del estudio.

Conflicto de intereses

Los autores firmantes del presente trabajo de investigación declaran no tener ningún potencial conflicto de interés personal o económico con otras personas u organizaciones que puedan influir indebidamente con el presente manuscrito.

REFERENCIAS

- Akordor FY, Stone JB, Walton JS, Leslie KE, Buchanan-Smith JG. Reproductive performance of lactating Holstein cows fed supplemental beta-carotene. *J Dairy Sci.* 1986; 69:2173-8.
- Esteban E, Kass PH, Weaver LD, Rowe JD, Holmberg CA, Franti CE, Troutt HF. Reproductive performance in high producing dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin. *J Dairy Sci.* 1994; 77:3371-81.
- Etherington WG, Martin SW, Dohoo IR, Bosu WT. Interrelationships between postpartum events, hormonal therapy, reproductive abnormalities and reproductive performance in dairy cows: a path analysis. *Can J Comp Med.* 1985; 49:261-7.
- Fonseca FA, Britt JH, McDaniel BT, Wilk JC, Rakes AH. Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *J Dairy Sci.* 1983; 66:1128-47.
- Gutiérrez-Reinoso MA, Collaguazo-Gómez VM, García-Herreros M. Aplicación de GNRH exógena post-iatf y su efecto en los niveles séricos de progesterona y tasa de gestación en vacas lecheras primiparas en ambientes de altitud elevada. *SPERMOVA.* 2016; 6(1): 48-53. doi: 10.18548/aspe/0003.08.
- Gutiérrez-Reinoso MA, Masaquiza-Aragon JJ, Quinteros-Pozo R, García-Herreros M. Prevalencia de endometritis clínica y subclínica en vaquillas repetidoras mantenidas en ambiente tropical húmedo *SPERMOVA.* 2015; 5(1): 97-101. doi: 10.18548/aspe/0002.22.
- Hansen PJ. Current and future assisted reproductive technologies for mammalian farm animals. *Adv Exp Med Biol.* 2014; 752:1-22.
- Hirsbrunner G, Burkhardt HW, Steiner A. Effects of a single administration of prostaglandin F2alpha, or a combination of prostaglandin F2alpha and prostaglandin E2, or placebo on fertility variables in dairy cows 3-5 weeks post partum, a randomized, double-blind clinical trial. *Reprod Biol Endocrinol.* 2006; 21:4:65.
- Lewis GS, Thatcher WW, Bliss EL, Drost M, Collier RJ. Effects of heat stress during pregnancy on postpartum reproductive changes in Holstein cows. *J Anim Sci.* 1984; 58:174-86.
- Mee JF. Reproductive issues arising from different management systems in the dairy industry. *Reprod Domest Anim.* 2012;47 Suppl 5:42-50.
- Melendez P, McHale J, Bartolome J, Archbald LF, Donovan GA. Uterine involution and fertility of holstein cows subsequent to early postpartum PGF2alpha treatment for acute puerperal metritis. *J Dairy Sci.* 2004; 87:3238-46.
- Okuda K, Gaona WA, Sato K. Effects of gonadotropin releasing hormone and prostaglandin F(2)alpha on the reproductive performance in postpartum cows. *Theriogenology.* 1988; 29:823-33.
- Peluso I, Miglio C, Morabito G, Ioannone F, Serafini M. Flavonoids and immune function in human: a systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2015; 55:383-95.
- Serafini M, Peluso I, Raguzzini A. Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proc Nutr Soc.* 2010; 69:273-8.
- Sheldon IM, Dobson H. Effect of administration of eCG to postpartum cows on folliculogenesis in the ovary ipsilateral to the previously gravid uterine horn and uterine involution. *J Reprod Fertil.* 2000; 119:157-63.
- Silvestre FT, Bartolome JA, Kamimura S, Artech AC, Pancarci SM, Trigg T, Thatcher WW. Postpartum suppression of ovarian activity with a Deslorelin implant enhanced uterine involution in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 2009; 110 :79-95.
- Wichtel JJ, Craigie AL, Thompson KG, Williamson NB. Effect of selenium and a-tocopherol supplementation on postpartum reproductive function of dairy heifers at pasture. *Theriogenology.* 1996; 46:491-502.