



Universidad Nacional del Litoral
Facultad de Ciencias Veterinarias
Doctorado en Ciencias Veterinarias

TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS

**Determinación de perfiles hormonales e impacto
económico de enfermedades reproductivas de
origen ovárico que afectan la eficiencia
productiva en vacas lecheras.**

Autor: Vet. Luciano Cattaneo

Director: Dr. Hugo H. Ortega

Co-Director: Dr. Gabriel A. Bo

-2016-

“Las verdades que revela la ciencia superan siempre a los sueños que destruye.”

Ernest Renan (1823-1892)

Dedico este trabajo muy especialmente a:

...mi esposa Carina por su generoso apoyo, paciencia y comprensión durante el tiempo que me demandó la elaboración de esta tesis.

...mis queridos hijos, Ana Paula y Franco por el tiempo que les mezquiné durante este proceso y que supieron entender con resignación.

...mis padres por alentarme permanentemente a encarar nuevos desafíos y proyectos.

AGRADECIMIENTOS:

A mi esposa e hijos que supieron acompañar con contención, aliento y respeto mis días de estudio.

A mi Director, doctor Hugo Ortega por permitirme ser parte de su equipo, brindarme un ámbito de investigación y recursos acorde a las necesidades de mi trabajo. Porque es un gran facilitador y su apoyo fue permanente y su contribución eficaz y expeditiva.

A mi Co-director, doctor Gabriel Bó que, cuando fue convocado, no dudó de participar en este proyecto y contribuyó con su vasta experiencia.

Al doctor Marcelo Signorini que, además de aportarme conocimientos, colaboró desinteresadamente a lo largo de todo este proyecto siendo una permanente fuente de inspiración para mí.

A mis compañeros de la cátedra de Teriogenología que me alentaron a embarcarme en este sueño, que me sostuvieron siempre y cubrieron mis espaldas cuando fue necesario.

A la doctora Florencia Rey por su gran espíritu solidario y su sapiencia para revisar y ayudarme a corregir los contenidos del presente trabajo.

A la doctoranda Natalia Gareis por su valioso aporte en el desarrollo y escritura de la tesis.

Al doctor Pablo Díaz y doctor Gustavo Hein por sus contribuciones en la confección y corrección de la tesis.

A la doctora Natalia Salvetti que siempre respondió expeditivamente a mis constantes consultas.

A la Facultad de Ciencias Veterinarias que me prestigió brindándome esta nueva oportunidad de profundizar mis estudios.

A la Universidad Nacional del Litoral que me otorgó la beca para costear este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE TABLAS	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ABREVIATURAS UTILIZADAS	VI
RESUMEN	VIII
ABSTRACT	IX
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Reactivación ovárica post-parto en la vaca lechera	2
1.2 Falla en la ovulación del primer FD post-parto	5
1.3 Rol de las hormonas metabólicas en la reactivación ovárica postparto	6
1.4 Perfiles bioquímicos sanguíneos de la vaca lechera en lactancia	10
1.4.1 Parámetros bioquímicos y marcadores hepáticos	11
1.4.2 Macrominerales	16
1.5 Anestro post-parto en la vaca lechera	20
1.6 Enfermedad Quística Ovárica (COD)	22
1.6.1 Definición	22
1.6.2 Signología	24
1.6.3 Etiología y patogenia	24
1.6.4 Epidemiología de la COD	34
1.6.4.1 Incidencia	34
1.6.4.2 Factores de riesgo/ predisponentes	35
2. OBJETIVOS	40
2.1 Hipótesis general	41

2.2 Objetivo general	41
2.3 Objetivos Específicos	41
3. MATERIALES Y MÉTODOS	43
3.1 Estudio 1: “ <i>Descripción epidemiológica de la enfermedad quística ovárica en rebaños lecheros de Argentina: factores de riesgos y efectos sobre el desempeño reproductiva de las vacas lecheras.</i> ”	44
3.1.1 Estudio de Casos y Controles	45
3.1.2 Evaluación de los efectos de la COD en la performance reproductiva de la vaca.	46
3.1.3 Análisis estadístico	47
3.1.3.1 Epidemiología descriptiva	47
3.1.3.2 Estudio de Casos y Controles	48
3.1.3.3 Efectos de la COD en la performance reproductiva de la vaca	48
3.2 Estudio 2: “ <i>Evaluación de indicadores metabólicos y bioquímicos sanguíneos en vacas en lactancia con Enfermedad Quística ovárica.</i> ”	49
3.2.1 Diseño experimental	49
3.2.2 Determinación de indicadores metabólicos y bioquímicos	50
3.2.3 Tratamiento de las vacas afectadas con COD	51
3.2.4 Determinación de parámetros productivos y reproductivos	52
3.2.5 Análisis estadístico	52
3.3 Estudio 3: “ <i>Metodología para estimar el costo de la preñez demorada para vacas en lactancia en sistemas de parición continua.</i> ”	53
4. RESULTADOS	58
4.1 Estudio 1: “ <i>Descripción epidemiológica de la enfermedad quística ovárica en rebaños lecheros de Argentina: factores de riesgos y efectos sobre el desempeño reproductivo de las vacas lecheras.</i> ”	59
4.1.1 Epidemiología descriptiva	59
4.1.2 Estudio de casos y controles	60
4.1.3 Efectos de la COD en la performance reproductiva y productiva de las vacas	62
4.2 Estudio 2: “ <i>Evaluación de indicadores metabólicos y bioquímicos sanguíneos en vacas en lactancia con Enfermedad Quística Ovárica</i> ”	63

4.3 Estudio 3: “ <i>Metodología para estimar el costo de la preñez demorada para vacas en lactancia en sistemas de parición continua.</i> ”	66
5. DISCUSIÓN	68
5.1 Estudio 1: “ <i>Descripción epidemiológica de la enfermedad quística ovárica en rebaños lecheros de Argentina: factores de riesgos y efectos sobre el desempeño reproductivo de las vacas lecheras.</i> ”	69
5.2 Estudio 2: “ <i>Evaluación de indicadores metabólicos y bioquímicos sanguíneos en vacas en lactancia con Enfermedad Quística Ovárica.</i> ”	74
5.2.1 Parámetros reproductivos y productivos	74
5.2.2 Parámetros bioquímicos	76
5.2.3 Hormonas metabólicas	76
5.3 Estudio 3: “ <i>Metodología para estimar el costo de la preñez demorada para vacas en lactancia en sistemas de parición continua.</i> ”	77
6. CONCLUSIONES	80
6.1 Estudio 1: “ <i>Descripción epidemiológica de la enfermedad quística ovárica en rebaños lecheros de Argentina: factores de riesgos y efectos sobre el desempeño reproductivo de las vacas lecheras.</i> ”	81
6.2 Estudio 2: “ <i>Evaluación de indicadores metabólicos y bioquímicos sanguíneos en vacas en lactancia con Enfermedad Quística Ovárica.</i> ”	81
6.3 Estudio 3: “ <i>Metodología para estimar el costo de la preñez demorada para vacas en lactancia en sistemas de parición continua.</i> ”	82
7. CONCLUSIÓN GENERAL	83
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
9. PUBLICACIONES	106

ÍNDICE DE TABLAS:

Tabla 1	Parámetros reproductivos y concentraciones circulantes de hormonas metabólicas en vacas lecheras de alto y bajo mérito genético.	8
Tabla 2	Efecto de la alimentación con una dieta que incrementa las concentraciones circulantes de insulina.	10
Tabla 3	Parámetros sanguíneos analizados en vacas Holstein en lactancia.	18
Tabla 4	Valores promedio de proteínas totales, albúmina, urea, creatinina y bilirrubina sérica contenidos en cinco vacas Holstein Friesian, en más de ocho periodos reproductivos.	19
Tabla 5	Valores promedio de colesterol total, triglicéridos, AGNEs y β -Hidroxiacetato contenidos en suero en cinco vacas Holstein Friesian, en más de ocho periodos reproductivos.	19
Tabla 6	Valores promedio de minerales contenidos en suero en cinco vacas Holstein Friesian, en más de ocho periodos reproductivos.	20
Tabla 7	Descripción de las variables independientes incluidas en el estudio de Casos y Controles.	47
Tabla 8	Coefficientes de variación y sensibilidad de las mediciones de las variables bioquímicas.	51
Tabla 9	Tasa de densidad de incidencia de COD a lo largo de la lactancia.	59
Tabla 10	Tasa de densidad de incidencia estacional de COD.	60
Tabla 11	Tasa de incidencia acumulada de COD relativa a la estación del año en que tuvo lugar el parto.	60
Tabla 12	Resultados del análisis de las variables continuas para vacas controles y quísticas.	61
Tabla 13	Distribución de frecuencias de las variables dicotómicas para vacas controles y quísticas.	61
Tabla 14	Odds ratios para las variables incluida en el modelo de regresión logística final para la enfermedad quística ovárica.	62
Tabla 15	Perfiles metabólicos y bioquímicos séricos para vacas controles y quísticas.	65
Tabla 16	Componentes del costo del 'día abierto involuntario' (IDO).	66

ÍNDICE DE FIGURAS:

Figura 1	Dinámica folicular, ovulación y concentración de FSH, progesterona (P_4), estrógenos (E_2) y pulsatilidad de la LH en vacas cíclicas y anéstricas.	3
Figura 2	Concentraciones de IGF-1 plasmáticas durante los días 1-13 posparto en vacas con un folículo dominante ovulatorio o no ovulatorio durante la primera onda folicular posparto.	6
Figura 3	Representación diagramática de posibles mecanismos por los cuales la nutrición podría afectar la función folicular ovárica.	8
Figura 4	Cambios en la concentración plasmática del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) en vacas primíparas y multíparas antes y después del parto.	9
Figura 5	Cambios en la producción de leche e insulina plasmática durante el periparto en vacas lecheras.	10
Figura 6	Concentraciones plasmáticas de AGNEs (NEFAs) y β -HB (BHB) durante el periparto en vacas lecheras.	14
Figura 7	Representación esquemática de los distintos tipos de anestros basados en la fisiología de la dinámica folicular/ovárica	22
Figura 8	Imágenes ecográficas de: a) quiste folicular; b) quiste luteal y c) cuerpo lúteo quístico.	23
Figura 9	Modelo esquemático que permite interpretar cómo las concentraciones intermedias de P_4 podrían conducir a la formación quistes foliculares ováricos.	28
Figura 10	Esquema que representa el mecanismo de acción del estrés y el BEN en la generación de COD en el ganado bovino.	34
Figura 11	Tasas de incidencia de COD en vacas Holstein en Michigan distribuidas según la edad del animal al inicio de la lactancia.	36
Figura 12	Distribución de las vacas con COD respecto del intervalo parto-diagnóstico.	64
Figura 13	Curva estimada para una lactancia de 7.500 kg de leche en 340 días utilizando el e-Cow animal model.	67

ABREVIATURAS UTILIZADAS:

ACTH	Hormona liberadora de adrenocorticotropina
AGNEs	Ácidos grasos no esterificados
ALP	Fosfatasa alcalina
AST	Aspartato aminotransferasa
BEN	Balance energético negativo
BUN	Nitrógeno ureico en sangre
CC	Condición corporal
CK	Creatinin kinasa
CL	Cuerpo lúteo
CLQ	Cuerpo lúteo quístico
COD	Enfermedad Quística Ovárica (Cystic Ovarian Disease)
DEL	Días en leche
DPP	Días post-parto
E₂	Estrógeno
FD	Folículo dominante
FSH	Hormona foliculoestimulante
GGT	Gamma-glutamyl transaminasa
GH	Hormona de crecimiento
GHR1A	Receptor de GH tipo 1 ^a
GnRH	Hormona liberadora de gonadotrofinas
IA	Inseminación artificial
IGF	Factor de crecimiento análogo a insulina

IGFBP	Proteínas ligadoras de IGF
IPC	Intervalo parto-concepción
IPD	Intervalo parto diagnostic
IPP	Intervalo parto-parto
IPPS	Intervalo parto-primer servicio
LDH	Lactato deshidrogenasa
LH	Hormona luteinizante
MS	Materia seca
NH₃	Amoníaco
NPY	Neuropéptido Y
P₄	Progesterona
PCR	Polimerase chain reaction
PEV	Periodo de espera voluntario
PgF₂α	Prostaglandina F ₂ α
PGFM	Metabolito de la PgF ₂
POE	Péptidos opioides endógenos
PTH	Parathormona
QF	Quiste folicular
QL	Quiste luteal
RIA	Radioinmunoanálisis
TC	Tasa de concepción
β-HB	Beta hidroxí butirato

RESUMEN:

El objetivo de esta tesis fue determinar y caracterizar los diferentes factores epidemiológicos que afectan la presentación de la Enfermedad Quística Ovárica (COD) en rodeos lecheros bajo sistemas productivos típicos de la Argentina. También se realizó un estudio detallado del perfil metabólico de vacas con COD y sanas a los fines de establecer patrones que puedan asociarse con la enfermedad y orientarnos hacia una mejor prevención y/o tratamiento más efectivo. Por último, se determinaron los costos y pérdidas económicas generadas por los casos de infertilidad o subfertilidad en la vaca lechera, considerando que la COD constituye uno de los problemas reproductivos más serios, sobre todo en sistemas muy intensificados. Para el estudio epidemiológico se analizaron retrospectivamente bases de datos de 22 tambos de la cuenca lechera santafesina por un periodo de 3 años. En el estudio bioquímico se diagnosticaron casos espontáneos de COD mediante ultrasonografía en 5 tambos de la región y se colectaron muestras de sangre de vacas enfermas y sanas para su comparación. El estudio económico se realizó mediante un modelo de simulación evaluando costos reales de producción de tambos de la región centro-oeste santafesina. La incidencia de COD en tambos de nuestra cuenca demostró ser menor a la reportada en otros países. Se observó una influencia de la estación del año sobre la presentación de la enfermedad siendo más frecuente en invierno y primavera. Se pudo determinar una mayor proporción de casos entre los 100-150 DPP. Las vacas que previamente habían padecido mastitis clínica tuvieron mayor riesgo de contraer COD. La COD estuvo asociada a un IPC más prolongado y un menor porcentaje de preñez al final de la lactancia. Del estudio metabólico surgió que las vacas quísticas presentaron niveles sanguíneos de IGF-1 e insulina significativamente más bajos que las sanas. No se hallaron diferencias en las concentraciones de ninguno de los demás parámetros evaluados. La caída en la producción de leche debido a lactancias prolongadas y los costos por descarte de vacas fueron los factores más influyentes en la determinación de las pérdidas económicas debidas a la infertilidad de la vaca en los tambos de la región.

ABSTRACT:

The objective of this thesis was to determine and characterize the different epidemiological factors that influence the presentation of the Cystic Ovarian Disease (COD) in dairy herds under typical production systems of Argentina. Also, a metabolic study was performed on blood samples from cystic and control cows in order to search for differences that could be associated to the disease and guide us to a better prevention and/or more effective treatments. Finally, a study was carried out to estimate costs and economic losses due to infertility in the dairy cow, considering that COD represents one of the most common reproductive disorders reported in modern dairy systems. For the epidemiological study, databases of 22 dairies from the region were analyzed during a 3 years period. In regards to the biochemical study, spontaneous COD cases were diagnosed by real-time ultrasonography in 5 dairies during a 2-year period. Blood samples were collected from either cystic and control cows for comparison. A simulation model was used for the economical study. Real production costs from farms of the main dairy region of Argentina were considered as inputs. The COD incidence rate in the herds included in the epidemiological study was lower than those generally reported in the literature. A seasonal influence was observed in the disease presentation with more cases diagnosed during winter and spring. A higher incidence was found between 100-150 DPP. Cows with a previous event of clinical mastitis showed a higher risk of suffering from COD. COD was associated to a longer partum-conception interval and a lower pregnancy rate at the end of lactation. From the metabolic study it arose that cystic cows had lower IGF-1 and insulin blood concentration than controls. No differences were found on any other parameter evaluated. A decrease on milk production due to prolonged lactations and higher replacement rates were the most significant determinants of the economical losses due to infertility in dairy herds from the region.

1. Introducción:

El mayor interés de los productores lecheros está puesto en producir y vender tanta leche como sea posible con la máxima eficiencia. Desde el punto de vista económico, la reproducción tiene una importancia secundaria pero está claro que para que una vaca comience a producir leche primero debe parir un ternero (Dobson y col. 2007).

En la actualidad existe suficiente evidencia que sugiere que la fertilidad de los bovinos lecheros ha ido declinando en los últimos 50 años acompañando el rápido incremento en la producción lograda (Royal y col. 2000). Es por ello que se ha propuesto una correlación genética negativa entre la selección para fertilidad y la producción de leche (Dobson y col. 2007). A pesar de esto, algunas vacas de alta producción mantienen una eficiencia reproductiva también elevada pero para ello requieren una atención veterinaria y un manejo muy exigente (López-Gatius y col. 2006; Sakaguchi 2011). En este sentido, algunos resultados indican que el porcentaje de vacas de alta producción que se han preñado en la lactancia temprana podría ser un indicador del bienestar animal en rodeos lecheros de alta producción (López-Gatius y col. 2006).

1.1 Reactivación ovárica posparto en la vaca lechera:

Luego del parto los efectos inhibitorios originados por la retroalimentación negativa de la elevada concentración de esteroides en la preñez tardía sobre la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) son removidos. Esto es seguido por un incremento en las concentraciones de hormona folículo-estimulante (FSH) durante 3-5 días entre los 7 y 14 días posparto (Figura 1). El incremento en la FSH resulta en la emergencia de la primera onda de crecimiento folicular posparto (Savio y col. 1990a).

Un folículo (generalmente el mayor de la cohorte) expresa cantidades incrementales de receptores de hormona luteinizante (LH) y proteasas de las proteínas ligantes del factor

de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1), lo cual permite mantener altos niveles de IGF-1 bioactiva mediante la degradación de las proteínas ligantes de los factores de crecimiento similares a la insulina (IGFBPs). Por lo tanto, este folículo es seleccionado para que continúe creciendo gracias a estos cambios parácrinos, a pesar de la caída sistémica de las concentraciones de FSH, la cual previene el desarrollo de los otros folículos de la cohorte dependientes de la FSH. Este folículo dominante (FD) es ahora principalmente dependiente de la LH y, por lo tanto, su destino está determinado por la frecuencia de pulsos de LH a la que está expuesto en ese momento.

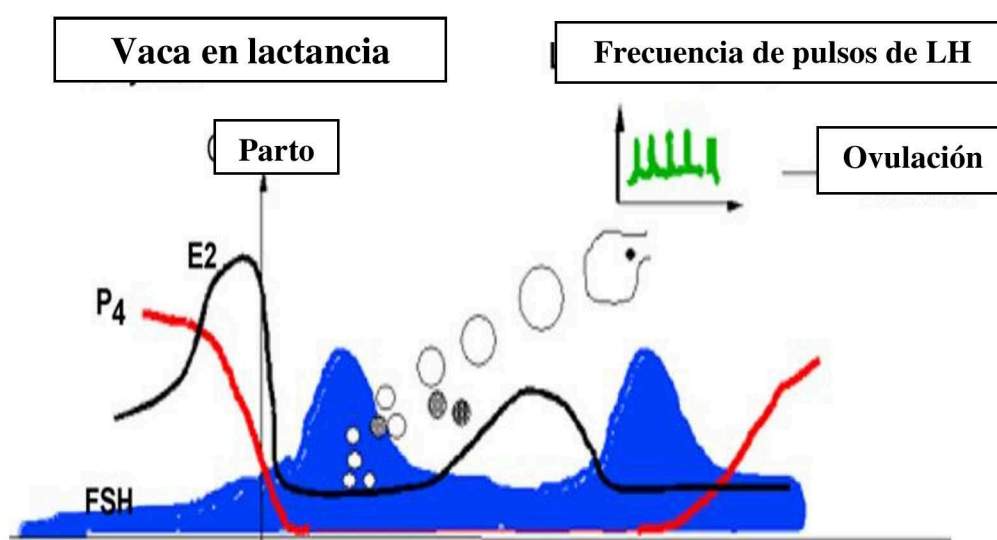


Figura 1. Dinámica folicular, ovulación y concentración de FSH, progesterona (P_4), estrógenos (E_2) y pulsatilidad de la LH en vacas que reanuden la ciclicidad en el posparto temprano (vacas cíclicas) y aquellas que presentan fallas en la ovulación (vacas anéstricas) dentro de los primeros 30–40 días luego del parto (Roche y col. 2006).

El destino del primer FD posparto, basado en los resultados publicados por varios autores (Savio y col. 1990b; Beam y Butler 1997; Sartori y col. 2004; Sakaguchi y col. 2004), es uno de los siguientes:

- ovula en el 30–80% de las vacas;
- sufre atresia en el 15–60% de las vacas;

- se torna quístico en el 1–5% de las vacas.

Los factores intrínsecos claves que determinan si el FD ovulará son: tamaño del FD, la frecuencia de los pulsos de LH a la que está expuesto y la concentración sistémica de IGF-1. Folículos menores a 1 cm de diámetro raramente ovulan. La frecuencia de pulsos de LH requerida para la ovulación es de aproximadamente 1 pulso por hora. Esta frecuencia de pulsos asegura que haya un aumento significativo de la concentración de estradiol (E_2) necesaria para inducir una retroalimentación positiva y que ocurra la ovulación (Roche 2006).

Si el primer FD posparto ovula, la duración de la primera fase luteal es corta debido a la prematura liberación de prostanglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) consecuente con el aumento de E_2 producido por la formación de un nuevo FD posovulatorio en los siguientes 5-8 días del ciclo. Por lo tanto, el cuerpo lúteo (CL) regresa en forma prematura a los 8-10 días del ciclo y el FD de la primera onda folicular posovulatoria ovula 9-11 días luego de la primer ovulación (Roche 2006).

Las vacas pueden tener 2, 3 o 4 ondas foliculares durante el ciclo estral en el periodo pospartal temprano (Savio y col. 1990a; Sartori y col. 2004). Particularmente, las vacas Holando en lactancia tienden a poseer 2 ondas foliculares en un ciclo de 18-23 días (Sartori y col. 2004). Estos animales suelen tener menores concentraciones de P_4 durante la fase luteal que las vaquillonas cíclicas de la misma raza (Sartori y col. 2004; Wolfenson y col. 2004). Por lo tanto, la menor concentración de P_4 podría permitir un aumento sutil en la frecuencia de pulsos de LH y permitir que el FD siga creciendo en lugar de sufrir atresia, previniendo de esta forma el desarrollo de una tercera onda folicular. El número de ondas foliculares afecta la duración de la dominancia del FD y, por lo general, cuanto más corta sea la duración de la dominancia del folículo

preovulatorio, mayor será la tasa de concepción luego de la inseminación (Austin y col. 1999).

1.2 Falla en la ovulación del primer FD posparto:

Los principales factores extrínsecos que determinarán la ovulación del FD son: condición corporal (CC), producción de leche, estación de parto y enfermedades presentes (Beam y Butler 1997; Stagg y col. 1998). Las vacas con pobre CC luego del parto presentan un FD con un diámetro menor, bajas concentraciones de insulina e IGF-1 (Figura 2; Kawashima y col. 2007) y baja frecuencia de pulsos de LH. Debido a la selección genética, las vacas Holando en la actualidad expresan producciones de leche muy altas. Esta elevada producción de leche en el periodo posparto temprano fuerza a la vaca a movilizar grasa y proteína de su cuerpo para satisfacer las demandas energéticas de la producción de leche. Estas pérdidas pueden alcanzar los 50-75 kg de peso vivo (Roche 2006).

Las vacas que están movilizando tejidos corporales a una elevada tasa tienen incrementadas la concentración de AGNEs, β -HB y triacilglicerol pero reducidas las concentraciones de insulina, glucosa e IGF-1 (Grummer y col. 2004). Este estado metabólico, a su vez, incrementa el riesgo de hipocalcemia, acidosis, cetosis, hígado graso y desplazamiento de abomaso. Las vacas afectadas con estos desórdenes metabólicos son más propensas a desarrollar anestro prolongado, ya sea directa o indirectamente, a través de otras enfermedades (ej. endometritis, mastitis, pododermatitis) que contribuirían con la falla en la ovulación del FD (Roche 2006).

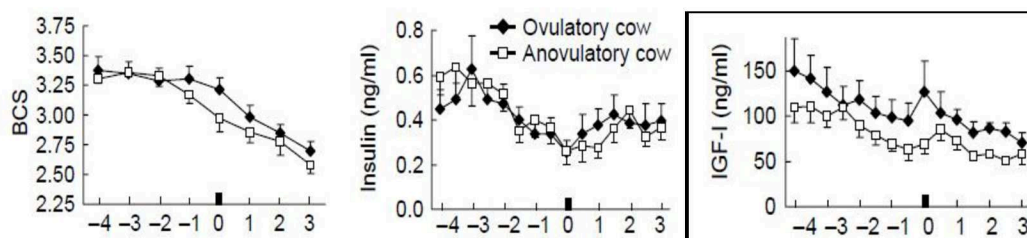


Figura 2. Condición corporal (BCS) y concentraciones de insulina e IGF-1 plasmáticas durante las 4 últimas semanas preparto y 3 primeras semanas posparto en vacas que desarrollaron un folículo ovulatorio (ovulatory cow) o anovulatorio (anovulatory cow) en la primera onda folicular posparto (Modificado de Kawashima y col. 2007).

1.3 Rol de las hormonas metabólicas en la reactivación ovárica posparto:

Los eventos reproductivos luego del parto son controlados por varias hormonas y metabolitos actuando de acuerdo al estado fisiológico del animal con el fin de mantener la homeostasis. Entre estos mediadores químicos se encuentran: la hormona de crecimiento (GH), la insulina y la IGF-1 (Figura 3; Gong 2002; Diskin y col. 2003). El IGF-1 es sólo un componente de la compleja superfamilia de IGFs (Ortega y col. 2008; Velazquez y col. 2008; Rey y col. 2010; Rodriguez y col. 2013). Vacas con mayor mérito genético para producción de leche presentaron niveles sanguíneos más elevados de GH pero más bajos de IGF-1 e insulina que vacas genéticamente inferiores (Tabla 1; Gong 2002). Se ha observado que la restricción alimentaria en el ganado vacuno incrementa las concentraciones sanguíneas de GH (Diskin y col. 2003) y sus principales efectos sobre la reproducción parecen estar mediados a través de sus efectos regulatorios en la síntesis hepática y secreción de IGF-1 (Diskin y col. 2003). Durante los periodos de carencias metabólicas, las acciones promotoras del crecimiento de la GH mediadas por la IGF-1 están restringidas y, en su lugar, la GH promueve la movilización tisular. Este cambio es primeramente desencadenado por una menor producción de la variante hepática del receptor para GH (GHR1A; Kobayashi y col.

1999; Fenwick y col. 2008a). Esto, por su parte, es responsable de la pronunciada caída de las concentraciones circulantes de IGF-1, la cual comienza antes del parto y alcanza su mínimo durante la primera semana posparto (Taylor y col. 2004b; Figura 4). Las acciones del IGF-1 son influenciadas por cambios concurrentes en las IGFBPs (Jones y Clemmons 1995). De todas las IGFBPs, la IGFBP-2, en particular, juega un rol fundamental en regular la biodisponibilidad de las IGF en los diferentes tejidos de acuerdo con el estado del balance energético (Wathes y col. 2012). La IGFBP-2 tiene una alta afinidad tanto por el IGF-1 como por el IGF-2 y es generalmente considerada como inhibidora de la actividad del IGF (Jones y Clemmons 1995). En vacas posparto, la expresión hepática del ARNm para IGFBP2 fue correlacionada positivamente con las concentraciones sanguíneas de AGNEs y β -HB y negativamente con el glucógeno hepático, glucosa sanguínea e IGF-1 (Fenwick y col. 2008a). En contraste con la función endócrina ejercida por el IGF-1, el IGF-2 se comprobó que tiene primeramente efectos parácrino-autócrinos a nivel del ovario vía receptores IGF (Spicer y col. 2004; Spicer y col. 2007; Velazquez y col. 2008).

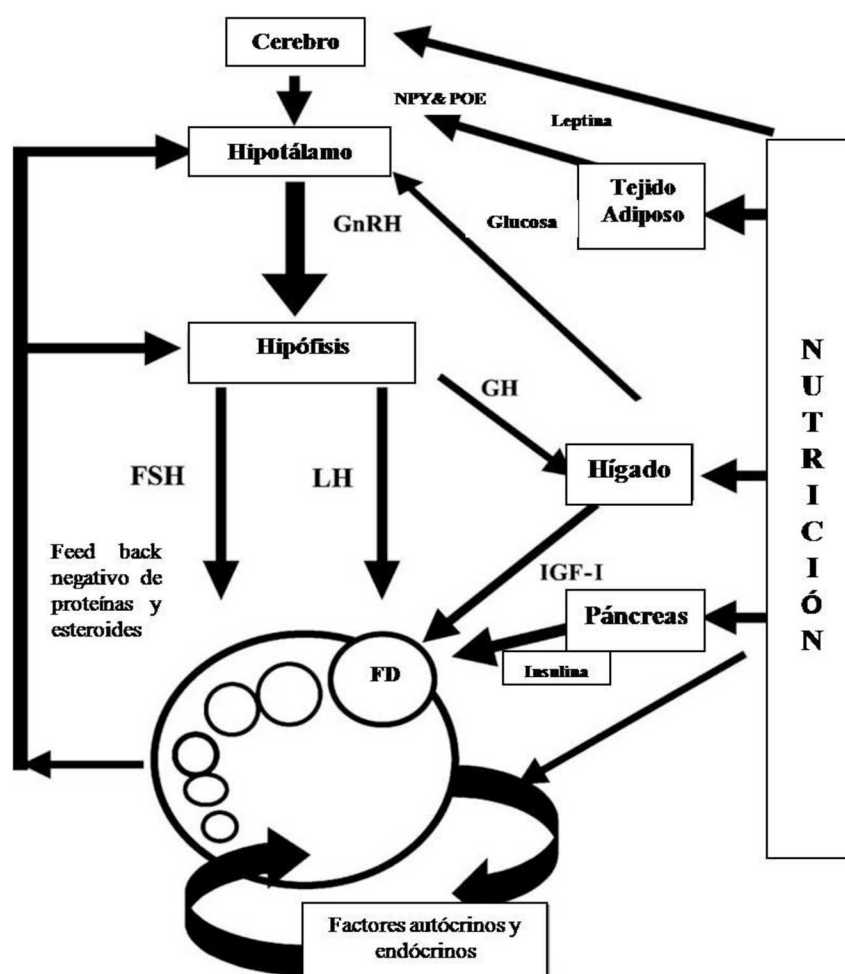


Figura 3. Representación diagramática de posibles mecanismos por los cuales la nutrición podría afectar la función folicular ovárica. NPY, neuropéptido Y; POE, péptidos opiodes endógenos (Diskin y col. 2003).

Tabla 1. Parámetros reproductivos y concentraciones circulantes de hormonas metabólicas en vacas lecheras de alto y bajo mérito genético (n=18; Gong y col. 2002).

Intervalo parto primera ovulación (días)	Tasa concepción 1 ^{er} servicio (%)	Frecuencia de pulsos de LH cada 6h ¹	GH (ng/ml)	Insulina (ng/ml)	IGF-1 (ng/ml)
Bajo 20,7±1,5 ^a	48,7 ^a	4,7±0,4 ^a	12,8±0,4 ^a	0,46±0,01 ^a	165,4±9,1 ^a
Alto 29,2±2,1 ^b	32,8 ^b	3,1±0,5 ^b	16,7±0,5 ^b	0,35±0,01 ^b	116,1±8,3 ^b

Muestras de plasma sanguíneo fueron colectadas diariamente a partir de 15-60 DPP. Los superíndices a vs. b en las mismas columnas: P < 0,05.

¹ Extracciones frecuentes de sangre realizadas durante 2-3 semanas luego del parto.

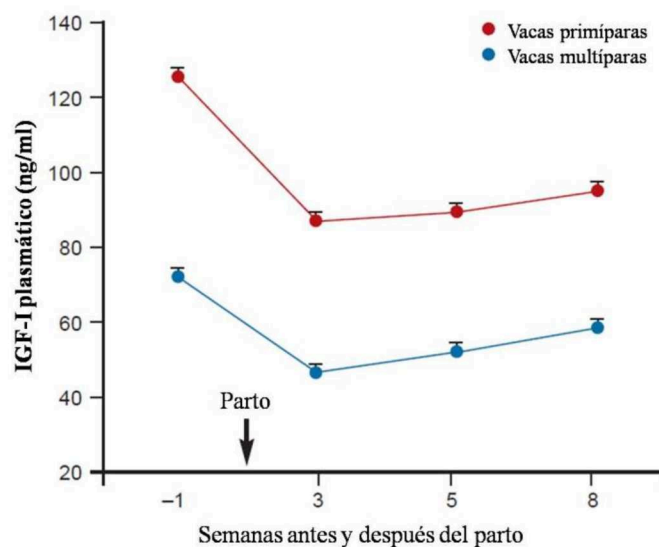


Figura 4. Cambios en la concentración plasmática media (SE) del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) en 142 vacas primíparas y 177 vacas múltiparas desde antes del parto y ocho semanas posteriores al parto. Las concentraciones de IGF-1 fueron significativamente mayores ($P < 0,001$) en las vacas primíparas (Taylor y col. 2004b).

En vacas múltiparas, las concentraciones de insulina son bajas luego del parto y están negativamente correlacionadas con la producción de leche (Wathes y col. 2013; Figura 5). La administración de insulina promueve la expresión hepática de GHR1A e IGF-1 luego del parto (Butler 2003). En este sentido, se observó que dietas hiperinsulinémicas ofrecidas a vacas en lactancia tenían un efecto benéfico sobre la primera ovulación posparto y en el intervalo parto-primer servicio (IPPS) e IPC, y también generaban una tasa de concepción (TC) elevada al primer servicio y un menor número de servicios por concepción (Tabla 2; Gong 2002).

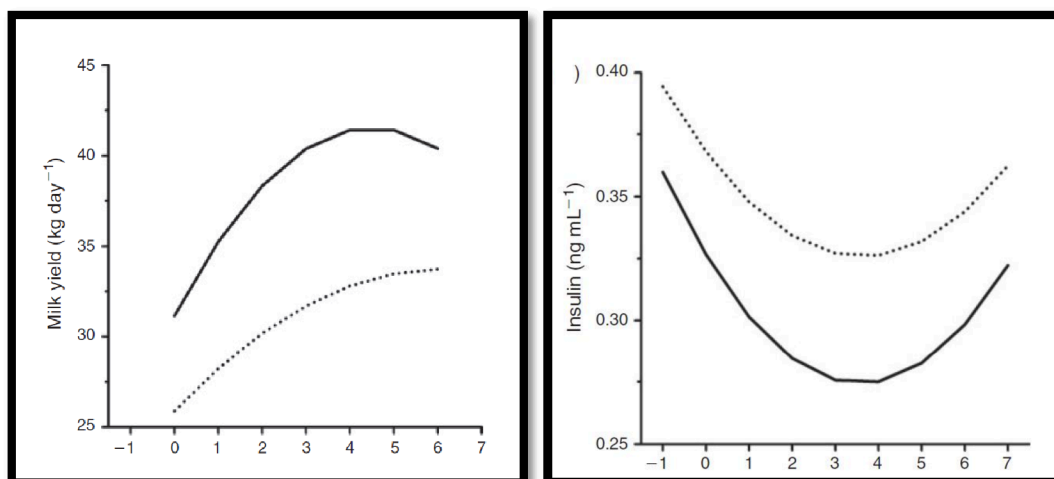


Figura 5. Cambios en la producción de leche (milk yield) e insulina plasmática (insulin) durante el periparto en vacas lecheras. Los gráficos muestran las concentraciones medias (cuadrados mínimos estimados) para animales de primer parto (línea de punto; n=188) y para vacas múltiparas (línea sólida; n= 312) que fueron muestreados a las -1, +1, +4, +7 semanas respecto al parto (Wathes y col. 2013).

Tabla 2. Efecto de la alimentación con una dieta que incrementa las concentraciones circulantes de insulina durante los primeros 100 días posparto sobre el intervalo parto-primera ovulación y % de concepción al primer servicio en vacas lecheras de alto y bajo mérito genético (n=10 por grupo; Gong 2002)

	Tasa concepción ¹		Intervalo (días) ¹	
	Alta insulina	Baja insulina	Alta insulina	Baja insulina
Alto mérito genético	3/9 (33,3%)	1/8 (12,5%)	28,6±3,5	39,9±5,7
Bajo mérito genético	5/10 (50,0%)	2/10 (20,0%)	18,0±1,9	27,6±3,2

¹Efecto de la dieta, P<0,05.

1.4 Perfiles bioquímicos de la vaca lechera en lactancia.

Los parámetros bioquímicos sanguíneos constituyen una herramienta importante que ayuda a los veterinarios dedicados a la lechería a monitorear la salud de la vaca a nivel individual y de rodeo y en sus distintas etapas productivas y reproductivas (Cozzi y col. 2011). Para identificar situaciones anómalas en un rodeo dado, los valores de

análisis sanguíneos son generalmente comparados con valores estándares promedios o rangos de valores (Herdt 2000). Se ha reportado que la producción de leche es afectada por factores tales como: número de parición, periodo de la lactancia y estacionalidad de la producción. Los mismos factores podrían también tener cierto efecto en los parámetros sanguíneos de vacas en lactancia clínicamente normales (Cozzi y col. 2011; Piccione y col. 2012; Tablas 3-6).

1.4.1 Parámetros bioquímicos y marcadores hepáticos:

El hígado juega un rol esencial en el metabolismo lipídico. En las vacas lecheras en lactancia, el incremento posparto de AGNEs constituye un sustrato energético alternativo de la glucosa a través de la β -oxidación (Wathes y col. 2013). Esto, por un lado, conduce a la síntesis de acetyl-CoA que puede ser parcialmente oxidada a cuerpos cetónicos, tales como el β -HB, reesterificada a triglicéridos y almacenada o exportada a la circulación como lipoproteínas de muy baja densidad. Debido a que la capacidad del hígado de sintetizar y exportar estas lipoproteínas es limitada, el acúmulo de triglicéridos en los hepatocitos conduce al desarrollo de hígado graso (Vernon 2005). Esto ocurre, hasta cierto grado, en la mayoría de las vacas en lactancia con un pico máximo en la segunda semana posparto. Si la acumulación de triglicéridos es excesiva, causa el daño físico de los hepatocitos (Wathes y col. 2013). El elevado metabolismo lipídico en el hígado durante la lactancia temprana no sólo conduce a un estado de hipercetonemia, sino también de hipoglucemia e hiperbilirrubinemia (Ingvarsten y col. 2003; Mulligan y col. 2006).

Entre los principales marcadores bioquímicos y hematológicos utilizados en la clínica veterinaria para identificar alteraciones en procesos fisiológicos se encuentran los siguientes:

Aspartato amino transferasa (AST). Enzima soluble del citosol que presenta una gran actividad en los hepatocitos. Se liberan cuando se produce una lesión de las membranas de los hepatocitos asociada a un daño subletal o necrosis hepatocelular. También se ha demostrado que en vacas lecheras los niveles sanguíneos de esta enzima se correlacionan positivamente con los niveles de producción diaria de leche (Jóźwik y col. 2012) asociados probablemente al mayor metabolismo hepático en vacas de mayor producción.

Fosfatasa alcalina (ALP) y gamma-glutamil transaminasa (GGT). Estas enzimas se hallan unidas a la membrana celular y no se liberan al suero cuando hay aumento de la permeabilidad de la membrana. Su aumento en sangre está dado por inducción de la enzima ya sea por colestasis, fármacos o efectos hormonales. La GGT es un indicador menos sensible pero más específico de colestasis que la ALP. La medición de la actividad en suero sanguíneo de algunas enzimas hepáticas, tales como GGT y AST, es utilizada para la evaluación del balance metabólico (Jóźwik y col. 2012).

Bilirrubina directa. Es equivalente a la bilirrubina conjugada. Es la forma hidrosoluble de la bilirrubina. La bilirrubina conjugada aumenta en sangre debido a la colestasis intrahepática causada por la inflamación de los hepatocitos (hiperbilirrubinemia pos-hepática; Latimer y col. 2005).

Bilirrubina indirecta o 'no conjugada'. Es aquella que se transporta por la sangre unida a la albúmina. No es hidrosoluble. La bilirrubina no conjugada aumenta en sangre cuando existe menor captación y conjugación de la bilirrubina por los hepatocitos dañados (hiperbilirrubinemia hepática; Latimer y col. 2005).

Bilirrubina total. Es la sumatoria de los dos tipos de bilirrubina antes mencionadas. La enfermedad hepatocelular puede causar aumento tanto de la bilirrubina conjugada como no conjugada (Latimer y col. 2005).

Albúmina y globulinas. El principal órgano de síntesis de las proteínas séricas es el hígado. Las gamma-globulinas también son producidas por el sistema inmunológico. De ellas, la inmunoglobulina G es la de mayor presencia en suero. Una relación albúmina:globulinas (A/G) baja estaría indicando daño hepático (Latimer y col. 2005). En caso de lipidosis hepática, estado frecuente en mayor o menor medida en vacas en la lactancia temprana, la albúmina en sangre suele estar normal. Se ha descrito que vacas en sistemas pastoriles en lactancia temprana con diagnóstico de endometritis subclínica presentaron valores más bajos de albúmina sérica y, por ende, una menor relación A/G (Burke y col. 2013). Los autores de este estudio atribuyeron esta menor concentración sérica de albúmina a una disfunción hepática en estas vacas y que este estado precedió a la inflamación uterina. En un estudio previo la menor concentración de albúmina sérica en vacas en la lactancia temprana también estuvo asociado a un retorno a la ciclicidad retardada (Burke y Roche 2007).

Cuerpos cetónicos (β -HB). La producción de cuerpos cetónicos se incrementa cuando hay una depleción de carbohidratos y un incremento de la gluconeogénesis. La reducción del oxalacetato en el Ciclo de Krebs y la supresión de la lipogénesis llevan a la producción de acetoacetyl coenzima A que es el precursor de la cetogénesis (Latimer y col. 2005). La concentración de AGNEs en sangre refleja el grado de movilización de tejido adiposo, mientras que la concentración sanguínea de β -HB provee un indicio de

la oxidación de los ácidos grasos (Wathes y col. 2013). Durante el periodo peripartal, las concentraciones de AGNEs y β -HB están correlacionadas (Figura 6); sin embargo, las concentraciones de AGNEs comienzan a caer aproximadamente 1–2 semanas luego del parto mientras que las concentraciones de β -HB siguen aumentando hasta la sexta semana paralelamente con la utilización de los triglicéridos para la producción de energía (Wathes y col. 2013).

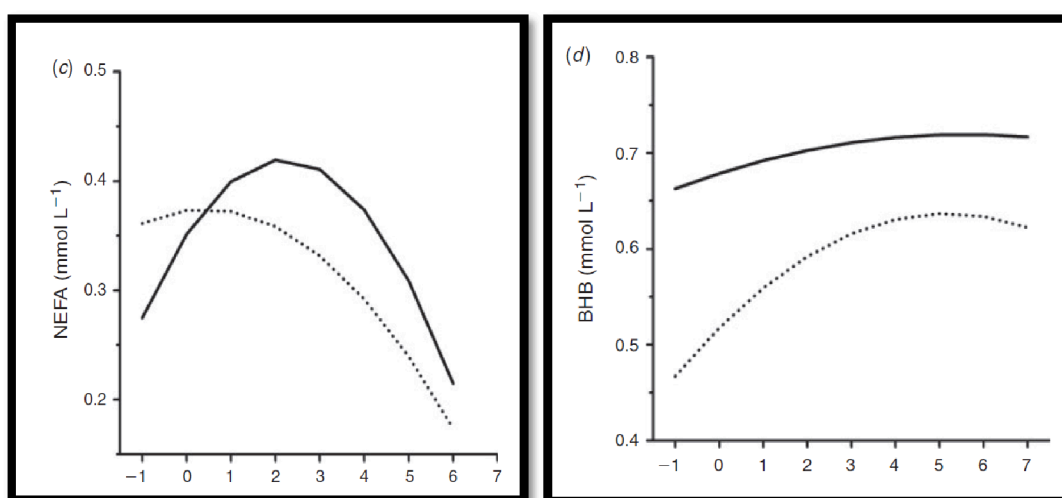


Figura 6. Concentraciones plasmáticas de AGNEs (NEFAs) y β -HB (BHB) durante el periparto en vacas lecheras. Los gráficos muestran las concentraciones medias (cuadrados mínimos estimados) para animales de primer parto (línea de punto; n= 188) y para vacas múltiparas (línea sólida; n= 312) que fueron muestreados a las -1, +1, +4, +7 semanas respecto al parto (Wathes y col. 2013).

Glucosa. A diferencia de los animales monogástricos, las concentraciones sanguíneas de glucosa son mucho más estables en los rumiantes. En la vaca lechera en lactancia existe una elevada demanda de glucosa, el principal sustrato para la síntesis de lactosa por la glándula mamaria. Las concentraciones sanguíneas de glucosa están directamente relacionadas a la energía ingresada con los alimentos (Yelich y col. 1996) y está reducida en las vacas de alta producción respecto de las de baja producción (Snijders y col.

2001). Foster y Nagatani (1999) sugieren que la glucosa podría constituir una señal metabólica proveyendo información para el control de la secreción de GnRH. La glucosa, por lo tanto, parece estar involucrada a nivel central en la liberación de LH y esto presumiblemente refleja su rol como moduladora de la liberación de GnRH.

Colesterol. Este componente forma parte de las lipoproteínas. Estas se sintetizan en el hígado e intestino delgado. Józwik y col. (2012) hallaron que los niveles de colesterolemia eran menores en la lactancia temprana (60 DEL) y que luego se incrementaban con el transcurso de la misma. También encontraron una correlación positiva entre los niveles de colesterol en sangre y la producción diaria de leche.

Urea y creatinina. La mayor parte de la úrea es sintetizada en el hígado y excretada por el riñón. Sin embargo, en rumiantes, la excreción ruminal de este metabolito es igualmente importante (Latimer y col. 2005). La úrea en sangre, en los rumiantes, está fuertemente influenciada por el contenido proteico de la dieta. El consumo de dietas con elevado contenido de proteínas altamente degradable en rumen en vacas en lactancia está asociado con una elevada concentración de nitrógeno ureico en sangre (BUN; blood urea nitrogen) y úrea en leche (Hammon y col. 2005). Se sugirió que la degradación de las proteínas en el rumen puede conducir a concentraciones elevadas de BUN y NH_3 en los fluidos orgánicos de la vaca, resultando tóxicos para las gametas o el embrión reduciendo, consecuentemente, la eficiencia reproductiva (Visek 1984; Ferguson y col. 1988; Staples y col. 1993). En este sentido, se hallaron concentraciones de amonio elevadas en el líquido folicular de vacas con BUN mayores de 20 mg/dl en el día del estro (Hammon y col. 2005).

Respecto de la creatinina, la mayor parte es de origen endógeno, por conversión no enzimática de creatina que almacena energía en el músculo en forma de fosfocreatina. Su excreción es principalmente renal. En caso de fallo renal, en rumiantes, la determinación de creatinina en sangre conjuntamente con la medición de la uremia ayuda a la interpretación diagnóstica debido al mecanismo particular de excreción de la úrea por el rumen en estas especies por lo que la sola determinación de este último metabolito no conduciría a evaluaciones diagnósticas confiables.

1.4.2 Macrominerales:

Calcio. El calcio (Ca) sérico total se presenta en 3 formas: calcio ionizado o libre (50%), calcio ligado a albúmina (40%) y calcio ligado a aniones, principalmente citrato y fosfato (10%). La ingesta de Ca raramente afecta la concentración sérica de este mineral. La reducción de la ingesta de Ca se ajusta incrementando la actividad de la paratohormona (PTH), hormona que regula la concentración de iones calcio en el líquido extracelular, aumentando la resorción ósea al estimular a los osteoclastos para degradar el hueso, lo que libera más calcio al torrente sanguíneo. El incremento de la ingesta de Ca se regula mediante la excreción urinaria y fecal (Latimer y col. 2005). En las vacas lecheras se presentan varios grados de hipocalcemia, pero la mayoría experimentan cierto nivel de hipocalcemia alrededor del parto debido a una demanda repentina por la lactación (Goff, 2000). Las vacas hipocalcémicas tienen un riesgo incrementado de desarrollar otras enfermedades como cetosis, mastitis (Overton y Waldon 2004) y enfermedades uterinas posparto debido a una función disminuida de los neutrófilos (Leblanc 2008). También se ha demostrado que la hipocalcemia subclínica reduce la ciclicidad ovárica (Ribeiro y col. 2013).

Fósforo. El fósforo (P) sérico está regulado principalmente por los riñones. La ingesta de P puede afectar directamente su concentración sérica. Las primeras investigaciones sobre el tema reportaron una pobre eficiencia reproductiva en el ganado vacuno pastoreando en suelos deficientes en P muchas veces acompañados de síntomas clínicos tales como osteomalacia, osteofagia y anorexia reflejando seguramente casos extremos de deficiencia de P (Theiler y col. 1928; Eckles y col. 1932). Otros autores reportaron una menor producción de terneros, menores tasas de concepción y una ciclicidad alterada asociadas a la baja ingesta de P. Sin embargo, no se pudo establecer un mecanismo de acción específico para explicar el rol del P en la reproducción (Hignett y Hignett 1952; Scharp 1979). Estudios más recientes sobre el tema demostraron que el aumento del P en la dieta no tuvo efectos beneficiosos sobre la performance reproductiva en vacas lecheras (López y col. 2004; Tallan y col 2005). Esto podría atribuirse a un mejor balance de las dietas en los sistemas de producción actuales.

Magnesio. La concentración de magnesio (Mg) sérico depende de la ingesta alimentaria y está regulada por los mineralocorticoides y la PTH. Una ingesta inadecuada de Mg está relacionada con el desarrollo de la enfermedad clínica, siendo su máxima expresión la 'tetania hipomagnesémica', característica del ganado vacuno pastoreando verdeos de invierno. Concentraciones séricas menores de Mg en la lactancia temprana en vacas lecheras en sistemas pastoriles fueron asociadas con un retardo en el retorno a la ciclicidad luego del parto (Burke y Roche 2007).

Probablemente la mayor relevancia de la medición de las concentraciones séricas de P y Mg en vacas lecheras podría justificarse por el estado de hipofosfatemia e hipomagnesemia concurrente a la hipocalcemia característica de la lactancia temprana.

Tabla 3. Parámetros sanguíneos analizados en vacas Holando en lactancia: número de muestras, media, mediana, desviación estándar, sesgo y curtosis (Modificado de Cozzi y col. 2011).

Parámetro	No.	Media	Mediana	Sesgo	Curtosis	DS
Proteína total (g/L)	735	82	81	0,2826	-0,1484	6,1
Globulina (g/L)	734	45	44	0,6091	0,1656	6,6
Albumina (g/L)	732	37	37	-0,1701	-0,2713	2,5
Urea (mmol/L)	738	4,6	4,6	0,1626	-0,0221	1,2
Creatinina ($\mu\text{mol/L}$)	736	65	65	0,4187	0,019	9,3
Glucosa (mmol/L)	736	3,2	3,2	-0,1587	-0,1941	0,4
AGNES (mEq/L)	721	0,19	0,15	1,6023	2,4285	0,14
ALT (U/L)	738	32	33	0,0033	-0,2951	7,4
AST (U/L)	723	83	80	0,9562	1,029	16,8
ALP (U/L)	728	107	101	0,8781	0,7788	37
Colesterol (mmol/L)	737	5,5	5,4	-0,0042	-0,0954	1,4
Bilirrubina directa ($\mu\text{mol/L}$)	733	1,5	1,3	0,8953	0,4309	0,5
Bilirubina total ($\mu\text{mol/L}$)	731	4,9	4,6	0,7935	0,4092	1,4
Calcio (mmol/L)	733	2,4	2,4	-0,2873	0,2418	0,1
Fósforo (mmol/L)	738	1,8	1,5	0,1825	-0,0335	0,3
Magnesio (mmol/L)	732	0,93	0,87	0,3918	0,6118	0,09

Tabla 4. Valores promedio (\pm SD) de proteínas totales, albúmina, urea, creatinina y bilirrubina sérica contenidos en cinco vacas Holando Frisio, en más de ocho periodos reproductivos (Piccione y col. 2012).

Periodo	Proteínas (g/dL)	Albúmina (g/dL)	Urea (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Bilirrubina Indirecta(mg/dL)	Bilirrubina Total (mg/dL)
Gestación tardía	5,52 \pm 0,45	2,99 \pm 0,19	16,00 \pm 1,92	1,21 \pm 0,22	0,11 \pm 0,03	0,21 \pm 0,01
Posparto	4,83 \pm 0,88	3,17 \pm 0,36	20,83 \pm 4,30*	1,22 \pm 0,24	0,10 \pm 0,04	0,18 \pm 0,09
Lactancia temprana	5,27 \pm 0,51	2,93 \pm 0,39	15,50 \pm 3,36 ^o	1,06 \pm 0,09	0,06 \pm 0,02	0,13 \pm 0,06
2 ^{da} semana lactancia	5,93 \pm 0,75	2,90 \pm 0,30	17,67 \pm 1,64	0,99 \pm 0,05	0,06 \pm 0,03	0,13 \pm 0,08
5 ^{ta} semana lactancia	6,28 \pm 0,65 ^o	2,86 \pm 0,22	15,00 \pm 2,34 ^o	0,89 \pm 0,05* ^o	0,06 \pm 0,03	0,13 \pm 0,08
15 ^{ta} semana lactancia	6,38 \pm 0,46 ^o	3,06 \pm 0,16	23,50 \pm 1,30* ^o	0,85 \pm 0,17* ^o	0,04 \pm 0,01	0,11 \pm 0,05
Final lactancia	6,32 \pm 0,60 ^o	6,32 \pm 0,60	23,00 \pm 1,67* ^o	0,83 \pm 0,06* ^o	0,06 \pm 0,04	0,15 \pm 0,11
Periodo seco	6,17 \pm 0,89 ^o	6,17 \pm 0,89	18,00 \pm 2,30 ^o *	0,98 \pm 0,20	0,09 \pm 0,01	0,19 \pm 0,03

Significancias: * vs Gestación tardía (P<0,001); ^o vs Posparto (P<0,0001); [□] vs Lactancia temprana (P<0,001); • vs 2^{da} semana de lactancia (P<0,001); • vs 5^{ta} semana de lactancia (P<0,0001); [▲] vs 15^{ta} semana de lactancia (P<0,001); * vs Final de lactancia (P<0,001).

Tabla 5. Valores promedio (\pm SD) de colesterol total, triglicéridos, AGNEs y β -Hidroxibutirato contenidos en suero en cinco vacas Holando Frisio, en más de ocho periodos reproductivos (Piccione y col. 2012).

Periodo	Colesterol total (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)	AGNEs	B-Hidroxibutirato (mmol/L)
Gestación tardía	79,17 \pm 12,30	14,83 \pm 4,08	0,27 \pm 0,04	0,39 \pm 0,06
Posparto	63,50 \pm 6,76	9,83 \pm 1,92*	0,60 \pm 0,08*	0,43 \pm 0,05
Lactancia temprana	58,33 \pm 4,12	8,33 \pm 1,87*	0,42 \pm 0,10 ^o	0,49 \pm 0,08
2 ^{da} semana de lactancia	81,33 \pm 10,66	9,50 \pm 0,89*	0,20 \pm 0,05 ^o □	0,59 \pm 0,02
5 ^{ta} semana de lactancia	111,50 \pm 8,43 ^o *□	8,50 \pm 2,58*	0,20 \pm 0,06 ^o □	0,51 \pm 0,08
15 ^{va} semana de lactancia	149,00 \pm 29,16 ^o □**	9,67 \pm 1,81*	0,07 \pm 0,02 ^o □*	0,68 \pm 0,08* ^o
Final de lactancia	80,33 \pm 8,01*	11,17 \pm 1,81	0,04 \pm 0,01 ^o □**	0,90 \pm 0,08* ^o □**
Periodo seco	83,50 \pm 7,49 ^o □*	12,17 \pm 0,54	0,07 \pm 0,00 ^o □**	1,02 \pm 0,27* ^o □** [▲]

Significancias: * vs Gestación tardía (P<0,001); ^o vs Posparto (P<0,0001); [□] vs Lactancia temprana (P<0,001); • vs 2^{da} semana de lactancia (P<0,001); • vs 5^{ta} semana de lactancia (P<0,0001); [▲] vs 15^{va} semana de lactancia (P<0,001); * vs Final de lactancia (P<0,001).

Tabla 6. Valores promedio (\pm SD) de minerales contenidos en suero en cinco vacas Holando Frisio, en más de ocho periodos reproductivos (Piccione y col. 2012).

Periodo	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Mg (mg/dL)
Gestación tardía	7,75 \pm 0,48	5,67 \pm 0,66	2,10 \pm 0,20
Posparto	5,78 \pm 1,00*	4,88 \pm 0,86	1,76 \pm 0,95
Lactancia temprana	7,12 \pm 0,88 ^o	5,13 \pm 0,55	1,93 \pm 0,19
2 ^{da} semana de lactancia	7,72 \pm 0,64 ^o	5,43 \pm 0,45	2,15 \pm 0,20
5 ^{ta} semana de lactancia	7,52 \pm 0,68 ^o	4,53 \pm 0,21*	2,07 \pm 0,08
15 ^{va} semana de lactancia	8,15 \pm 0,32 ^o	5,00 \pm 0,87	2,10 \pm 0,10
Final de lactancia	8,03 \pm 0,80 ^o	4,25 \pm 0,21**	2,10 \pm 0,21
Periodo seco	7,83 \pm 0,76 ^o	4,83 \pm 0,83	2,08 \pm 0,61

Significancias: * vs Gestación tardía (P<0,001); ^o vs Posparto (P<0,0001); [□] vs Lactancia temprana (P<0,001); • vs 2^{da} semana de lactancia (P<0,001); • vs 5^{ta} semana de lactancia (P<0,0001); [▲] vs 15^{va} semana de lactancia (P<0,001); * vs Final de lactancia (P<0,001).

1.5 Anestro posparto en la vaca lechera

El anestro es un estado de inactividad ovárica sin manifestación de celo que, a pesar de no haber sido definido como una enfermedad, es un signo de diversos trastornos (McDougall y Compton 2005; Chagas y col. 2008; López-Gatius y col. 2008). Durante la lactancia temprana, el incremento de la partición de energía hacia la producción de leche puede resultar en anestro debido a un retraso en la reactivación de la actividad folicular. Sin embargo, factores tales como ingesta limitada de energía, bajas reservas corporales, y enfermedades posparto pueden también retrasar el retorno a la ciclicidad (Peter y col. 2009).

Historicamente, el anestro ha sido clasificado desde el punto de vista clínico en 4 tipos: ovulación silente, hipofunción ovárica, enfermedad quística ovárica y cuerpo lúteo persistente (Mwaanga y col. 2000). Más recientemente, se lo ha clasificado en base a la dinámica folicular y luteal del ovario (Wiltbank y col. 2002; Peter y col. 2009). De esta clasificación surgen 4 tipos de anestro (Figura 7):

- Tipo I: existe crecimiento y emergencia de nuevos folículos sin llegar a establecer dominancia. Este caso es característico de situaciones de extrema desnutrición y sería debido a una deficiencia de LH para sostener el crecimiento y dominancia del folículo.
- Tipo II: habría desviación y crecimiento seguido de atresia o regresión. En ciertos casos el folículo puede llegar al estado de dominancia para luego atresarse. En este tipo de anestro suelen sucederse varias ondas de crecimiento folicular hasta la ocurrencia de la primera ovulación que suele demorarse.
- Tipo III: hay desviación, crecimiento y dominancia pero existe falla en la ovulación transformándose en una estructura folicular persistente. Se podrían diferenciar 2 categorías de vacas anovulatorias: aquellas con folículos anovulatorios persistentes y vacas con quistes foliculares (enfermedad quística ovárica). Los primeros se describen como folículos únicos que poseen entre 8 y 15 mm y que son detectados en 2 exámenes ginecológicos consecutivos ante la ausencia de cuerpo lúteo o quiste, sin signos de estro y que fueron observados en un período de 7 días entre los exámenes (López-Gatius y col. 2001; López-Gatius y col. 2004; Peter y col. 2009). Los folículos persistentes pueden seguir creciendo y transformarse en quiste folicular o, como ocurre en un 10-13% de los casos, luteinizarse (quiste luteal). Los quistes foliculares, por su parte, se diferencian del folículo persistente por su mayor tamaño (>18 mm) y al igual que éstos pueden regresar espontáneamente o persistir como estructuras anovulatorias (Peter y col. 2009). Estos últimos serán descritos más detalladamente en la siguiente sección.
- Tipo IV: es debido a una fase luteal prolongada. En estas vacas ocurre ovulación y formación del cuerpo lúteo pero existe una falla en la regresión luteal

subsiguiente. La ausencia de un folículo dominante estrogénico al momento de la regresión luteal o un endometrio disfuncional debido a infección uterina o piómetra conducirían a una falla en la liberación de PgF2 α .

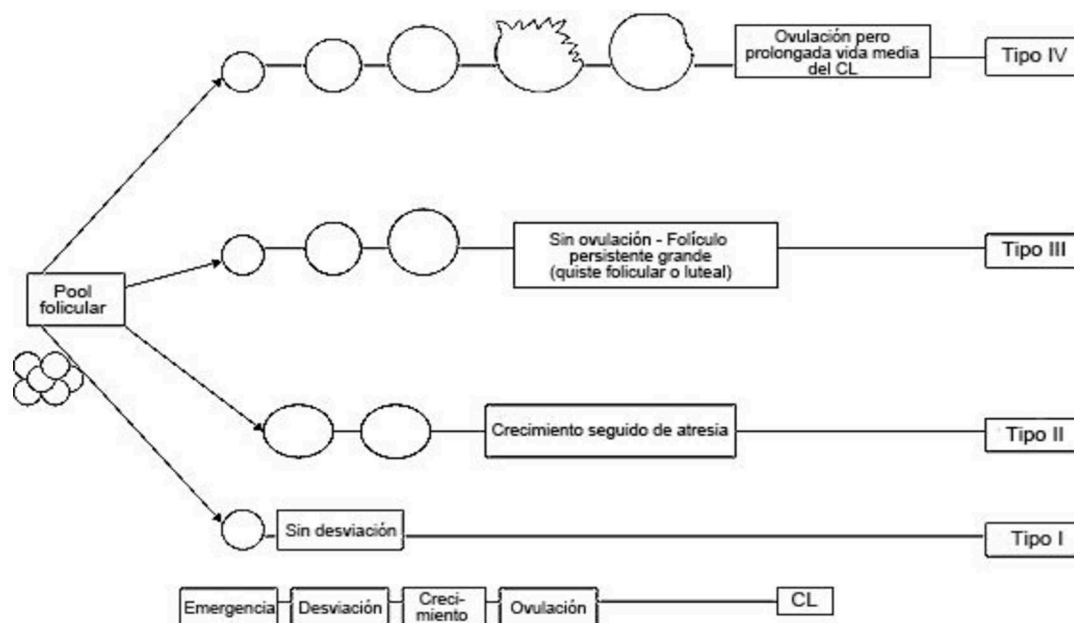


Figura 7. Representación esquemática de los distintos tipos de anestros basados en la fisiología de la dinámica folicular/ovárica (Modificado de Peter y col. 2009).

1.6 Enfermedad Quística Ovárica (COD)

1.6.1 Definición:

La primera descripción de COD fue hecha en 1831 en ganado lechero (Garm y col. 1949). Originariamente se definió como **Quiste folicular (QF)** a folículos anovulatorios únicos o múltiples en uno o ambos ovarios, de al menos 2,5 cm. de diámetro y que persistían por >10 días en ausencia de cuerpo lúteo (Roberts 1971; Kesler y Garverick 1982). El **Quiste Luteal (QL)** al igual que el QF es una estructura anovulatoria pero, a diferencia de los QF, tiene una pared más gruesa que contiene tejido luteal y por lo general se encuentra como una única estructura en uno u otro ovario. Al examen ecográfico suele apreciarse un trabeculado ecoico en el interior de la cavidad

del quiste (Hanzen y col. 2000; Figura 8). Es probable que estos sean QF en etapas más tardías en las cuales las células de la granulosa y/o teca se luteinizan espontáneamente y comienzan a secretar progesterona (Garverick y col. 1997). La ultrasonografía y la medición de la P_4 plasmática fueron utilizadas para determinar en forma más precisa el tipo de quiste (Douthwaite y Dobson 2000). Ambos deben diferenciarse del **Cuerpo Lúteo Quístico (CLQ)**, el cual presenta una cavidad de tamaño variable, no es patológico y se forma subsecuentemente a una ovulación normal sin afectar la duración del ciclo estral (Kesler y Garverick 1982).



Figura 8. Imágenes ecográficas de: a) quiste folicular; b) quiste luteal y c) cuerpo lúteo quístico.

Esta definición clásica de quistes ováricos debe complementarse con el concepto de que los quistes foliculares pueden regresar y ser reemplazados por otros, pueden atresarse o luteinizarse (quiste luteal) e inclusive en su presencia puede producirse la ovulación y la regresión espontánea, por lo cual se considera que esta es una enfermedad altamente dinámica (Hamilton y col. 1995; Silvia y col. 2002; Bartolomé y col. 2005; Salvetti y col. 2007). En este sentido, se ha observado que el 51% de los folículos que alcanzan 10 mm o más en presencia de un quiste folicular también se tornan quísticos (Silvia y col. 2002). Por lo expuesto más arriba, en publicaciones más recientes se los ha definido como folículos anovulatorios únicos o múltiples, localizados en uno o ambos ovarios, que tienen un diámetro mayor a 18 mm (mayor al diámetro

ovulatorio para la raza), con una persistencia mayor a 6 días en ausencia de tejido luteal, sin tonicidad uterina y con interrupción de los ciclos estrales normales (Silvia y col. 2002; Bartolomé y col. 2005; Vanholder y col. 2006).

1.6.2 Signología:

Clínicamente la COD bovina se caracteriza por una ausencia de la conducta sexual receptiva (anestro, 62-85% de los casos), aunque son usuales los ciclos irregulares con manifestación de conducta estral más frecuente de lo normal (ninfomanía). En ciertos casos se observa relajación de los ligamentos anchos de la pelvis y desarrollo de caracteres físicos masculinos, especialmente en aquellos casos que ocurren más tardíamente en la lactancia (Robert 1986; Youngquist 1986). Los quistes foliculares pueden ocurrir en diferentes momentos a lo largo de la lactancia, pero de acuerdo a lo descrito, son más frecuentemente diagnosticados durante los primeros 60 días posparto (Vanholder y col. 2006). El porcentaje de recuperación de estos quistes de aparición temprana sin la implementación de tratamientos es cercana al 60–65%, sin embargo, la importancia y el impacto en la fertilidad de la vaca lechera es considerable (Vanholder y col. 2006). Se estima que cada evento producido adiciona entre 22 y 65 días al período parto-concepción provocando pérdidas significativas a la producción pecuaria (Lee y col. 1988; Borsberry y Dobson 1989; Silvia y col. 2002).

1.6.3 Etiología y Patogenia.

La COD se desarrolla cuando uno o más folículos no ovulan y subsecuentemente no regresan sino que mantienen el crecimiento y la producción de esteroides. A pesar de la alta incidencia de esta enfermedad, la patogenia exacta de la COD en las vacas lecheras aún no está completamente comprendida (Probo y col. 2011, Ortega y col.

2015). Es generalmente reconocido que la COD se desarrolla a partir de una disfunción del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (Vanholder y col. 2006). La hipótesis más ampliamente aceptada es que la liberación de LH estimulada por la GnRH desde el hipotálamo-hipófisis está alterada: el pico preovulatorio de LH puede estar ausente o sería insuficiente en magnitud u ocurre en un momento inadecuado durante la maduración del folículo dominante, lo cual conduce a la formación del quiste (Garverick 1997, Vanholder y col. 2006). Esta ausencia o insuficiencia en la liberación de LH no parecería que fuera causada por un menor contenido de GnRH del hipotálamo, tampoco por un reducido número de receptores de GnRH o LH en la hipófisis (Brown y col. 1986; Cook y col. 1991). Se cree que una alteración en el mecanismo de retroalimentación de estrógenos sobre el eje hipotálamo-hipófisis puede resultar en una liberación aberrante de GnRH/LH y conducir a la formación del quiste (Gümen y col. 2002; Gümen y col.2005). Este estado de falta de respuesta del hipotálamo a los estrogénos parecería estar presente en la mayoría de las vacas con COD, como lo demuestra la falla del tratamiento exógeno con E₂ en inducir la producción de un pico de LH sincrónico (Dobson y Nanda 1992). Para restablecer el mecanismo de retroalimentación el hipotálamo necesita ser expuesto a ‘niveles luteales’ de progesterona (Ozturk y col. 1998; Gümen y col.2005). Un mecanismo de retroalimentación y liberación alterado puede deberse a factores que interfieren a nivel del hipotálamo e hipófisis (Vanholder y col. 2006).

Efectos de los niveles subluteales de P₄. La progesterona a niveles subluteales (entre 1-2 ng/ml) bloquea la liberación del pico de LH a nivel del centro cíclico del hipotálamo, interfiriendo, por lo tanto, en la ovulación. Estos niveles subluteales de P₄ también generan cambios en los patrones de pulsatilidad de la LH provocando un aumento de la

frecuencia de pulsos de LH (Sirois y Fortune 1990; Savio y col. 1993; Stock y col. 1993; Duchens y col. 1994), así como alteraciones en la concentración basal, la amplitud y concentración de los pulsos de LH (Díaz y col. 2015). Estas modificaciones en los patrones pulsátiles de LH no le permiten al folículo dominante ovular pero si seguir creciendo y sintetizando esteroides, generando un folículo persistente anovulatorio con un diámetro mayor y una vida media más larga que lo normal, acompañado de concentraciones periféricas elevadas de E_2 (Stock y col. 1993). Estos cambios foliculares y hormonales son similares a los observados en vacas con COD (Hamilton y col. 1995). Estas similitudes entre folículos persistentes inducidos por niveles de P_4 suprabasal y quistes que ocurren naturalmente, sugieren un rol de la P_4 en la patogénesis de la COD (Silvia y col. 2002; Vanholder y col. 2006). Para confirmar esta hipótesis, Díaz y col. (2013) desarrollaron un modelo experimental introduciendo dispositivos intravaginales en vacas en fase folicular del ciclo estral generando de esa forma niveles de P_4 suprabasales y la persistencia de los folículos preovulatorios. Más aún, las concentraciones séricas de LH eran intermedias entre aquellas de la fase folicular y luteal. También observaron que a los 10 días de persistencia los animales mantenían una frecuencia pulsátil de la LH similar a la observada en la fase folicular (6 a 8 pulsos/8 hs) aunque con una amplitud menor (0,34-0,40 ng/ml vs. 0,49-0,55 ng/ml).

Hipótesis de los niveles intermedios de P_4 . La respuesta hipotalámica al E_2 es reestablecida dentro de las 6 semanas siguientes a la regresión de los quistes ováricos (De Silva y Reeves 1988). Esto implica que el factor responsable de bloquear el pico preovulatorio de LH podría ser de origen ovárico. Un factor ovárico que podría ejercer este efecto inhibitorio es la P_4 . Los QF contienen, concentraciones relativamente altas de P_4 en el líquido folicular (Boryczko y col. 1995, Calder y col. 2001), siendo más

elevada que en folículos preovulatorios normales o atrésicos (Calder y col. 2001). En este sentido, Silvia y col. (2002) observaron que vacas con QF tenían concentraciones periféricas de P_4 en un rango de 0,1 a 1 ng/ml. Tradicionalmente, 1 ng/ml ha sido considerado un nivel umbral o basal para la actividad biológica de esta hormona. Recientemente, la relevancia funcional de 1 ng/ml como punto de corte ha sido cuestionada. Se ha observado que los folículos persistieron y su ovulación fue retrasada cuando las concentraciones de P_4 fueron mantenidas a sólo 0,3 ng/ml (Silvia y col. 2002). Basado en estos hallazgos, Silvia y col. (2002) sostienen que la insensibilidad hipotalámica al E_2 puede deberse a concentraciones intermedias de P_4 en la circulación periférica (entre 0,1 y 1 ng/ml). La fuente de esta P_4 aún no ha sido determinada, aunque el quiste mismo podría contribuir con la misma como se explica más abajo. Por otro lado, dichos autores proponen que el ‘primer quiste’ en formarse y que da inicio al proceso patológico tiene lugar cuando, durante la reactivación ovárica en el posparto inmediato, ocurre una ‘luteinización parcial’ del folículo preovulatorio. El bajo nivel de P_4 secretado por el folículo puede ser suficiente para bloquear el pico de LH resultando en la formación de un quiste. Por otro lado, aquellos folículos normales que crecen en presencia de quistes foliculares secretando niveles intermedios de P_4 se tornarían igualmente quísticos generando un mecanismo de recambio que caracteriza el dinamismo de esta enfermedad (Figura 9). En consonancia con esta hipótesis, en un estudio reciente se observó que el total de las vacas quísticas también presentaba niveles sanguíneos de P_4 que variaban entre 0,3 y 1,2 ng/ml (Probo y col. 2011).

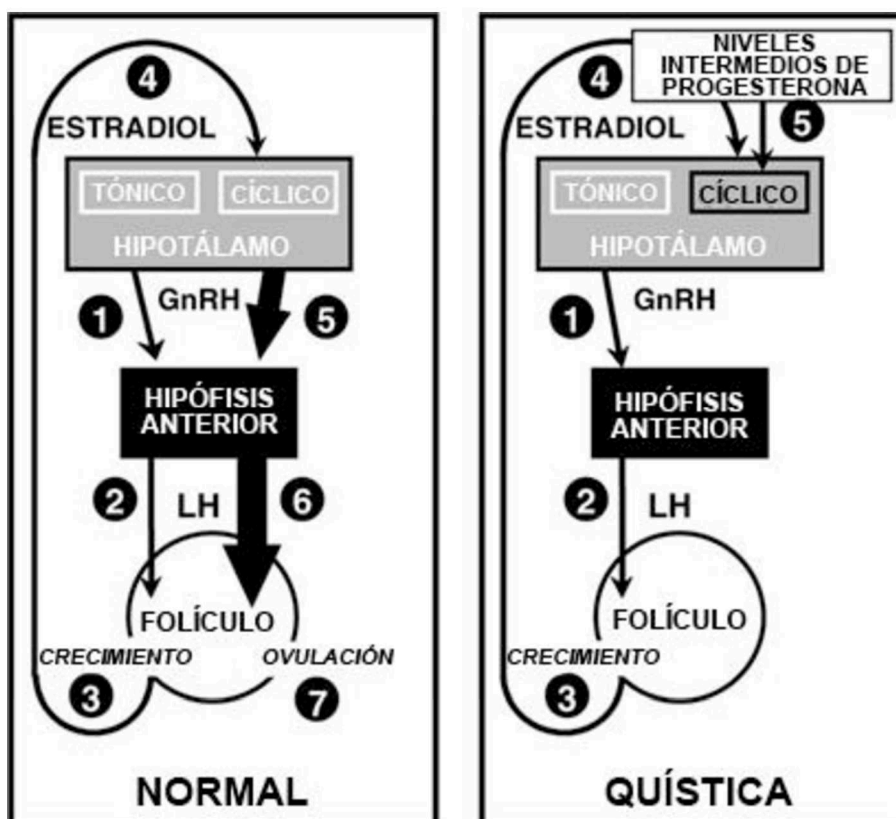


Figura 9. El modelo permite interpretar cómo las concentraciones intermedias de P_4 podrían conducir a la formación quistes foliculares ováricos. Durante la fase folicular en una vaca normal, el centro tónico en el hipotálamo secreta GnRH a una elevada frecuencia (1), estimulando una secreción de LH también a una elevada frecuencia que promueve la maduración del folículo dominante (3). Este folículo secreta concentraciones crecientes de E_2 (4) que finalmente alcanzan un umbral adecuado para activar el centro cíclico del hipotálamo para liberar GnRH (5) en cantidades adecuadas para estimular el pico preovulatorio de LH (6). Este pico de LH inducirá la ovulación del folículo dominante (7). La vaca con quistes foliculares es similar hasta el paso 4, sin embargo, difiere en que frecuentemente presenta concentraciones intermedias de P_4 que tornan al centro cíclico del hipotálamo insensible al efecto estimulador del E_2 . Por lo tanto, el pico preovulatorio de LH es bloqueado, la ovulación no ocurre y el folículo dominante persiste. El centro tónico del hipotálamo no se halla afectado por P_4 intermedia, permitiendo mantener la elevada frecuencia de secreción de LH. Esto provee el soporte gonadotrófico que necesita el quiste para funcionar (Silvia y col. 2002).

Estrés y COD. La participación del estrés en la patogenia de la COD se cree que puede estar mediada por la descarga endógena de cortisol la cual inhibe la liberación de LH.

Un primer reporte que asociaba al estrés con la COD mostraba que las vacas quísticas

tenían sus glándulas adrenales aumentadas de tamaño (Garm 1949). El pico preovulatorio de LH es especialmente sensible al efecto inhibitorio de los corticoesteroides cuando son aplicados en forma exógenos en la vaca (Stoebel y Moberg 1982; Moberg 1991; Ribadu y col. 2000; Amweg y col. 2011). La administración continua de cortisol o la inyección dos veces al día de ACTH o betametasona resulta en reducidos picos plasmáticos de concentraciones de LH siguientes a la estimulación con GnRH. En cultivos de células de la pituitaria incubadas en presencia de glucocorticoides fue demostrada la supresión de la liberación de LH tras la estimulación con GnRH, estableciéndose un sitio de acción hipofisario para los glucocorticoides (Liptrap 1993). Durante la formación de quistes ováricos inducidos por tratamientos con ACTH, la liberación preovulatoria de FSH y LH están bloqueados y esta supresión podría estar provocada por aumentos en la secreción de cortisol y P_4 y disminución en la secreción de E_2 . La elevada concentración de P_4 actuaría inhibiendo la liberación de GnRH por bloqueo de la eminencia media del hipotálamo (Kawate 2004). Entonces, el mecanismo de formación de los quistes foliculares inducidos por estrés propuesto por Kawate (2004) sugiere que el estrés en la vaca induce la liberación de ACTH y ésta provoca el aumento de la secreción de cortisol y P_4 lo cual inhibe la secreción de GnRH del hipotálamo. Sumado a esto, el aumento de la secreción de cortisol disminuye el contenido de receptores de LH y la secreción de E_2 de los folículos antrales (Figura 10). Consecuentemente, la retroalimentación positiva de los estrógenos se deteriora, el pico de LH se suprime y la ovulación es impedida. Por su parte, los péptidos opioides endógenos (endorfinas) producidos en la hipófisis y el cerebro están involucrados en varias respuestas al estrés y se ha postulado que bloquean el pico de LH inducido por estrógenos y la liberación hipotalámica de GnRH (Malven 1986). En el bovino, la administración de un antagonista opioide (ej. Naloxona) resulta en un aumento sérico de

LH en una variedad de estados fisiológicos (Byerley y col. 1992). Cuando la Naloxona es administrada a un individuo con niveles elevados de endorfinas se produce un rápido aumento intracelular de Ca que estimula la producción y liberación de LH (Minoia y Sciorsi 2001). Se ha determinado que vacas con COD tratadas con Naloxona tuvieron una respuesta favorable con regresión de los quistes dentro de las 2 semanas siguientes (Palomar y col. 2008).

Rol del ovario/folículo en la patogenia de la COD. Una disfunción primaria a nivel del folículo puede provocar una disrupción del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal y causar la formación del quiste (Vanholder y col. 2006). Numerosos factores intraováricos están envueltos en la fisiopatogenia de la COD (Salveti y col. 2010; Rodríguez y col. 2013) aunque los cambios a nivel celular y molecular que ocurren dentro del folículo ovárico antes de la anovulación están aún poco claros e inconclusos. En este proceso las gonadotropinas juegan un rol fundamental y se ha sugerido que alteraciones en la expresión de sus receptores podrían ser un factor relevante en el desarrollo de los quistes (Kawate y col. 1990; Calder y col. 2001). Más recientemente, Marelli y col. (2014), estudiaron la expresión del mRNA de los receptores de gonadotropinas, LHCGR y FSHR por PCR en tiempo real. Estos autores encontraron que la expresión de LHCGR y FSHR mRNAs en las células de la granulosa de quistes es significativamente más baja que aquella encontrada en todos los estadios de desarrollo folicular en animales controles. En contraste, los niveles de expresión en células de la teca de quistes fue menor que aquella encontrada en folículos antrales grandes. En conclusión, los animales con COD poseen una expresión alterada de receptores de gonadotropinas comparado con los folículos de animales controles, causando estos pequeños cambios alteraciones importantes que pueden ser parte del complejo etiopatogénico de la COD.

De la misma forma, diferencias en la expresión de receptores y correguladores de esteroides entre quistes foliculares y folículos antrales normales también han sido reportadas (Alfaro y col. 2012; Salvetti y col. 2012). Los cambios en la expresión y contenidos de estas moléculas, pueden ser la causa de alteraciones en la esteroidogénesis a nivel del folículo dominante y ser parte importante del mecanismo de formación de los quistes (Vanholder y col. 2006; Anweg y col. 2011).

Ha sido propuesto que la acción de los glucocorticoides sobre la función ovárica podría ser antagónica a la función reproductiva (Acosta y col. 2005) con un efecto directo sobre las células de la granulosa, reduciendo la producción de esteroides gonadales, prostaglandinas y la expresión de receptores de LH (Kawate y col. 1990; Kol y col. 1998). Considerando que la ovulación es un evento inflamatorio caracterizado por un incremento en la síntesis de interleuquinas y prostaglandinas (Espey 1980; Ando y col. 1998), un incremento en la producción de glucocorticoides antiinflamatorios durante la ovulación podría limitar este proceso inflamatorio en el ovario (Hillier y col. 1998; Michael y col. 2003; Acosta y col. 2005). Aunque, el ovario no sería capaz de sintetizar de novo glucocorticoides, un estímulo con ACTH es capaz de estimular la secreción de cortisol de cultivos celulares de pared folicular (Wiltbank y col. 2002). Además, el acceso de cortisol activo a los tejidos diana es regulado por la expresión relativa de dos enzimas 11β -hidroxiesteroide-dehidrogenasa 1 y 2 (11β HSD 1 y 2), que respectivamente catalizan la activación e inactivación del cortisol en el ovario bovino. Amweg y col. (2013), documentaron la inmunolocalización de estas dos enzimas en las paredes de folículos quísticos, donde tanto quistes espontáneos como inducidos con ACTH mostraron inmunomarcación positiva para las dos enzimas, siendo la 11β HSD1 la que evidenció un nivel de expresión más alto en células de la granulosa en relación a los folículos terciarios controles. Asimismo, Amweg y col. (2011) demostró por PCR en

tiempo real la expresión de receptores de melanocortina en la pared de folículos ováricos, a los cuales se une la ACTH para ejercer su efecto. Estos trabajos evidencian que los folículos ováricos podrían estar expuestos a altas concentraciones activas de glucocorticoides, ejerciendo así un rol local en la etiopatogenia de la COD.

Además de estos componentes intervinientes en la patogenia de la COD, la proliferación celular y la apoptosis de las células de la granulosa y teca también parecen estar alteradas en los folículos quísticos (Vanholder y col. 2006, Salvetti y col. 2010). Los quistes foliculares tempranos muestran un aumento de la apoptosis mientras que la proliferación celular está disminuida (Isobe y Yoshimura 2000). Por su parte, Salvetti y col. (2010) proponen que un desbalance entre proliferación celular y apoptosis en el ovario podrían conducir a alteraciones en el microambiente del ovario y retrasar la regresión folicular luego de la falla de la ovulación, indicando nuevamente la presencia de un importante componente intraovárico como factor etiológico de la COD.

Balance energético negativo (BEN) y COD. Durante el período posparto temprano, la demanda energética para el mantenimiento y la producción de leche excede a la energía aportada por la ingesta, provocando un estado de BEN en el ganado vacuno durante el cual existe una movilización de las reservas corporales (Bauman y Currie 1980; Beam y Buttler 1997; Grohn y Rajala-Schultz 2000; Johnson 2004; Overton y Waldron 2004; Hooijer y col. 2005). En relación a esto, existiría un vínculo entre la COD y la magnitud y/o duración del BEN posparto (Vanholder y col. 2006). Actualmente se acepta que ciertas hormonas metabólicas, tales como: GH, insulina y el IGF-1 son mediadores claves entre el estado nutricional y la función ovárica en el bovino (Braw-Tal y col. 2009). Como ya hemos mencionado, durante el BEN, las concentraciones periféricas de insulina, IGF-1, glucosa (Beam y Butler 1999) y leptina (Block y col. 2001; Liefers y

col. 2003) están reducidas, mientras que las concentraciones de metabolitos tales como AGNEs y β -HB están incrementadas (Figura 10; Rukkwansuk y col. 2000; Leroy y col. 2004). El sistema IGF relacionado con el metabolismo general, también juega un rol importante en el crecimiento y desarrollo folicular (Spicer y col. 1995). Además de tener un efecto directo, IGF-1 junto con insulina indirectamente actúa sobre el desarrollo folicular a través de una estimulación de la formación de receptores de LH en las células de la granulosa (Davoren y col. 1986). Por lo tanto, bajas concentraciones sistémicas de IGF-1 en el posparto temprano podrían contribuir a la anovulación y subsecuente desarrollo de quistes foliculares (Zulu y col. 2002). Rodriguez y col. (2011, 2013) sugieren que desbalances entre IGF/IGFBPs podrían estar involucrados en el desarrollo de COD en el bovino. La insulina por sí misma es conocida por ser un potente estimulador de la esteroidogénesis in vitro (Gutierrez-Aguilar 1997; Price y col. 1999) e in vivo (Matamoras y col. 1990; Simpson y col. 1994; Armstrong y col. 2002). Gong y col. (2002) demostraron que vacas lecheras alimentadas con una dieta que incrementaba los niveles circulantes de insulina durante los 50 primeros días posparto tenían un anestro más corto independientemente de los niveles de LH y FSH y sin afectar la producción de leche o el balance energético. Este estudio también sugiere que la insulina tendría un efecto directo a nivel ovárico. Sumado a esto, estudios recientes han demostrado que existe una menor expresión del receptor de insulina en células de la granulosa de folículos quísticos y modificaciones en los intermediarios intracelulares en la respuesta a insulina que podrían afectar la funcionalidad folicular (Hein y col. 2015).

característicos del país, en los que se combinan el pastoreo directo con niveles variables de suplementación.

1.6.4.2 Factores de riesgo/ predisponentes:

Momento de la lactancia. Su hallazgo es más frecuente durante los primeros 60 días posparto aunque también pueden sucederse en cualquier otro momento de la lactancia (Whitmore y col. 1974, Laporte y col. 1994, Hoiijer y col. 2003, Bartolomé y col. 2005, Vanholder y col. 2006). Bartlett y col. (1986) describieron un pico mayor de incidencia entre 31 y 40 días posparto y otro pico menor entre los 190 y 220 días posparto.

Edad/Nro.de lactancia. La incidencia de COD se ha visto incrementada con la edad en la vaca lechera (Figura 11; Bartlett y col. 1986; Peter 2004) o con el aumento del número de pariciones (Laporte y col. 1994). En este sentido, en vaquillonas de primer parto ha sido reportada una incidencia del 5,7 al 7,4% mientras que en vacas multíparas fue del 13,7 al 18% (Hackett y Batra 1985; Fleischer y col. 2001). Por el contrario, en otro estudio realizado por Lopez-Gatius y col., (2002) no se observó una asociación entre la incidencia de quistes ováricos y el número de lactancias. Sin embargo, estos autores hallaron que el 80% de las vacas de primera parición que presentaron quistes ováricos dentro de los primeros 60 DPP se recuperaron espontáneamente, mientras que este valor representó sólo el 30% entre las vacas de más de una parición.

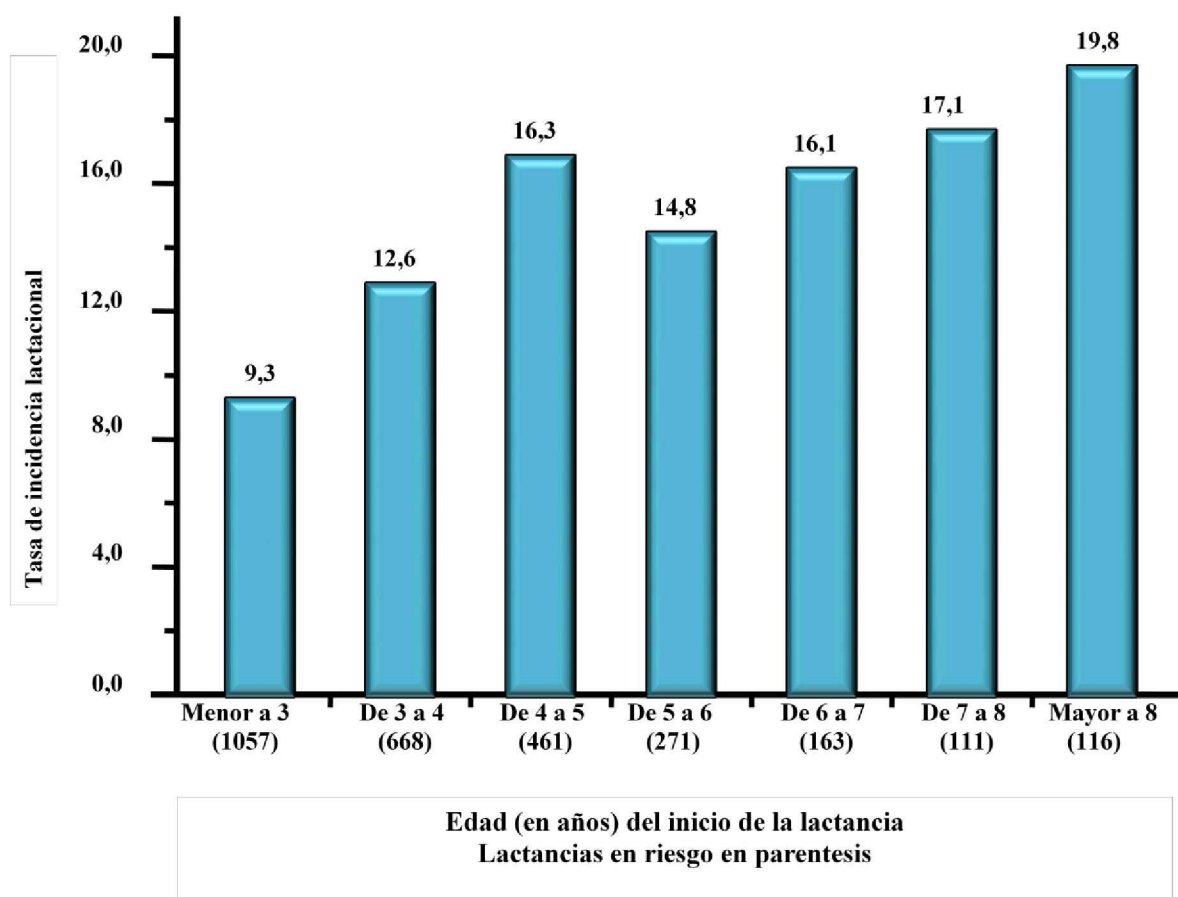


Figura 11. Tasas de incidencia de COD en vacas Holando en Michigan distribuidas según la edad del animal al inicio de la lactancia. Datos basados en 2847 lactancias (Bartlett y col. 1986).

Producción de leche. La asociación entre producción de leche y COD ha sido siempre controversial. Bartlett y col. (1986) reportaron que vacas quísticas produjeron durante esa lactancia 578 kgs más de leche que las vacas sanas. Por el contrario, Nanda y col. (1989) no hallaron diferencias en la producción entre vacas con COD y controles. Sin embargo, estos mismos autores coinciden en que no existieron diferencias en la producción de la lactancia que precedió a aquella en que tuvo lugar la COD (Bartlett y col. 1986; Nanda y col. 1989). Buena parte de los estudios reportados coinciden en que la mayor incidencia de quistes ováricos se observa en vacas de alta producción durante la lactancia temprana (Kesler y Garverick 1982, López-Gatius 2002, Peter 2004). Sin embargo, si la predisposición es directa o indirecta a través del estado metabólico del

animal o si es causa o consecuencia de la elevada producción es aún tema de discrepancia entre estos autores.

Condición corporal. La COD generalmente se observó con mayor frecuencia en vacas que, al momento del diagnóstico, tenían una CC ≥ 3 (escala 1-5; Bartolomé y col. 2005). También se ha reportado que una sobrecondición corporal o una ganancia de CC preparto constituía un factor de riesgo para el desarrollo de quistes foliculares en el posparto temprano (Gearhart y col. 1990; Laporte y col. 1994; Lopez-Gatius y col. 2002) y ésto podría deberse a un mayor y más prolongado BEN posparto en estas vacas asociado a niveles más elevados de triglicéridos y cuerpos cetónicos circulantes e hígado graso (Rukkwansuk y col.1999).

Estación del año. Algunos autores reportaron una mayor incidencia de COD en invierno asociándolo a la falta de ejercicio y a una ingesta proteica y energética más concentrada (Peter y col. 2004). Por su parte, Nelson y col. (2010) hallaron una mayor presentación de quistes en el otoño y lo atribuyeron a un acortamiento en las horas de luz. Por el contrario, López-Gatius y col. (2002) afirman que la incidencia de COD es mayor en los meses de verano asociada al estrés térmico. Por último, también se reportaron estudios en los que no se halló un patrón estacional en la frecuencia de presentación de COD (Bartlett y col. 1986). En todos los casos, las referencias que se mencionan previamente corresponden a estudios realizados en el hemisferio norte en países con latitudes diferentes a la de Argentina.

Heredabilidad. Se ha propuesto que existiría cierto grado de heredabilidad en los quistes ováricos (Casida y Chapman 1951; Cole y col. 1986; Kirk y col. 1982). En

Suecia, los caracteres reproductivos se han incorporado a la prueba de progenie desde 1970 y algunos desórdenes tales como los quistes ováricos han disminuido marcadamente su incidencia (2-3%) en la población de vacas lecheras (Swedish Agriculture 1978). Es posible que, en razas con predisposición genética a la COD, la selección hacia el incremento de la producción láctea también resulte en un aumento de la incidencia a la COD (Hooijer y col. 2001).

Hipocalcemia, retención de placenta e infecciones uterinas. La falla en la liberación de la placenta luego del parto parece estar, en buena medida, mediada por la falla del sistema inmune para degradar los placentomas al final de la gestación. Se ha descrito que el Ca intracelular juega un rol importante en la función inmunológica (células mononucleares) en vacas lecheras, sugiriendo un posible vínculo entre la hipocalcemia y la función inmune (Kimura y col. 2006; Leblanc 2008). Esta asociación podría, a su vez, explicar la asociación entre la fiebre de la leche y la retención de placenta. Es probable que una performance reproductiva disminuida tuviera lugar sólo si la retención de placenta conlleva al desarrollo de una metritis o endometritis (Leblanc 2008). Algunos investigadores han observado que las infecciones uterinas son comunes en vacas que luego desarrollan COD, que la *Escherichia coli* fue el microorganismo más frecuentemente aislado y que las concentraciones de PGFM (metabolito sanguíneo de la $PgF2\alpha$) y cortisol se hallaban elevadas previamente a la detección de los quistes (Bosu y Peter 1987). Posteriormente, Peter y col. (1989) demostraron que la infusión intrauterina de endotoxinas de *Escherichia coli* en vacas cíclicas causaba elevados niveles de cortisol, suprimía el pico de LH y generaba folículos que no ovulaban y finalmente se tornaban quísticos. Por lo tanto, estos autores postularon que: los microorganismos en el útero producen endotoxinas y que éstas endotoxinas o los productos de sus efectos, ej.

prostaglandinas, estimulan la secreción adrenal de cortisol, la cual, por su parte suprime la liberación preovulatoria de LH resultando en el desarrollo de quistes. Por último, observaron que, en las vacas con infección uterina, el cortisol provocaba una caída de la producción de E_2 por el ovario y esto sería responsable de la ausencia del pico de LH (Peter y col. 1990).

Mastitis. La mastitis clínica causada principalmente por microorganismos Gram negativos (especialmente E. Coli) y las endotoxinas que estos liberan al torrente sanguíneo han sido asociadas con trastornos en la performance reproductivas de vacas lecheras (Moore y col. 1991, Barker y col. 1998, Santos y col. 2004). En todos los casos, se postuló que las endotoxinas producidas ocasionarían un aumento de la PGFM entre otros mediadores de la inflamación. Como se comentó en el punto anterior, niveles aumentados de $PgF2\alpha$ en sangre provoca el aumento de la liberación de cortisol por la glándula adrenal y éste, a su vez, tiene un efecto supresor el pico de LH conduciendo de esa forma a la falla ovulatoria y formación del quiste folicular. Schrick y col. (2005) reportaron que en vacas en lactancia que padecieron mastitis clínica o subclínica, los días al primer servicio y los servicios por concepción se hallaban incrementados. En este caso no se observaron diferencias en el efecto de los diversos patógenos aislados (Gram + o -) sobre la performance reproductiva.

2. Objetivos:

2.1 Hipótesis general.

La COD es una de las enfermedades de origen ovárico más importantes que afecta al ganado lechero, la cual se hallaría relacionada a importantes desbalances metabólicos y hormonales afectando seriamente la performance reproductiva de las vacas con la consecuente pérdida económica que esto implica.

2.2 Objetivo general.

Realizar un relevamiento epidemiológico y clínico que permita analizar las alteraciones endócrinas más importantes en animales con enfermedades reproductivas de origen ovárico, relacionándolas con perfiles metabólicos, producción, alimentación, condiciones de manejo y clima.

2.3 Objetivos específicos.

- Analizar la incidencia de enfermedades reproductivas de origen ovárico en rodeos lecheros bajo diferentes sistemas productivos.
- Obtener datos epidemiológicos que permitan estimar una real incidencia y prevalencia de estas enfermedades en la principal cuenca lechera de Sudamérica.
- Establecer relaciones entre las alteraciones fisiopatológicas observadas y factores predisponentes generales (producción, genética, edad, etc) y específicos (nutrición, estrés, etc).
- Determinar los perfiles de hormonas reproductivas y metabólicas en animales normales y enfermos.

- Correlacionar las variables estudiadas, con la finalidad de lograr disponer de herramientas que permitan la prevención y el diagnóstico precoz de estas enfermedades.
- Realizar inferencias para la posible aplicación de tratamientos específicos o medidas preventivas adecuadas, basados en la interpretación de los resultados obtenidos en el presente trabajo.
- Determinar el impacto económico de los trastornos reproductivos sobre los sistemas productivos.

3. Materiales y Métodos:

3.1 Estudio 1. “*Descripción epidemiológica de la Enfermedad Quística Ovárica en rebaños lecheros de Argentina: factores de riesgos y efectos sobre el desempeño reproductivo de las vacas lecheras*”

Se analizaron las bases de datos de 22 rodeos lecheros de la región centro-este de la provincia de Santa Fe, la principal cuenca lechera de Sudamérica, las que fueron evaluadas a lo largo de un periodo de 3 años (2009-2011). Las vacas (4.945 en total) fueron manejadas en un sistema de pariciones continuas y tenían una dieta basada en pastura de alfalfa, avena o rye grass suplementada en diferentes proporciones (45-60%) con silaje de maíz y alfalfa, grano de maíz, estrusado de soja y heno de acuerdo a la estación del año y nivel de producción. Todas las vacas tuvieron un periodo de secado de al menos 60 días antes del parto. En cada caso, los exámenes ginecológicos por tacto rectal, realizados por los veterinarios de los establecimientos, comenzaron alrededor de 30 días luego del parto y continuaron hasta la confirmación de la preñez con intervalos de dos semanas entre los exámenes. Las vacas seleccionadas para ser examinadas fueron todas aquellas que se encontraban vacías y con más de 30 días posparto (ej. vacas con historia de celo demorado, intervalos interestros irregulares o de no retorno al celo luego del servicio). Las vacas se comenzaron a inseminar luego de transcurrido el periodo de espera voluntario (PEV) de 50 DPP. En unos pocos establecimientos (n= 6), las vacas repetidoras (aquellas que ciclan normalmente, no presentan anormalidades clínicas y no concibieron luego de 3 servicios) representando, en promedio, 10-15% del total de vacas vacías, recibieron servicio natural a corral.

Los datos reproductivos y toda la información complementaria fue registrada mediante un sistema informático de gestión reproductiva en rodeo lechero (SW Agropecuaria[®] – San Carlos, Santa Fe, Argentina). La información epidemiológica

descriptiva en este estudio incluyó: distribución de casos de COD a lo largo de la lactancia, estacionalidad de la presentación de la COD, tasa de incidencia acumulada durante el periodo analizado y tasa de densidad de incidencia en relación al momento de la lactancia en que tuvo lugar el evento. Todas las vacas que parieron durante el período de estudio y tenían >30 DPP (n= 9.156) fueron consideradas dentro de la población en riesgo (Laporte y col. 1994).

Un estudio de casos y controles se llevó a cabo para identificar los posibles factores de riesgo asociados a la enfermedad. Adicionalmente, se evaluaron los efectos de la COD en la performance reproductiva de las vacas.

3.1.1 Estudio de Casos y Controles.

La variable dependiente para este estudio retrospectivo fue la presencia o ausencia de COD. Un “caso” fue definido en este estudio como: todo diagnóstico de COD hecho por un profesional veterinario durante su trabajo normal a campo, basado en la presencia de uno o múltiples estructuras foliculares mayores a 2 cm de diámetro, en ausencia de cuerpo lúteo y tonicidad uterina e interferencia de la ciclicidad normal (Bartolomé y col. 2005; Vanholder y col. 2006). Solamente se consideraron los quistes diagnosticados por primera vez durante la lactancia bajo estudio. Los casos diagnosticados luego de un aborto no fueron tenidos en cuenta para evitar distorsiones en el cálculo del intervalo parto-diagnóstico (IPD). Todas las vacas con quistes fueron tratadas inmediatamente luego del diagnóstico con GnRH y un dispositivo intravaginal de P₄. Siete días luego de la inserción del dispositivo, se procedió al retiro del mismo y se inyectaron 150 µg de D+Cloprostenol (en todos los casos las hormonas utilizadas correspondieron a diferentes marcas comerciales según el profesional actuante). A excepción de este tratamiento específico, las vacas quísticas y controles fueron

manejadas de la misma forma. Las vacas controles de cada establecimiento fueron seleccionadas aleatoriamente, excepto por la fecha de parto, la cual se requirió que fuera similar (menos de 15 días de diferencia) a aquella del 'caso' al que estaba relacionada. La relación caso:control para este estudio fue 1:2 (248:496). El tamaño de la muestra fue calculado basado en los siguientes supuestos: a) prevalencia estimada: 12,9% (Erb y White 1981); b) un odds ratio mínimo de 1,5; c) un nivel de confianza de 95% y una potencia de 80%.

Las variables independientes ofrecidas al modelo en este estudio fueron: edad, parición (primípara o multípara), facilidad de parto, producción de la lactancia previa ajustada a 305 días (PLP305), condición corporal (CC) evaluada al final del PEV (50-65 DPP), enfermedades uterinas (metritis y endometritis clínica) y mastitis clínica ocurridas entre el parto y el diagnóstico del quiste (Tabla 7). Casos de desórdenes metabólicos y pododermatitis no fueron considerados en el análisis debido al escaso número de eventos registrados. La variable CC fue también categorizada (CCcat) en dos grupos basada en la mediana de la frecuencia de su distribución. Todos los datos fueron extraídos del sistema informático de gestión reproductiva de rodeos lecheros.

3.1.2 Evaluación de los efectos de la COD en la performance reproductiva de la vaca.

Considerando al diagnóstico de COD como punto de partida, las vacas fueron divididas en dos grupos: uno que incluyó a todas las vacas que desarrollaron quistes luego del parto, y el otro incluyendo las mismas vacas utilizadas como control en el estudio de casos y controles. Las variables de respuesta estudiadas en este caso fueron: intervalo parto-1^{er} servicio (IPPS) para aquellas vacas que presentaron COD antes de su primer servicio, intervalo parto-concepción (IPC), tasa de preñez acumulada hasta el

final de la lactancia (TPA), tasa de abortos y producción de la lactancia concurrente ajustada a 305 días (PLC305).

Tabla 7. Descripción de las variables independientes incluidas en el estudio de Casos y Controles.

Variable	Descripción
Edad	Meses de edad desde el nacimiento.
Parición	Las vacas fueron categorizadas en 2 grupos: primíparas y multíparas.
Parto	Los parámetros considerados fueron: fecha y facilidad de parto (normal o asistido).
PLP305	Producción total de leche de la lactancia previa ajustada a 305 días. Lactancias con <200 días no fueron consideradas.
CC	Escala 1 a 5 con incrementos de 0,25 puntos (Edmonson y col. 1989), evaluada por única vez luego del PEV.
Enfermedades	Se registraron casos de enfermedades metabólicas, infecciones uterinas, podermatitis y mastitis clínicas

3.1.3 Análisis estadístico.

3.1.3.1 Epidemiología descriptiva:

La tasa de incidencia acumulada fue calculada como el total de casos de COD diagnosticados durante el periodo de estudio, dividido por la población en riesgo. La tasa de densidad de incidencia relativa al periodo de la lactancia en que tuvo lugar el evento fue calculada como la sumatoria de los casos de COD por periodo de lactancia dividida por el número de vacas abiertas meses en riesgo para cada periodo (Dohoo y

col. 2003). Para la evaluación de los efectos de la estacionalidad y la etapa de la lactancia en la incidencia de la COD se realizaron tests de Chi cuadrado.

3.1.3.2 Estudio de Casos y Controles:

Para identificar los factores de riesgo asociados con la incidencia de COD fue conducido un análisis de dos etapas (Dohoo y col. 2003). En la primera etapa, fueron analizadas todas las asociaciones entre la variable dependiente (caso de COD) y cada una de las variables independientes mediante test de Chi cuadrado para variables dicotómicas (CC cat, facilidad de parto, infecciones uterinas y mastitis clínica) o test de Student para muestras independientes para las variables continuas (edad, número de lactancia, CC y PLA305). Las variables con $P < 0,15$ fueron luego consideradas para su posterior análisis dado que no hubiera colinealidad ($r < 0,60$) entre ellas. La colinealidad entre las variables fue evaluada en pares mediante el cálculo de correlaciones de Spearman. En una segunda etapa, las variables asociadas con $P < 0,15$ en el análisis univariado fueron ofrecidas a un análisis de regresión logística. En el modelo final, las variables con $P < 0,05$ fueron consideradas diferentes estadísticamente y retenidas en el modelo.

3.1.3.3 Efectos de la COD en la performance reproductiva de la vaca:

El impacto de la COD en la fertilidad de la vaca fue evaluado considerando los siguientes parámetros: IPPS, IPC, TPA, PLC305 y tasa de aborto. Las variables continuas (IPPS, IPC and PLC305) fueron analizadas mediante un Modelo Lineal Generalizado, mientras que las variables dicotómicas (TPA y tasa de aborto) fueron analizadas a través de una Regresión Logística de Efectos Mixtos (INFOSTAT®; Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). En ambos modelos se consideraron

como efectos fijos al grupo, edad, año del diagnóstico, estación del año en la que ocurrió el parto o que se diagnosticó la COD, CC, número y facilidad de parto; mientras que el rodeo fue asumido como una variable de efecto aleatorio.

3.2 Estudio 2: “Evaluación de indicadores metabólicos y bioquímicos sanguíneos en vacas en lactancia con *Enfermedad Quística Ovárica*.”

3.2.1 Diseño experimental.

Este estudio fue realizado en 5 tambos de la región central de la provincia de SantaFe, Argentina, durante un período de 16 meses (julio de 2010 a noviembre de 2011). Los establecimientos poseían un rango de entre 160 y 890 vacas Holando Argentino en ordeño promedio a lo largo de este periodo y una producción media diaria por animal de entre 21 ± 3 a 27 ± 3 litros. En todos los casos, la alimentación consistió en pastoreo de alfalfa, verdeos de avena o ryegrass, silo de maíz, silo de alfalfa, grano de maíz, subproducto derivado del estrusado de soja (expeller) y heno, en proporciones variables según la época del año y el establecimiento. Únicamente fueron considerados los quistes foliculares diagnosticados por primera vez dentro de esa lactancia, no recolectando muestras de animales reincidentes. Estos fueron definidos como: folículos anovulatorios únicos o múltiples, localizados en uno o ambos ovarios, con un diámetro mayor a 18 mm (mayor al diámetro ovulatorio para la raza), con una persistencia mayor a 6 días, en ausencia de tejido luteal, sin tonicidad uterina y con interrupción de los ciclos estrales normales (Silvia y col. 2002, Bartolomé y col. 2005). Las vacas con COD fueron inicialmente diagnosticadas por los veterinarios de los establecimientos mediante el uso de ultrasonografía de tiempo real (Aloka 500[®], Aloka Ltd., Tokyo, Japón) y reexaminadas 7-10 días posteriores para confirmar el diagnóstico. En cada caso, se muestrearon al menos 1 vaca control por cada vaca quística pertenecientes al mismo

lote dentro del rodeo, que estuvieran clínicamente sanas, no gestantes y con similares días en leche (DEL), producciones diarias de leche al momento del primer diagnóstico y número de partos que su contraparte quística (Opsomer y col. 1999b). De ambos grupos se obtuvieron muestras de sangre de la vena coccígea.

3.2.2 Determinación de indicadores metabólicos y bioquímicos.

Las muestras séricas se enviaron al laboratorio de análisis clínicos (Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral, Argentina) donde fueron centrifugadas y procesadas mediante autoanalizador (WL Metrolab 2300 Plus[®], Rosario, Argentina). Se determinaron concentraciones de: aspartato amino transferasa (AST), gamma-glutamil transaminasa (GGT), fosfatasa alcalina (ALP), proteínas totales (PT), albúmina (ALB), relación albúmina:globulina (RAG), bilirrubina total (BRRTOT), bilirrubina directa (BRRDIR), colesterol (COLEST), glucosa (GLUC), urea (UREM), creatinina (CREAT), calcio (Ca), fósforo (P) y magnesio (Mg) utilizando kits comerciales provistos por el fabricante del equipo de acuerdo a las características detalladas en la Tabla 8. Las concentraciones de β -hidroxibutirato (β -HB) se cuantificaron empleando tiras reactivas Free Style Optium Xceed (Abbott Diabetes Care Ltd., Oxon, Reino Unido).

Por radioinmunoanálisis (RIA) se analizaron 10 muestras de suero seleccionadas aleatoriamente de cada grupo para determinación de niveles séricos de IGF-1, insulina (INS) y GH, siguiendo la técnica descrita por Becú-Villalobos y col. (2007). Para la determinación de IGF-1 la sensibilidad de la prueba fue 60 pg por tubo. Para el caso de GH e insulina la concentración mínima detectable y el coeficiente de variación entre ensayos fue de 0,8 ng/ml y 8% y 0,05 ng/ml y 11% respectivamente.

Tabla 8. Coeficientes de variación y sensibilidad de las mediciones de las variables bioquímicas.

Variable	CV	Sensibilidad
AST	2,85%	1,8 U/L
ALP	3,7%	1,0 U/L
GGT	2,98%	1,0 U/L
PT	0,39%	0,01 g/dl
ALB	3,57%	0,01 g/dl
GLUC	2,4%	0,004 mg/dl
UREM	4,4%	0,3 mg/dl
BRR TOT	4,7%	0,017 mg/dl
BRR	8,5%	0,017 mg/dl
COLEST	2,28%	0,7 mg/dl
CREAT	2,5%	0,009 mg/dl
Ca	1,4%	0,01 mg/dl
P	1,05%	0,11 mg/dl
Mg	2,61%	0,25 mg/dl
β -HB	3,5%	5,0 mmol/L

AST= aspartato amino transferasa; ALP= fosfatasa alcalina; GGT= gama glutamil transaminasa; PT= proteínas totales; ALB= albúmina sérica; GLUC= glucemia; UREM= uremia; BRR TOT= bilirrubina total; BRR= bilirrubina; COLEST= colesterinemia; CREAT= creatinemia; Ca= calcemia; P= fosfatemia; Mg= magnesemia; β -HB= β -hidroxibutirato

3.2.3 Tratamiento de las vacas afectadas con COD.

El tratamiento de las vacas quísticas se realizó al momento de la reconfirmación ecográfica y consistió en la aplicación de un dispositivo intravaginal (DIV) de progesterona de 1 gramo (CronipresDuo[®], Biogénesis Bagó[®], Argentina) durante 7 días. El día de la inserción se inyectaron 21 μ g de acetato de buserelina (GnRH, Gonaxal[®],

Biogénesis Bagó[®], Argentina), el día del retiro del DIV se inyectaron 150 µg de D+Cloprostenol (Enzaprost[®], Biogénesis Bagó[®], Argentina) y 48 hs más tarde se colocaron 8,4 µg de acetato de buserelina. En todos los casos las vacas fueron sometidas a inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) 16 hs. posteriores de la segunda GnRH.

3.2.4 Determinación de parámetros productivos y reproductivos.

De todos los animales bajo estudio, se relevaron datos de: producción en la lactancia anterior a la presentación del quiste ajustada a 305 días (PLant), condición corporal (CC) al momento del diagnóstico (escala 1-5; Edmonson y col. 1989), presentación de patologías preexistentes dentro de la misma lactancia y previo a la formación del quiste (PAT), manifestación o no de celo previo al diagnóstico (CEL), intervalo parto-diagnóstico de COD (IPD), evolución luego del tratamiento y hasta el final de la lactancia (EVOL: preñada o vacía), intervalo parto-concepción (IPC) y producción de la lactancia concurrente en la que fue diagnosticado el quiste ajustada a 305 días (PLcon).

3.2.5 Análisis estadístico.

Para el análisis de todas las variables se utilizó el paquete estadístico SPSS Statistics 11 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Se aplicaron pruebas de una muestra de Kolmogorov-Smirnov para comprobar normalidad y de T-Student o de Mann-Whitney para aquellas variables que presentaran distribución normal o no respectivamente. La CC fue asumida como variable ordinal y analizada con la prueba de Mann-Whitney. CEL y PAT se analizaron mediante Chi-cuadrado de Pearson buscando asociación entre estos parámetros en función de la condición de vaca con y sin diagnóstico de COD.

3.3 Estudio 3: “Metodología para estimar el costo de la preñez demorada para vacas lecheras en lactancia en sistemas de parición continua.”

Para la metodología desarrollada, los Días Abiertos Involuntarios (DAI) fueron definidos como aquellos días que excedieron un IPC óptimo. El IPC óptimo puede ser definido por el usuario de esta metodología de acuerdo al sistema en el que se la vaya a aplicar. Para estimar el costo total de la preñez demorada, los siguientes items fueron considerados en la metodología propuesta: i) pérdida de producción de leche debido a una lactancia involuntariamente extendida (*perdPROD*), ii) pérdida de producción de terneros (*perdTERN*), iii) costos debidos a intervenciones reproductivas adicionales tales como: inseminaciones, exámenes ginecológicos y tratamientos (*intervADIC*), iv) costos de mano de obra adicional (*trabADIC*) y v) costos por descarte de vacas por infertilidad (*perdDESC*). La suma de todos estos items representa la pérdida económica debida a la preñez demorada (*costPREÑDEM*), la cual fue expresada en US\$ por vaca por día, US\$ por vaca por lactancia y kg de leche por lactancia.

La pérdida diaria de leche (*perdPROD*; US\$/vaca/día), debido a una lactancia extendida involuntariamente, fue calculada como la diferencia en producción de leche entre el periodo correspondiente a la lactancia extendida que se considere y el promedio de producción diaria de toda la lactancia (el usuario debe definir una duración de la lactancia que considere óptima), multiplicado por el precio de la leche (*Precioleche*; Ecuación 1). Por lo tanto, este item expresa la pérdida económica debido a la producción reducida de leche a medida que la lactancia se prolonga.

Ecuación 1

$$perdPROD = (Prodprom - Prodpromperiod) \times Precioleche$$

Donde *Prodprom* es el promedio de producción de leche de toda la lactancia (litros/vaca/día), en este caso la duración de la lactancia es definida por el usuario; y la *Prodpromperiod* es el promedio de producción de leche del periodo correspondiente a la lactancia involuntariamente extendida considerado (litros/vaca/día).

El costo asociado con la reducción en el número de terneros producidos, causado por un intervalo parto-parto extendido, es calculado como la razón entre el precio del ternero (valor promedio de mercado entre el precio del macho y la hembra) dividido por el intervalo parto-parto deseado (*IPPD*; Ecuación 2). Este último es una consecuencia del *IPC* óptimo mencionado arriba. El *perdTERN* expresa las pérdidas económicas debido a la menor producción de terneros a medida que la lactancia se extiende.

Ecuación 2

$$perdTERN = \frac{precioTERN}{IPPD}$$

A medida que la lactancia se prolonga debido a un *IPP* mayor, hay un aumento en los costos debido a intervenciones reproductivas adicionales (*intervADIC*) tales como inseminaciones (*costIA*), exámenes veterinarios (*costVET*) y tratamientos médicos (*tratMED*). Estos costos son computados calculando el costo de cada uno de estos eventos por la frecuencia (días) de cada evento (*FRECdías*; Ecuación 3).

Ecuación 3

$$intervADIC = \frac{costIA}{FRECdías} + \frac{costVET}{FRECdías} + \frac{tratMED}{FRECdías}$$

Un costo por mano de obra extra (*trabADIC*) para la realización de las actividades detalladas en el párrafo anterior fue también considerado. Este costo fue calculado teniendo en cuenta el costo del evento (*costTRAB*) dividido por la frecuencia (días) de cada evento (Ecuación 4).

Ecuación 4

$$trabADIC = \frac{costTRAB}{FRECdías}$$

Bajo un manejo reproductivo intensivo, los rodeos con un IPC más prolongado acaban teniendo mayores descartes por infertilidad. En el presente estudio, el costo de reemplazo de una vaca debido a infertilidad (*perdDESC*) es calculado como el producto entre la tasa de descarte por infertilidad promedio del rodeo (*tasaDESC*) y el costo de reemplazar una vaca (diferencia del valor promedio de una vaquilla de reemplazo y una vaca de descarte; *perdDESC*) dividido por DAI (Ecuación 5). La tasa de descarte por infertilidad puede ser obtenida de datos empíricos.

Ecuación 5

$$perDESC = \frac{tasaDESC \times perDESC}{DAI}$$

El costo de la preñez demorada (*costPREÑDEM*) expresado como el valor económico de cada DAI puede ser calculado sumando todos los costos descriptos anteriormente (Ecuación 6):

Ecuación 6

$$costPREÑDEM = perdPROD + perdTERN + intervADIC + trabADIC + perdDESC$$

A continuación se describe un ejemplo de la aplicación de esta metodología en sistemas lecheros típicos de Argentina para demostrar el uso práctico de la misma. El costo del DAI fue calculado para cuatro intervalos de 30 días cada uno, comenzando a partir de 120 DPP, lo cual fue considerado en este ejemplo como un IPC óptimo. Para estimar *perdPROD*, lactancias de 340, 370, 400, 430 y 460 días fueron simuladas utilizando el modelo animal e-Cow (Baudracco y col. 2012) para una vaca Holando Argentino de 580 kg de peso vivo, a la que se le ofrece 6 kg de materia seca (MS) de concentrados día⁻¹, 4 kg de MS día⁻¹ de silo de maíz y 15 kg de MS día⁻¹ de pastura (ofrecida en pastoreo voluntario). La curva de lactancia estimada para el ejemplo fue obtenida mediante la utilización del modelo e-Cow. Este modelo predice la producción de leche por vaca por día, basado en el mérito genético y los alimentos ofrecidos. También predice la performance de la vaca durante toda la lactancia y los principales resultados generados son el consumo de MS y la producción diaria de leche.

Un periodo de 60-días de secado fue considerado independientemente de la duración de la lactancia para todas las vacas.

La *perdPROD* fue calculada para los intervalos que van de los 0-30, 31-60, 61-90 y 91-120 DAI respectivamente. Esto implica que, por ejemplo, el periodo de DAI comprendido entre 0 y 30 corresponde a 340-370 días en leche. La pérdida de producción diaria de leche, debido a la extensión involuntaria de la lactancia, fue calculada con la Ecuación 1. Por ejemplo, con una producción de leche promedio de 22,1 kg vaca día⁻¹ (para una lactancia no extendida), y una producción de leche promedio de 16,8 kg vaca día⁻¹ en el periodo que va de 340-370 días, la pérdida en

producción de leche para este periodo sería de 5,3 kg vaca día⁻¹ y costaría US\$ 1,8 vaca día⁻¹ (5,3 kg × 0,34 US\$ kg⁻¹).

La tasaDESC fue estimada utilizando datos empíricos. Los mismos se extrajeron de una base de datos conteniendo información de 22 tambos de la región y 4.945 vacas en ordeño. Los tambos de la base de datos fueron estratificados de acuerdo al IPC promedio del rodeo en cada caso (120-150 d., 151-180 d., 181-210 d. y 211-240 d.). La tasa de descarte de vacas por infertilidad fue de: 8%, 13%, 15% y 21% para los intervalos 1-30, 31-60, 61-90 y 91-120 de DAI respectivamente.

Otros supuestos utilizados en el ejemplo son mencionados a continuación:

-IPC óptimo: 120 días.

-Precio de la leche: US\$ 0,34 kg⁻¹; producción de una lactancia de 305 días = 7.500 kg.

-Intervalo parto-parto deseado: 402 días.

-Precio del ternero: US\$ 137 (promedio macho/hembra).

-Costo de la IA: US\$ 9,9 cada 21 días; exámen ginecológico: US\$ 1,9 cada 40 días; tratamiento médico: US\$ 6,2 cada 40 días.

-Una carga de mano de obra extra de 30 minutos por vaca mes⁻¹ fue considerada. Costo de la mano de obra: US\$ 3,7 hora⁻¹.

-Precio de la vaca de descarte: US\$ 342.

-Precio de la vaquillona de reemplazo: US\$ 1.615.

4. Resultados:

4.1 Estudio 1: “*Descripción epidemiológica de la Enfermedad Quística Ovárica en rebaños lecheros de Argentina: factores de riesgos y efectos sobre el desempeño reproductivo de las vacas lecheras*”

4.1.1 Epidemiología descriptiva.

El rango de vacas en lactancia de los rodeos incluidos en el estudio fue de 75 a 494 animales, en su mayoría Holando Argentino. La producción media ajustada a 305 días de la población total bajo estudio fue de 7.817 ± 1.805 kg. Las vacas promediaron $3,0 \pm 1,7$ lactancias. La tasa de incidencia acumulada de COD durante el periodo de estudio fue de 2,7% (248 casos sobre 9.156 vacas en riesgo) y el intervalo parto-diagnóstico promedio fue de 158 ± 115 días. Vacas abiertas con <100 DPP presentaron una tasa de incidencia de COD menor que aquellas que se hallaban en etapas más tardías de la lactancia ($P < 0,05$; Tabla 9). Los casos de COD fueron más frecuentemente diagnosticados durante el invierno y la primavera ($P < 0,05$; Tabla 10). Más aún, la incidencia fue mayor en vacas que parieron durante el otoño e invierno ($P < 0,05$; Tabla 11).

Tabla 9. Tasa de densidad de incidencia de COD a lo largo de la lactancia. Un total de 248 casos fueron diagnosticados.

	<100 DPP	101-150 DPP	151-200 DPP	>200 DPP
Vacas quísticas	97	47	25	79
Vacas abiertas-meses en riesgo	27.775	8.126	5.648	17.476
Tasa de incidencia	0,35% ^b	0,58% ^a	0,44% ^{ab}	0,45% ^{ab}

DPP= días post-parto. Valores con diferentes superíndices difieren significativamente ($P < 0,05$).

Tabla 10. Tasa de densidad de incidencia estacional de COD (n=248).

Estación del año	Vacas-estación en riesgo	Vacas quísticas	Densidad de incidencia
Verano ¹	4.662	40	0,86% ^a
Otoño ²	5.001	56	1,12% ^a
Invierno ³	4.491	78	1,73% ^b
Primavera ⁴	3.942	74	1,88% ^b

Valores con diferentes superíndices difieren significativamente (P<0,05).

¹Enero, Febrero, Marzo; ²Abril, Mayo, Junio; ³Julio, Agosto, Septiembre; ⁴Octubre, Noviembre, Diciembre.

Tabla 11. Tasa de incidencia acumulada de COD relativa a la estación del año en que tuvo lugar el parto (n= 248).

Estación del año	Partos (n)	Vacas quísticas (n)	Tasa de incidencia
Verano ¹	2.639	59	2,24% ^a
Otoño ²	2.741	78	2,85% ^{ab}
Invierno ³	2.211	78	3,53% ^b
Primavera ⁴	1.565	20	1,28% ^c

Valores con diferentes superíndices difieren significativamente (P<0,05).

¹Enero, Febrero, Marzo; ²Abril, Mayo, Junio; ³Julio, Agosto, Septiembre; ⁴Octubre, Noviembre, Diciembre.

4.1.2 Estudio de Casos y Controles.

Las Tablas 12 y 13 resumen los resultados comparativos del análisis univariado para las variables continuas y dicotómicas respectivamente. No se hallaron asociaciones entre edad (P = 0,484), PLP305 (P = 0,613), número de partos de las vacas (P = 0,416), CC (P = 0,601), facilidad de parto (P = 0,166) o infección uterina (P = 0,366) y COD. Contrariamente, CCcat (P = 0,148) y mastitis clínica (P = 0,041) estuvieron asociadas a COD y fueron sometidas a un Modelo de Regresión Logística (Tabla 14). Los resultados del análisis mostraron que CCcat no estuvo asociada a la COD (P = 0,267).

Tabla 12. Resultados del análisis de las variables continuas para vacas controles (n= 496) y quísticas (n= 248).

Variable	Grupo	Media	DS	Valor-P*
Edad (meses)	Control	66,2	25,4	0,484
	Caso	64,8	24,9	
PLP305 (kg)	Control	7.710	1.556	0,613
	Caso	7.633	1.441	
N° Lactancias	Control	3,1	1,7	0,416
	Caso	3,0	1,7	
CC	Control	2,76	0,4	0,601
	Caso	2,79	0,5	

*Significancia= P<0,15.

Tabla 13. Distribución de frecuencias de las variables dicotómicas para vacas controles (n= 496) y quísticas (n= 248).

Variable		Grupo		Total	Valor-P*
		Control	COD (%)		
Facilidad de parto	Normal	413	205 (33)	618	0,166
	Asistido	83	30 (27)	113	
CC cat	<2,75	123	57 (32)	180	0,148
	≥2,75	76	50 (40)	126	
Infecciones uterinas	No	432	210 (33)	642	0,366
	Si	64	38 (37)	102	
Mastitis Clínica	No	480	232 (33)	712	0,041
	Si	16	16 (50)	32	

*Significancia= P<0,15.

En contraste, las vacas que tuvieron un evento previo de mastitis clínica evidenciaron un mayor riesgo (odds ratio= 2,7; CI 95% 1,07-8,08) de padecer COD que las vacas sin mastitis clínicas (P = 0,037).

Tabla 14. Odds ratios para las variables incluida en el modelo de regresión logística final para la enfermedad quística ovárica.

Variable	β	OR	95% CI	Valor-P*
CC cat	0,278	1,32	0,808-2,156	0,267
Mastitis clínica	0,999	2,72	1,073-8,078	0,037

*Significancia= P<0,05.

4.1.3 Efectos de la COD en la performance reproductiva y productiva de las vacas.

El IPPS no difirió entre los grupos estudiados, sin embargo, las vacas quísticas tendieron a presentar un intervalo más prolongado que las controles (108 ± 63 y 81 ± 43 días respectivamente; P= 0,056). De la misma forma, el IPC fue más largo en vacas que previamente presentaron COD que en las controles (219 ± 122 vs. 148 ± 91 días respectivamente; P<0,001). La tasa de preñez acumulada en las vacas quísticas y controles fue de 67% (166/248) y 89% (442/496) al final de la lactancia respectivamente (P<0,001), presentando las vacas controles 4,04 veces más posibilidades de concebir que las quísticas. La COD no afectó la producción de leche de la lactancia concurrente (P= 0,721) y los quistes no estuvieron asociados a un mayor riesgo de abortos en aquellas vacas que concibieron luego de padecido el evento (P= 0,5).

4.2 Estudio 2: “Evaluación de indicadores metabólicos y bioquímicos sanguíneos en vacas en lactancia con Enfermedad Quística Ovárica.”

Durante el periodo de estudio fueron diagnosticadas 80 vacas con COD. La edad promedio de las vacas con COD fue de 69 ± 25 meses en tanto que las vacas controles ($n= 124$) tenían una media de 63 ± 21 meses de edad ($P= 0,06$). Las primeras promediaban $2,8 \pm 1,5$ lactancias mientras que en las segundas el número medio de lactancias fue de $2,6 \pm 1,3$ ($P= 0,22$). La producción promedio de leche al momento del diagnóstico del quiste fue de $29,0 \pm 7,7$ y $29,4 \pm 7,4$ litros/día para las vacas quísticas y controles, respectivamente ($P= 0,69$). La producción de leche en la lactancia anterior fue de 7965 ± 1760 y 7647 ± 1998 litros para ambos grupos, respectivamente ($P= 0,31$). La CC promedio del grupo COD y control al momento de la reconfirmación ultrasonográfica fue $2,73 \pm 0,36$ y $2,69 \pm 0,39$, respectivamente ($P= 0,43$). No se hallaron diferencias significativas entre los grupos en la presentación de celo y de patologías previas al diagnóstico ($P= 0,72$ y $P= 0,14$, respectivamente). En el caso del grupo COD, el IPD promedio fue de 150 ± 98 días presentando una distribución bimodal (Figura 12), con un primer pico entre los 40 y 80 días y un segundo pico más bajo entre los 180 y 250 días.

El porcentaje de preñez acumulada al final de la lactancia bajo estudio fue de $60,2\%$ ($47/78$) y $62,8\%$ ($76/121$) para las vacas con COD y control, respectivamente, sin diferencias significativas entre los grupos ($P= 0,37$). Cabe aclarar que 2 vacas del grupo COD y 3 del grupo control murieron durante el periodo de estudio y no pudieron ser contabilizadas para evaluar la evolución. Por su parte, el IPC fue de 229 ± 131 y 187 ± 102 días ($P= 0,055$) para las vacas con diagnóstico de COD y controles, respectivamente, y la PLcon fue de 8204 ± 1861 y 8328 ± 1635 litros ($P= 0,67$).

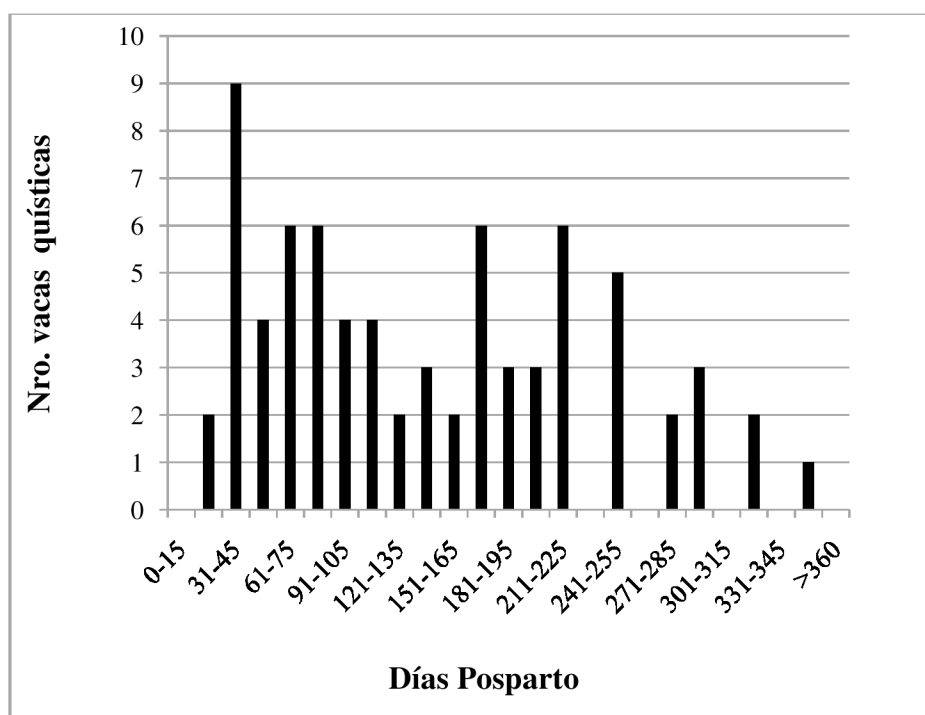


Figura 12. Distribución de las vacas con COD respecto del intervalo parto-diagnóstico (n=80).

Respecto a los valores de los metabolitos evaluados se observó que las vacas con COD presentaron concentraciones séricas más bajas de IGF-1 e insulina que las controles ($P < 0,05$). Todas las demás variables sanguíneas estudiadas mostraron valores similares para ambos grupos de animales ($P > 0,05$; Tabla 15).

Tabla 15. Perfiles metabólicos y bioquímicos séricos para vacas controles (n=124) y quísticas (n= 80).

	CONTROL	COD	
	Media ±DE	Media ± DE	Valor-P*
GH (ng/ml)	2,72 ± 1,10	2,84 ± 1,34	0,557
IGF-1 (ng/ml)	206,4 ± 41,3	129,5 ± 50,8	0,006
Insulina (ng/ml)	0,45 ± 0,12	0,17 ± 0,08	<0,001
AST (U/L)	83,9 ± 24,5	84,5 ± 26,9	0,897
GGT (U/L)	29,0 ± 11,0	29,2 ± 6,4	0,365
ALP (U/L)	146,7 ± 80,4	139,3 ± 88,0	0,480
Proteínas totales (g/dl)	7,53 ± 0,6	7,58 ± 0,61	0,637
Albúmina (g/dl)	2,92 ± 0,46	2,84 ± 0,48	0,342
RAG	0,65 ± 0,17	0,62 ± 0,16	0,199
Bilirrubina Total (mg/dl)	0,17 ± 0,06	0,17 ± 0,08	0,894
Bilirrubina Directa (mg/dl)	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,03	0,826
β-Hidroxibutirato (mmol/l)	0,40 ± 0,23	0,43 ± 0,35	0,570
Colesterol (mg/dl)	180,1 ± 46,2	171,8 ± 54,4	0,346
Glucosa (mg/dl)	59,1 ± 15,0	58,3 ± 12,5	0,738
Urea (mg/dl)	36,0 ± 8,8	36,7 ± 9,7	0,668
Creatinina (mg/dl)	0,74 ± 0,15	0,72 ± 0,15	0,339
Calcio (mg/dl)	8,76 ± 1,27	8,66 ± 1,33	0,653
Fosfato inorgánico (mg/dl)	5,10 ± 0,94	4,68 ± 1,16	0,063
Magnesio (mg/dl)	2,49 ± 0,45	2,45 ± 0,47	0,667

*Significancia= P<0,05

4.3 Estudio 3: “Metodología para estimar el costo de la preñez demorada para vacas en lactancia en sistemas de parición continua.”

En el ejemplo presentado en este trabajo, los costos por descarte por infertilidad fueron el factor más determinante del valor del DAI en los dos primeros periodos considerados en el análisis (Tabla 16), mientras que las pérdidas en producción de leche constituyeron el principal componente del valor del DAI en el tercer y cuarto intervalo.

Tabla 16. Componentes del costo del ‘día abierto involuntario’ (DAI). La sumatoria de los costos fue expresada como US\$/ vaca/ día para cada periodo y US\$/vaca/lactancia.

Intervalo DAI*	Días abiertos involuntarios (por encima de 120 días de IPC)			
	1-30	31-60	61-90	90-120
Pérdida de producción de leche ¹	1,78	2,27	2,79	3,30
Pérdida en producción de terneros ²	0,34	0,34	0,34	0,34
I.A., exámenes ginecológicos y tratamientos extras ³	0,54	0,54	0,54	0,54
Costo de mano de obra ⁴	0,06	0,06	0,06	0,06
Costo por rechazo por infertilidad ⁵	3,40	2,76	2,05	2,18
Costo Total/DAI***	6,11	5,97	5,77	6,41
Costo Total/Lactancia	183	358	520	770
Costo Kg leche/ Lact.	539	1.053	1.529	2.264

*Días abiertos involuntarios. **Inseminación artificial. ***Costo Total surge de la siguiente ecuación: Costo Total/Lactancia = (1+2+3+4+5)*DAI = ((promedio producción de leche en 340 d – promedio diario de producción de leche por intervalo DAI)* US\$/kg leche) + ((precio promedio de ternero/ternera)/402) + ((costo I.A./frecuencia) + (costo examen veterinario/frecuencia) + (costo tratamiento/ frecuencia) + (costo mano de obra/frecuencia)) + (tasa de descarte por infertilidad * (precio de vaquillona de reemplazo – precio vaca descarte)/ DAI))*DAI.

La curva de lactancia estimada con el e-Cow model (Figura 13), para el ejemplo de este estudio con vacas en pastoreo, tuvo una producción promedio diaria de leche de 22,1 kg para los 340 días, con una producción promedio diaria de 16,8, 15,4, 13,9 y 12,3 kg para los intervalos de 340-370, 371-400, 401-430 y 431-460 días en leche respectivamente.

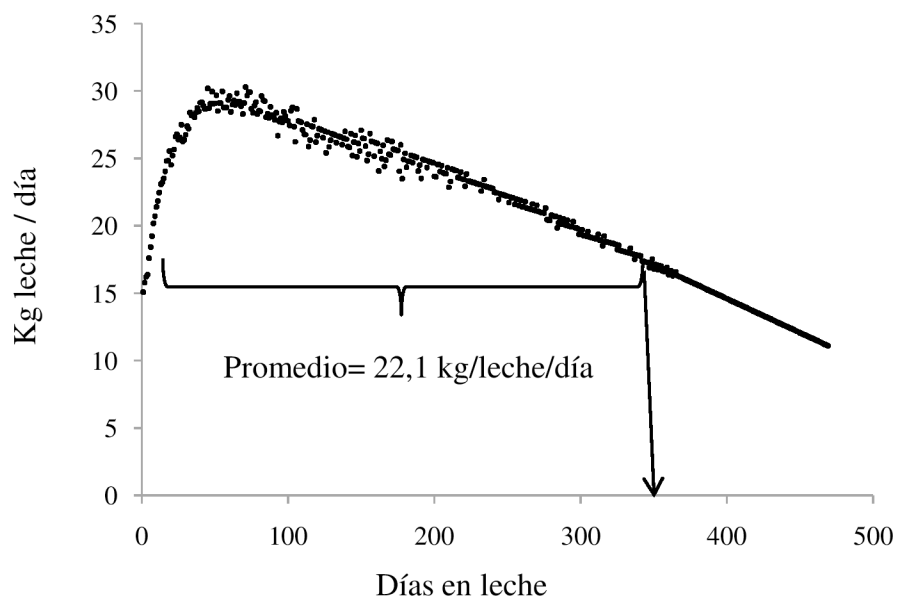


Figura 13. Curva estimada para una lactancia de 7.500 kg de leche en 340 días utilizando el e-Cow animal model (Baudracco y col. 2012).

5. Discusión:

5.1 Estudio 1: “*Descripción epidemiológica de la Enfermedad Quística Ovárica en rebaños lecheros de Argentina: factores de riesgos y efectos sobre el desempeño reproductivo de las vacas lecheras.*”

Durante el periodo de tres años analizados en este estudio (2009-2011), fueron registrados 248 casos de COD en una población de 4.945 vacas en lactancia distribuidas en 22 rodeos. La incidencia acumulada para este periodo de tiempo (2,7%) fue menor a la reportada por otros autores (Bartlett y col.1986; Laporte y col. 1994; Garverick 1997; Silvia y col. 2002; Vanholder y col. 2006; Probo y col. 2011). Como esta enfermedad ha sido asociada en muchas oportunidades a vacas de alta producción bajo sistemas de manejo muy intensivos (Laporte y col. 1994; Opsomer y col. 1999b; Vanholder y col. 2006), podría suponerse que vacas de menor producción en sistemas de base pastoril como los descritos en este estudio presentarían una incidencia menor. Otra razón que podría explicar esta menor incidencia se encontraría en el criterio diagnóstico utilizado en el presente trabajo. Los primeros reportes sobre este tema consideraban quiste a toda estructura folicular ovárica con un tamaño igual o mayor a 2,5 cm de diámetro detectado mediante palpación rectal (Bierschwal y col. 1975; Kesler y Garverick 1982). Con la implementación del ultrasonido como herramienta diagnóstica, ha sido posible confirmar casos de COD en estructuras foliculares con un diámetro apenas por encima del tamaño ovulatorio (Bartolomé y col. 2005; Vanholder y col. 2006). La palpación rectal por sí sola, podría no ser suficientemente sensible para detectar esas pequeñas diferencias de tamaño, por lo que se asume que un cierto número de casos pudieron no haber sido diagnosticados. De todas maneras, la valoración del tono uterino conjuntamente con la evaluación de la historia reproductiva del animal en cuestión resultó de esencial importancia para minimizar estas limitaciones (Hanzen y col. 2000).

Respecto de la tasa de incidencia en los diferentes etapas de la lactancia, se observó una menor incidencia durante los primeros 100 DPP que en etapas más tardías. Esto parece estar en desacuerdo con los resultados reportados por otros investigadores, quienes sostienen que la mayoría de los quistes ocurren durante el primer tercio de la lactancia (Whitmore y col. 1974; Laporte y col. 1994; Hooijer y col. 2003; Vanholder y col. 2006). Consideramos que esto podría ser cierto en términos absolutos, lo que los citados autores omitieron mencionar en sus estudios es que durante esta etapa la gran mayoría de las vacas se encuentran abiertas por lo que la población 'en riesgo' de padecer COD es también mucho más grande. Por lo tanto, el número de vacas quísticas relativo a la población en riesgo (tasa de densidad de incidencia) durante la lactancia temprana podría no ser tan elevado como pareciera, comparada con las etapas posteriores de la misma. Aún a pesar de ello, como se mencionó anteriormente, varios de estos autores también han hallado que la COD estaba relacionada a vacas de alta producción. Considerando que la producción de leche logra su pico máximo dentro de los primeros 60 DPP, se podría esperar que estas vacas tuvieran una mayor incidencia de COD durante este periodo. Vanholder y col. (2006) sugirieron que un balance energético negativo (BEN) más profundo y/o más prolongado podría explicar esta asociación. En el presente estudio no pudo demostrarse tal correlación entre la producción de leche y la COD. Estos resultados nos permiten concluir que, bajo las condiciones aquí descritas, el BEN podría no estar totalmente asociado a la formación de quistes. Diferencias entre biotipos de vacas y/o sistemas de manejo entre este y otros estudios podrían explicar esta controversia.

La incidencia en la presentación de COD estuvo fuertemente influenciada por la estación del año. Fueron diagnosticados significativamente más casos en invierno y primavera. En forma similar, Roberts (1955) y Peter (2004) reportaron que más casos de

quistes fueron detectados durante los meses de invierno y que esto coincidía con que en esta época las vacas eran alimentadas con dietas más ricas en proteínas y energía (Dawson 1957; Peter 2004). En contraste, Bartlett y col. (1986) no encontraron efectos estacionales sobre la incidencia de quistes.

Respecto de la influencia de la estación de partos sobre la COD, Lopez-Gatius y col. (2002) reportaron una incidencia mayor de casos asociada con los partos de verano y concluyeron que el estrés por calor podría ser el principal responsable de tal efecto. Por el contrario, Nelson y col. (2010) en un estudio realizado en Noruega encontraron que las vacas que parían en otoño eran más susceptibles a la COD. Estos autores sugirieron que la disminución de las horas-luz tendría un rol importante en la incidencia de quistes. Los resultados de este estudio demostraron que la COD se hallaba más asociada a los partos ocurridos tanto en otoño como en invierno. En este caso, esto coincide con la época de mayor producción láctea e ingestión de dietas más ricas en granos y concentrados. En los sistemas de producción aquí descritos, todo esto está asociado a temperaturas ambientales más favorables para las vacas y mejoras en el pago de la leche por la industria. La mayor oferta nutricional y producción de leche derivaría en un incremento del flujo sanguíneo y metabolismo hepático y una tasa de eliminación más acelerada de las hormonas esteroides por el hígado lo que podría traer aparejado la caída de la P_4 sanguínea a niveles subluteales. Como se explicó detalladamente en la sección 1.6.3, estos niveles subluteales de P_4 alterarían la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH provocando anovulación y la formación de quistes foliculares.

La producción de la lactancia previa a la de la presentación de la enfermedad no demostró que influenciara la incidencia de COD. Esto es consistente con los resultados reportados por Bartlett y col. (1986) y Nanda y col. (1989), quienes no encontraron asociación entre la producción de la lactancia precedente y la formación de quistes. Las

vacas que tuvieron parto asistido y/o infecciones uterinas entre el parto y el diagnóstico de quiste tampoco mostraron una incidencia mayor de COD. En este sentido, López-Gatius y col. (2002) hallaron que las vacas que presentaban puerperio anormal (incluyendo las variables mencionadas previamente) tuvieron casi el doble de chances de desarrollar quistes ováricos tempranos (<49 DPP) pero no tardíos (>57 DPP). Estos últimos podrían ser el caso del presente estudio, donde la mayor proporción de los quistes fue diagnosticada posteriormente a los 60 DPP. En otro estudio, Mohammed y col. (1991) no hallaron asociaciones entre metritis y COD.

La condición corporal (CC) es considerada una estimación (proxy-parameter) del BEN (Hooijer y col. 2003) y, como tal, varios estudios han intentado correlacionarla con la ocurrencia de quistes ováricos con resultados controvertidos (Waltner y col. 1993; Laporte y col. 1994; Beam y Buttler 1998 y 1999; López-Gatius y col. 2002). En este estudio, la evaluación de la CC, la cual se limitó a una única estimación luego que las vacas superaban el PEV, no mostró relación con la incidencia de COD. A pesar de los resultados que surgen de este trabajo, no pretendemos desestimar la hipótesis de que la COD podría estar asociada con un balance energético negativo. En este sentido, es preciso mencionar que las vacas evaluadas en este estudio presentaban, en general, bajos valores de CC (>60% de los animales presentaban una CC <2.75). Por lo tanto, esta falta de variabilidad en la CC entre los animales de ambos grupos estaría indicando que habría otros factores relacionados con la presentación de la enfermedad.

En relación a la mastitis clínica, los resultados de la presente investigación mostraron que las vacas que tuvieron un diagnóstico previo de mastitis tuvieron 2,7 veces más posibilidades de desarrollar COD posteriormente. Esto concuerda con lo reportado por otros investigadores, quienes reportaron una performance reproductiva disminuida en animales que previamente habían presentado un evento de mastitis

clínica o subclínica (Moore y col. 1991; Barker y col. 1998; Schrick y col. 2001; Santos y col. 2004; Gómez-Cifuentes y col. 2010). Peter y col. (1989) demostraron que la infusión intrauterina de endotoxinas en vaquillonas cíclicas aumentaban los niveles de cortisol, suprimían el pico de LH y generaban folículos anovulatorios que finalmente se tornaban quísticos. Nuestros resultados de campo refuerzan los hallazgos de Peter y col. (1989), si bien no estamos aún en condiciones de afirmar que exista una relación de causalidad entre ambas variables.

Como podía preverse, los parámetros de desempeño reproductivo del grupo COD estuvieron marcadamente comprometidos y claramente afectarían la eficiencia de los sistemas productivos donde se encuentren. Si bien el IPPS no fue significativamente diferente entre los grupos, las vacas quísticas tendieron a requerir más días para alcanzar su primer servicio luego del parto comparadas con las controles. Por el contrario, las vacas con COD tuvieron un IPC significativamente más prolongado, aún cuando estas habían sido tratadas oportunamente luego del diagnóstico, en concordancia con resultados publicados previamente (Bartlett y col. 1986; Laporte y col. 1994; Hooijer y col. 2001; Silvia y col. 2002). Más aún, las vacas afectadas por la enfermedad tuvieron 4,04 menos chances de preñarse hacia el final de la lactancia que los animales sanos. Opuestamente, las vacas quísticas no demostraron tener mayor riesgo de aborto una vez que el quiste había desaparecido y quedaron preñadas. Tampoco se observó ningún efecto de la enfermedad sobre la producción de la lactancia concurrente.

5.2 Estudio 2: “Evaluación de indicadores metabólicos y bioquímicos sanguíneos en vacas en lactancia con *Enfermedad Quística Ovárica*.”

5.2.1 Parámetros reproductivos y productivos.

Como se mencionó en la metodología, en el diseño del presente estudio se bloquearon la mayor cantidad posible de variables como ser: fecha de parto, número de lactancias y producción diaria al momento del muestreo de las vacas quísticas y sus respectivos controles, por lo que era esperable que no se hallaran diferencias significativas entre los grupos estudiados en estos parámetros. La asociación entre la elevada producción de leche y la incidencia de quistes ováricos es controversial y diversos autores afirman que la frecuencia de presentación de quistes es mayor en vacas con elevada producción de leche (Garverick 1997, Peter y col. 2004, Vanholder y col. 2006). En nuestro estudio, tanto la PLant como la PLcon en las vacas quísticas no fueron diferentes de las controles. Similares resultados fueron reportados por Nanda y col. (1989) que, si bien no describen el tipo de sistema productivo de los tambos incluidos en su trabajo, las producciones por lactancia de las vacas eran similares a las del presente estudio.

La manifestación o no de celo previo al diagnóstico del quiste fue similar entre los grupos COD y control. Esto pudo deberse a que en este estudio se diagnosticaron quistes en vacas a lo largo de toda la lactancia y no sólo en el periodo posparto inmediato, por lo que una proporción de estos animales se hallaba ciclando normalmente antes de la presentación de la enfermedad.

El IPD mostró una distribución bimodal, análogo a lo observado por Bartlett y col. (1986). El primer pico de la distribución tendría relación con la mayor frecuencia diagnóstica de esta enfermedad en el primer tercio de lactancia, cuando tiene lugar el pico de producción de leche y los animales se hallan propensos a importantes

desbalances hormonales y metabólicos (Beam y Butler 1997, Zulu y col. 2002, Vanholder y col. 2005). El segundo pico se explicaría como un hallazgo posterior a sucesivos exámenes ginecológicos en vacas que permanecieron no gestantes en este periodo tardío de la lactancia (Bartlett y col. 1986). El diagnóstico de estos casos probablemente haya sido omitido en aquellos trabajos que se enfocaron al estudio del periodo posparto inmediato. En este sentido, Hoiijer y col. (2003) reportaron que cierta proporción de los diagnósticos de COD ocurrieron a los 100 o más días posparto arribando a la conclusión de que el balance energético negativo por sí mismo no bastaría para explicar la ocurrencia de quistes en vacas en lactancia.

Respecto a los parámetros reproductivos evaluados subsecuentemente al diagnóstico de COD, se observó que la tasa de preñez acumulada al final de la lactancia fue similar en ambos grupos. Esto pudo deberse al efecto benéfico del tratamiento instaurado inmediatamente luego de la reconfirmación del diagnóstico. Sin embargo, el tratamiento oportuno no impidió que las vacas quísticas mostraran una marcada tendencia a concebir más tarde que los animales controles. Es preciso destacar que para la selección de las vacas controles de nuestro estudio se estableció que las mismas estuviesen vacías al momento del muestreo por lo que, seguramente, esta diferencia en IPC entre vacas quísticas y no quísticas hubiera sido aún mayor de no haberse aplicado ese criterio en la selección de estas últimas. Los resultados de la evaluación de los parámetros reproductivos obtenidos en este estudio reafirman la condición de infertilidad temporaria de las vacas que padecen COD, recuperando la capacidad de concebir una vez restablecido el mecanismo normal que conduce a la ovulación (Vanholder y col. 2006).

5.2.2 Parámetros bioquímicos.

La similitud en las concentraciones sanguíneas de los metabolitos estudiados ($P < 0,05$) estaría indicando que no habría diferencias en los metabolismos energético, proteico, mineral y hepático entre las vacas con COD y las controles. Johnson (2004) tampoco observó diferencias en los valores séricos de Mg, Ca, AST y GGT en vacas Holando con quistes foliculares espontáneos y controles. Sin embargo, en el mencionado estudio se hallaron valores más elevados de albúmina, proteínas totales, colesterol, creatinina y urea en las vacas quísticas en comparación con las controles. Probablemente, estas diferencias con el estudio de Johnson (2004) pudieron estar dadas por el modo de seleccionar los animales controles que en nuestro caso fueron sometidos a un bloqueo más estricto, pues se procuró que los animales sólo se diferenciaron por la presencia o ausencia de COD.

5.2.3 Hormonas metabólicas.

Los valores de GH sérica no difirieron entre las vacas sanas y enfermas, sin embargo, se hallaron concentraciones de IGF-1 e insulina significativamente más bajas en vacas con quistes comparadas con las controles. Ortega y col. (2008) reportaron similares valores de IGF-1 en suero de vacas quísticas colectados en matadero respecto de las controles. Sin embargo, observaron que en líquido folicular de vacas con COD las concentraciones de IGF-1 fueron significativamente menores que en animales controles. No obstante, cuando se correlacionaron las concentraciones medidas en suero y líquido folicular, solamente las de vacas controles lo hicieron en forma significativa ($r = 0,94$; $P < 0,01$) no siendo así en las vacas quísticas ($r = 0,503$; $P = 0,204$). Por su parte, Vanholder y col. (2005) y Zulu y col. (2002), observaron que los valores séricos de insulina e IGF-1 en vacas quísticas eran significativamente menores a los de vacas

controles en las semanas previas a la formación del quiste pero, en el caso de la IGF-1, esa relación se invertía una vez instalada la enfermedad. Probo y col. (2011) determinaron mayores niveles séricos de IGF-1 en vacas luego de que presentaran COD en forma natural respecto de sus contemporáneas sanas. Beam y Butler (1998 y 1999) reportaron que vacas con balance energético negativo tenían menores valores de IGF-1 e insulina, lo cual se correlacionaba positivamente con la formación de estructuras ováricas anovulatorias. Sin embargo, a la fecha no ha sido posible establecer una relación entre estos parámetros y la formación de quistes ováricos, tal vez debido a las múltiples funciones que cumple el sistema de IGFs y sus ligandos. En este sentido, una forma indirecta de evaluar el balance energético es a través de la valoración de la CC y la β -HB. De acuerdo con nuestros resultados, no se observaron diferencias en las determinaciones de estos indicadores entre las vacas quísticas y controles. Es preciso reiterar que en el presente estudio y, como surge de la Figura 12, se muestrearon vacas quísticas a lo largo de toda la lactancia. Contrariamente, en los estudios de Zulu y col. (2002) y Probo y col. (2011) el muestreo se centró solamente en vacas que se hallaban dentro de los 2 primeros meses de la lactancia. Esto nos permite sostener lo expresado en párrafos anteriores que el BEN por sí mismo no alcanzó para justificar la menor concentración sérica de IGF-1 e insulina halladas en este estudio y que podría tratarse de una deficiencia primaria o asociada a otros factores aún no determinados.

5.3 Estudio 3: “Metodología para estimar el costo de la preñez demorada para vacas en lactancia en sistemas de parición continua.”

Varios autores han desarrollado metodologías para estimar el costo de la preñez demorada en sistemas de producción lechera basados en modelos de simulación

computarizados (De Vries 2006, Groenendaal y col. 2004, Meadows y col. 2005). Aún cuando el uso de estos modelos permitió alcanzar resultados bastante realistas, cierto grado de complejidad puede apreciarse aún en sus ecuaciones, las cuales podrían complicar la interpretación por parte de los usuarios. Por este motivo, la metodología presentada en este estudio se enfocó en desarrollar ecuaciones más simples para calcular los resultados económicos planteados. El modelo propuesto fue sensible a cambios en las curvas de lactancia (i.e. niveles de producción diferentes y/o persistencia), tornándolo muy útil para analizar diferentes escenarios o sistemas de producción.

Contrariamente a resultados reportados previamente (Groenendaal y col. 2004, Meadows y col. 2005), el costo por DAI en nuestro estudio no se incrementó consistentemente a medida que progresaba el tiempo desde el parto, por el contrario, se mantuvo relativamente constante a lo largo de los cuatro periodos analizados (Tabla 16). Esto estuvo relacionado a la naturaleza de la ecuación utilizada para calcular el costo debido al descarte de vacas por infertilidad.

De Vries (2006) reportó que el costo del reemplazo de las vacas por infertilidad representaba la mayor proporción del costo total. En la presente investigación, ese fue el caso para los primeros 60 días abiertos involuntarios. Sin embargo, a medida que la lactancia se extendía, las pérdidas debido a la menor producción de leche constituyeron la principal causa de las pérdidas económicas más allá de los 60 DAI. Esta discrepancia con los resultados de DeVries (2006) pueden explicarse tanto por las menores tasas de descarte por infertilidad como por la menor persistencia de las lactancias de las vacas de los rodeos de nuestra región cuando son comparados con los sistemas norteamericanos.

La curva de lactancia requerida para estimar el costo por DAI, utilizando la metodología propuesta, puede ser reproducida con diferentes ecuaciones, modelos o datos empíricos. De la misma forma, diferentes sistemas de pago de la leche pueden ser

usados para estimar el precio de la leche requerido como input en la metodología. Es importante destacar que, en el presente estudio, el mismo valor de la leche fue considerado para toda la lactancia. En consonancia con lo reportado por Meadows y col. (2005), la metodología desarrollada utiliza una vaca única para representar la totalidad del rodeo. En este sentido, el modelo podría ser considerado menos robusto que otros que simulan escenarios basados en subpoblaciones de vacas con diferentes características dentro de un mismo rodeo (i.e. número de lactancias, nivel de producción, etc.).

Otra limitante de la metodología propuesta tiene relación con la falta de inclusión de los costos extras ocasionados por la caída en la eficiencia en la conversión alimenticia de las vacas a medida que se extiende la lactancia (kg de leche por kg MS consumida).

6. Conclusiones:

6.1 Estudio 1: “Descripción epidemiológica de la Enfermedad Quística Ovárica en rebaños lecheros de Argentina: factores de riesgos y efectos sobre el desempeño reproductivo de las vacas lecheras”

Este estudio observacional retrospectivo intentó caracterizar la epidemiología de la COD en rodeos lecheros de base pastoril típicos de la Argentina. Nuestros datos indican que la incidencia de COD (2,7%) fue menor que la reportada en la literatura. Sin embargo, los efectos negativos de la enfermedad sobre la performance reproductiva de la vaca son muy marcados, especialmente sobre el intervalo parto concepción y la tasa de preñez acumulada. En contraste con lo reportado por otros autores, las vacas en su primer tercio de lactancia tuvieron una incidencia menor de COD que en etapas posteriores. También se observó una influencia significativa de la estacionalidad sobre la frecuencia de presentación de la enfermedad, con mayor incidencia en invierno y primavera. Entre los factores que la podrían predisponer, la mastitis clínica estuvo asociada a una mayor incidencia de quistes foliculares.

6.2 Estudio 2: “Evaluación de indicadores metabólicos y bioquímicos sanguíneos en vacas en lactancia con Enfermedad Quística Ovárica.”

La presentación de COD no estuvo asociada con alteraciones en los valores de los indicadores de metabolismo energético, proteico, mineral ni defuncionalidad hepática evaluados. Las menores concentraciones séricas de IGF-1 e insulina detectadas

en vacas con quistes respecto de los controles sugieren una posible relación entre estas variables y la COD. El incremento del intervalo parto-concepción observado en las vacas con COD indica que la enfermedad afectaría la normal performance reproductiva de las vacas en lactancia.

6.3 Estudio 3: “Metodología para estimar el costo de la preñez demorada para vacas en lactancia en sistemas de parición continua.”

La metodología propuesta ha demostrado ser una herramienta simple y a la vez sensible para monitorear el impacto económico de diferentes escenarios de eficiencia reproductiva en un rodeo lechero. El ejemplo desarrollado constituye el primer reporte de la estimación de los costos incurridos debido a la preñez demorada en un sistema pastoril de producción lechera típico de la Argentina.

Como surge del ejemplo, el costo del DAI es más elevado que lo reportado en la literatura para otros sistemas de producción. Por este motivo, bajo las condiciones aquí descritas, los esfuerzos deberían enfocarse en lograr un mejor monitoreo del periodo de transición de la vaca (15 días antes y 15 días posteriores al parto) y en la implementación de un programa intensivo de manejo reproductivo inmediatamente luego de transcurrido el periodo de espera voluntario posterior al parto con la finalidad de acortar el tiempo requerido para lograr la concepción.

7. Conclusión general:

La epidemiología de la Enfermedad Quística Ovárica en los rodeos lecheros bajo sistemas de manejo y producción típicos de la Argentina ha mostrado tener características distintivas respecto de lo reportado por otros estudios sobre este tema. Se destacan la menor incidencia observada, la influencia de la estacionalidad y el momento de la lactancia sobre la frecuencia de la presentación y las asociaciones con los distintos factores que la podrían predisponer como es el caso de la mastitis. Se observaron también diferencias significativas en los niveles sanguíneos de hormonas metabólicas como la IGF-1 e insulina entre las vacas con COD y vacas sanas como se desprende del estudio de los perfiles bioquímicos. Por su parte, quedó demostrado que el efecto negativo que la COD ejerce sobre la performance reproductiva de la vaca es muy determinante. Esto se manifiesta claramente en el fuerte impacto económico que, tanto la COD como otras enfermedades que afectan la fertilidad de la vaca, tienen sobre el sistema productivo lechero. Finalmente, podemos afirmar que los hallazgos surgidos de estos estudios permiten confirmar, en buena medida, los supuestos de nuestra hipótesis.

8. Referencias bibliográficas:

- Acosta TJ, Tetsuka M, Matsui M, Shimizu T, Berisha B, Schams D, Miyamoto A. 2005. In vivo evidence that local cortisol production increases in the preovulatory follicle of the cow. *J. Reprod. Dev.* 51, 483–489.
- Alfaro NS, Salvetti NR, Velázquez MN, Stangaferro ML, Rey F, Ortega HH. 2012. Steroid receptor mRNA expression in the ovarian follicles of cows with cystic ovarian disease. *Res. Vet. Sci.* 92, 478-485.
- Ando M, Kol S, Kokia E, Ruutiainen-Altman K, Sirois J, Rohan RM, Payne DW, Adashi EY. 1998. Rat ovarian prostaglandin endoperoxide synthase-1 and -2: periovulatory expression of granulosa cell based interleukin-1 dependent enzymes. *Endocrinology* 139, 2501–2508.
- Amweg AN, Paredes A, Salvetti NR, Lara HE, Ortega HH. 2011. Expression of melanocortin receptors mRNA and direct effects of ACTH on steroid secretion in the bovine ovary. *Theriogenology* 75, 628-637.
- Austin EJ, Mihm M, Ryan MP, Williams DH, Roche JF. 1999. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *J. Anim. Sci.* 77, 2219–2226.
- Barker AR, Schrick FN, Lewis MJ, Dowlen HH, Oliver SP. 1998. Influence of clinical mastitis during early lactation on reproductive performance of jersey cows. *J. Dairy Sci.* 81, 1285-1290.
- Bartlett PC, Ngategize PK, Kaneene JB, Kirk JH, Anderson SM, Mather EC. 1986. Cystic follicular disease in Michigan Holstein-Friesian cattle: incidence, descriptive epidemiology, and economic impact. *Prev. Vet. Med.* 4, 15-33.
- Bartolomé JA, Thatcher WW, Melendez P, Risco CA, Archbald LF. 2005. Strategies for the diagnosis and treatment of ovarian cysts in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227, 1409-1414.

- Bauman DE, Currie WB. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* 63, 1514–1529.
- Beam SW, Butler WR. 1997. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.* 56, 133–142.
- Beam SW, Butler WR. 1998. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J. Dairy Sci.* 81, 121-131.
- Beam SW, Butler WR. 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 54, 411-424.
- Becú-Villalobos D, García Tornadú I, Schoroeder G, Salado E, Delavaud C, Chilliard Y, Lacau-Mengido I. 2007. Effect of fat supplement on leptin, insulin-like growth factor, growth hormone and insulin in cattle. *Can. J. Vet. Res.*, 71(3), 218-225.
- Block SS, Butler WR, Ehrhardt RA, Bell AW, Van Amburgh ME, Boisclair YR. 2001. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J. Endocrinol.* 171, 339–348.
- Borsberry S, Dobson H. 1989. Periparturient diseases and their effect on reproductive performance in five dairy herds. *Vet. Rec.* 124, 217–219.
- Boryczko Z, Bostedt H, Hoffman B. 1995. Comparison of the hormonal and chemical composition of the fluid from bovine ovarian follicles and cysts. *Reprod. Domest. Anim.* 30, 36–38.
- Bosu WT, Peter AT. 1987. Evidence for a role of intrauterine infections in the pathogenesis of cystic ovaries in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 28, 725-736.

- Braw-Tal R, Pen S, Roth Z. 2009. Ovarian cyst in high-yield dairy cows. *Theriogenology*. 72, 690–698.
- Brown JL, Schoenemann HM, Reeves JJ. 1986. Effect of treatment on LH and FSH receptors in chronic cystic-ovarian diseased dairy cows. *J. Anim. Sci.* 62, 1063–1071.
- Burke CR, Roche JR. 2007. Effects of pasture feeding during the periparturient period on postpartum anovulation in grazed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90, 4304–4312.
- Burke CR, Meier S, McDougall S, Compton C, Mitchell M, Roche JR. 2010. Relationships between endometritis and metabolic state during the transition period in pasture-grazed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93, 5363–5373.
- Byerley DJ, Kiser TE, Bedrand JK, Kraeling RR. 1992. Release of luteinizing hormone after administration of naloxone in pre- and peripuberal heifers. *J. Anim. Sc.* 70, 2794–2800.
- Calder MD, Manikkam M, Salfen BE, Youngquist RS, Lubahn DB, Lamberson WR, Garverick HA. 2001. Dominant bovine ovarian follicular cysts express increased levels of messenger RNAs for luteinizing hormone receptor and 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase α 4, α 5 isomerase compared to normal dominant follicles. *Biol. Reprod.* 65, 471–476.
- Casida LE, Chapman AB. 1951. Factors affecting the incidence of cystic ovaries in a herd of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 34, 1200-1205.
- Casida LE, McShan WH, Meyer RK. 1944. Effects of an unfractionated pituitary extract upon cystic ovaries and nymphomania in cows. *J. Anim. Sci.* 3, 273.
- Chagas LM, Bass JJ, Blache D, Burke CR, Kay JK, Lindsay DR, et al. 2007. Invited review: new perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90, 4022–4032.

- Cole WJ, Bierschwal CJ, Youngquist RS, Braun WF. 1986. Cystic ovarian disease in a herd of Holstein cows: a hereditary correlation. *Theriogenology* 25, 813–820.
- Cook DL, Parfet JR, Smith CA, Moss GE, Youngquist RS, Garverick HA. 1991. Secretory patterns of LH and FSH during development and hypothalamic and hypophyseal characteristics following development of steroid induced ovarian follicular cysts in dairy cattle. *J. Reprod. Fertil.* 91, 19–28.
- Cozzi G, Ravarotto L, Gottardo F, Stefani AL, Contiero B, Moro L, Brscic M, Dalvit P. 2011. Reference values for blood parameters in Holstein dairy cows: Effects of parity, stage of lactation, and season of production. *J. Dairy Sci.* 94, 3895–3901.
- Davoren JB, Kasson BG, Li C.H, Hsueh AJW. 1986. Specific insulin-like growth factor (IGF) I and II –binding sites on rat granulosa cells: relation to IGF action. *Endocrinology* 119, 2155-2162.
- Dawson FLM. 1957 .Bovine cystic ovarian disease: a review of recent progress. *Br. Vet. J.* 113, 112-133.
- DeSilva M, Reeves JJ. 1988. Hypothalamic pituitary function in chronically cystic and regularly cycling dairy cows. *Biol. Reprod.* 38, 264–269.
- De Vries A. 2006. Determinants of the cost of days open in dairy cattle. *Proceedings of the 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics.*
- Díaz PU, Stangaferro ML, Gareis NC, Barberis F, Matiller V, Rey F, Salvetti NR, Ortega HH. 2013. Análisis de los patrones pulsátiles de hormona luteinizante (LH) en un modelo de persistencia folicular en bovinos. *Medicina* 73, 102.
- Diskin MG, Mackey DR, Roche JF, Sreenan JM. 2003. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *An. Rep. Sc.* 78, 345–370.

- Dobson H, Nanda AS. 1992. Reliability of cyst diagnosis and effect of energy status on LH released by estradiol or GnRH in cows with ovarian cysts. *Theriogenology* 37, 465–472.
- Dobson H, Ribadu AY, Noble KM, Teble JE, Ward WR. 2000. Ultrasonography and hormone profiles of adrenocorticotrophic hormone (ACTH)-induced persistent ovarian follicles (cysts) in cattle. *J. Reprod. Fertil.* 120, 405-410.
- Dobson H, Smith RF, Royal MD, Knight CH, Sheldon IM. 2007. The high-producing dairy cow and its reproductive performance. *Reprod. Dom. Anim* 42(Suppl. 2), 17-23.
- Dohoo I, Martin W, Steyhn H. 2003. Veterinary epidemiology research. AVC Inc, Charlotte Town (Canada) pp. 163-175.
- Douthwaite R, Dobson H. 2000. Comparison of different methods of diagnosis of cystic ovarian disease in cattle and an assessment of its treatment with progesterone-releasing intravaginal device. *Vet. Rec.* 147, 355–259.
- Duchens M, Maciel M, Gustafsson H, Forsberg M, Rodriguez-Martinez H, Edqvist LE. 1995. Influence of periestrus suprabasal progesterone levels on cycle length, estrous behavior and ovulation in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 37, 95–108.
- Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. 1989. A body condition scoring chart for Holstein Dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72, 68-78.
- Eckles CH, Gullickson TW, Palmer LS. 1932. Phosphorus deficiency in the rations of cattle. *Univ. Minn. Agric. Exp. Stan. Bull.* 91, 1–118.
- Erb HN, White ME. 1981. Incidence rates of cystic follicles in Holstein cows according to 15-day and 30-day intervals. *Cornell Vet.* 71, 326-331.
- Espey LL. 1980. Ovulation as an inflammatory reaction—a hypothesis. *Biol. Reprod.* 22, 73–106.

- Fenwick MA, Fitzpatrick R, Kenny DA, Diskin MG, Patton J, Murphy JJ, et al. 2008a. Interrelationships between negative energy balance (NEB) and IGF regulation in liver of lactating dairy cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* 34, 31–44.
- Fleischer P, Metzner M, Beyerbach M, Hoedemaker M, Klee W. 2001. The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84, 2025–2035.
- Foster DL, Nagatani S. 1999. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Biol. Reprod.* 60, 205–215.
- Garm O. 1949. A study of bovine nymphomania. *Acta Endocrinol Suppl.* 3, 1.
- Garverick HA. 1997. Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80, 995–1004.
- Gearhart MA, Curtis CR, Erb HN, Smith RD, Sniffen CJ, Chase LE, Cooper MD. 1990. Relationship of changes in condition score to cow health in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 73, 3132–3140.
- Goff JP. 2000. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Metabolic disorders of ruminants. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 16, 319–337.
- Gómez-Cifuentes CI. 2010. Asociación de mastitis clínica y subclínica con el desempeño reproductivo de vacas lecheras en rodeo estacionado. Tesis Maestría en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral (Argentina).
- Gong JG. 2002. Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23, 229–241.
- Groenendaal H, Galligan DT, Mulder HA. 2004. An economic spreadsheet model to determine optimal breeding and replacement decisions for dairy cattle. *J. of Dairy Sci.* 87, 2146–2157.

- Grohn YT, Rajala-Schultz PJ. 2000. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 60, 605–614.
- Grummer, R.R., Mashek, D.G., Hayirli, A. 2004. Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin. Food Anim.* 20, 447–470.
- Gümen A, Wiltbank MC. 2002. An alteration in the hypothalamic action of estradiol due to lack of progesterone exposure can cause follicular cysts in cattle. *Biol. Reprod.* 66, 1689–1695.
- Gümen A, Wiltbank MC. 2005. Follicular cysts occur after a normal estradiol-induced GnRH/LH surge if the corpus hemorrhagicum is removed. *Reproduction* 129, 737–745.
- Gümen A, Wiltbank MC. 2005. Length of progesterone exposure needed to resolve large follicle anovular condition in dairy cows. *Theriogenology* 63, 202–218.
- Gutierrez-Aguilar CG. 1997. The effect of nutrition and metabolic hormones on follicular development in cattle. PhD dissertation, University of Edinburgh, p 146–166.
- Hackett AJ, Batra TR. 1985. The incidence of cystic ovaries in dairy cattle housed in a total confinement system. *Can. J. Comp. Med.* 49, 55-57.
- Hamilton SA, Garverick HA, Keisler DH, Xu ZZ, Loos K, Youngquist RS, Salfen BE. 1995. Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biol. Reprod.* 53, 890.
- Hammon DS, Holyoak GR, Dhiman TR. 2005. Association between blood plasma urea nitrogen levels and reproductive fluid urea nitrogen and ammonia concentrations in early lactation dairy cows. *An. Reprod. Sc.* 86, 195–204.
- Hanzen CH, Pieterse M, Scenczi O, Drost M. 2000. Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per rectum. *Vet. J.* 159, 161-170.

- Herdt TH. 2000. Variability characteristics and test selection in herd level nutritional and metabolic profile testing. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 16,387–403.
- Hignett SL, Hignett PG. 1952. The influence of nutrition on reproductive efficiency in cattle II. The effect of the phosphorus intake on ovarian activity and fertility of heifers. *Vet. Rec.*64, 203–206.
- Hillier SG, Tetsuka M. 1998. An anti-inflammatory role for glucocorticoids in the ovaries? *J. Reprod. Immunol.* 39, 21–27.
- Hooijer GA, Lubbers RBF, Ducro BJ, van Arendonk JAM, Kaal-Lansbergen LMTE, van der Lende T. 2001. Genetic parameters for cystic ovarian disease in dutch black and white dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 84, 286-291.
- Hooijer G, Van Oijen M, Frankena K, Noordhuizen J. 2003. Milk production parameters in early lactation: Potential risk factors of cystic ovarian disease in dutch dairy cows. *Livestock Production Science* 81, 25-33.
- Hooijer GA, van Oijen MA, Frankena K, Noordhuizen JP. 2005. Influence of negative energy balance on the reproductive performance after treatment of cystic ovarian disease with gonadotrophin-releasing hormone in dairy cows. *J. Vet. Med. A.* 52(6), 298-304.
- Ingvarsten KL, Dewhurst RJ, Friggens NC. 2003. On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? *Livestock Production Science* 83, 277–308.
- Isobe N, Yoshimura Y. 2007. Deficient proliferation and apoptosis in the granulosa and theca interna cells of the bovine cystic follicle. *J. Reprod. Dev.* 53, 1119–1124.
- Jeffcoate IA, Ayliffe TR. 1995. An ultrasonographic study of bovine cystic ovarian disease and its treatment. *Vet. Rec.* 22(136), 406-410.

Johnson C. 2004. Cystic ovarian disease in cattle on dairies in central and western Ohio: Ultrasonic, hormonal, histologic and metabolic assessments. Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Doctor of Philosophy in the Graduate School of The Ohio State University.

Jones JJ, Clemmons DR. 1995. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr. Rev.* 16, 3–34.

Jóźwik A, Strzałkowska N, Bagnicka E, Grzybek W, Krzyżewski J, Poławska E, Kołataj A, Horbańczuk JO. 2012. Relationship between milk yield, stage of lactation, and some blood serum metabolic parameters of dairy cows. *Czech J. Anim. Sci.* 57(8), 353–360.

Kawashima C, Sakaguchi M, Suzuki T, Sasamoto Y, Takahashi Y, Matsui M, Miyamoto A. 2007. Metabolic profiles in ovulatory and anovulatory primiparous dairy cows during the first follicular wave postpartum. *J. Reprod. Dev.* 53, 113-120.

Kawate N, Inaba T, Mori J. 1990. A quantitative comparison in the bovine of steroids and gonadotropin receptors in normally developing follicles and in follicular and luteinized cysts. *An. Rep. Sci.* 23, 273-281

Kawate N, Inaba T, Mori J. 1996. Changes in plasma concentrations of gonadotrophins and steroids hormones during the formation of bovine follicular cysts induced by the administration of ACTH. *J. Vet. Med. Sci.* 58, 141-144.

Kawate. 2004. Changes in plasma concentrations of gonadotrophins and steroids hormones during the formation of bovine follicular cysts induced by the administration of ACTH. *J. Rep. Dev.* 50 (1): 1-8.

Kesler DJ, Garverick HA. 1982. Ovarian cysts in dairy cattle: a review. *J. Anim. Sci.* 55, 1147-1159.

- Kimura K, Reinhardt TA, Goff JP. 2006. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89, 2588–2595.
- Kirk JH, Huffman EM, Lane M. 1982. Bovine cystic ovarian disease: hereditary relationships and case study. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 181, 474–476.
- Kobayashi Y, Boyd CK, Bracken CJ, Lamberson WR, Keisler DH, Lucy MC. 1999. Reduced growth hormone receptor (GHR) messenger ribonucleic acid in liver of periparturient cattle is caused by aspecific down-regulation of GHR 1A that is associated with decreased insulin-like growth factor I. *Endocrinology* 140, 3947–3954.
- Kol S, Ben-Shlomo I, Payne DW, Ando M, Rohan RM, Adashi EY. 1998. Glucocorticoids suppress basal (but not interleukin-1-supported) ovarian phospholipase A2 activity: evidence for glucocorticoid receptor-mediated regulation. *Mol. Cell Endocrinol.* 137, 117–125.
- Laporte HM, Hogeveen H, Schukken YH, Noorhuizen JPTM. 1994. Cystic ovarian disease in Dutch dairy cattle, I. Incidence, risk-factors and consequences. *Livestock Production Science* 38, 191-197.
- Latimer KS, Mahaffey EA, Prasse KW. 2005. *Patología clínica veterinaria*. 4ta Ed. Multimédica Ediciones Veterinarias. Barcelona. España. pp 550.
- LeBlanc SJ. 2008. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *The Veterinary Journal* 176, 102–114.
- Lee LA, Ferguson JD, Galligan DJ. 1988. The use of survival analysis to quantitate days open, advantages and implications. *Acta Vet. Scand.* 84, 433–435.
- Leroy JL, Vanholder T, Delanghe JR, Opsomer G, Van Soom A, Bols PE, Dewulf J, de Kruif A. 2004. Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high yielding dairy cows early post partum. *Theriogenology* 15, 62(6), 1131-1143.

- Liefers SC, Veerkamp RF, te Pas MF, Delavaud C, Chilliard Y, van der Lende T. 2003. Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight, and estrus in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86(3), 799-807.
- Liptrap RM. 1993. Stress and reproduction in domestic animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 697, 275-284.
- Lopez H, Kanitz FD, Moreira VR, Satter LD, Wiltbank MC. 2004a. Reproductive performance of dairy cows fed two concentrations of phosphorus. *J. Dairy Sci.* 87, 146–157.
- Lopez-Gatius F, Santolaria P, Yaniz J, Rutllant J, Lopez-Bejar M. 2001. Persistent ovarian follicles in dairy cows: a therapeutic approach. *Theriogenology* 56, 649–659.
- López-Gatius F, Santolaria P, Yániz J, Fenech M, López-Béjar M. 2002. Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows. *Theriogenology* 58, 1623-1632.
- López-Gatius F, Murugavel K, Santolaria P, López-Béjar M, Yániz JL. 2004. Pregnancy rate after timed artificial insemination in early post-partum dairy cows after ovsynch or specific synchronization protocols. *J. Vet. Med. A.* 51(1), 33-38.
- López-Gatius F, García-Ispierto I, Santolaria P, Yanis J, Nogaredo C, López-Bejar M. 2006. Screening for high fertility in high producing dairy cows. *Theriogenology* 65, 1678-1689.
- López-Gatius F, Mirzaei A, Santolaria P, Bech-Sabat G, Nogareda C, Garcia-Ispierto I, et al. 2008. Factors affecting the response to the specific treatment of several forms of clinical anestrus in high producing dairy cows. *Theriogenology* 69, 1095–1103.
- Marelli BE, Díaz PU, Salvetti NR, Rey F, Ortega HH. 2014. mRNA expression pattern of gonadotropin receptors in bovine follicular cysts. *Reproductive biology* 14, 276-281.

- Matamaros IA, Cox NM, Moore AB. 1990. Exogenous insulin and additional energy affect follicular distribution, follicular steroid concentrations, and granulosa cell human chorionic gonadotropin binding in swine. *Biol. Reprod.* 43, 1–7.
- McDougall S, Compton C. 2005. Reproductive performance of anestrous dairy cows treated with progesterone and estradiol benzoate. *J. Dairy Sci.* 88, 2388-2400.
- Meadows C, Rajala-Schultz PJ, Frazer GS. 2005. A spreadsheet-based model demonstrating the non uniform economic effects of varying reproductive performance in Ohio dairy herds. *J. Dairy Sci.* 88, 1244–1254.
- Michael A, Thurston LM, Rae MT. 2003. Glucocorticoid metabolism and reproduction: a tale of two enzymes. *Reproduction* 126, 425–441.
- Minoia P, Sciorsci RL. 2001. Metabolic control through L calcium channel, PKC and opioid receptors modulation by an association of naloxone and calcium salts. *Current Drug Targets: Immune, Endocrine and Metabolic Disorders* 1, 131–137.
- Moberg GP. 1991. How behavioral stress disrupts the endocrine control of reproduction in domestic animals. *J. Dairy Sci.* 74, 304-311.
- Mohammed HO, White ME, Guard CL, Smith MC, Mechor GD, Booker CW, Warnick LD, Dascanio JJ, Kenney DG. 1991. A case-control study of the association between blood selenium and cystic ovaries in lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 74, 2180-2185.
- Moore DA, Cullor JS, Bondurant RH, Sisco WM. 1991. Preliminary field evidence for the association of clinical mastitis with altered interestrus intervals in dairy cattle. *Theriogenology* 36, 257-265.
- Mulligan FJ, Ogrady LO, Rice DA, Doherty ML. 2006. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal Reproduction*, 96, 331–353.

- Mwaanga ES, Janowski T. 2000. Anoestrus in dairy cows: causes, prevalence and clinical forms. *Reprod. Domest. Anim.* 35, 193–200.
- Nanda AS, Ward WR, Dobson H. 1989. The relationship between milk yield and cystic ovarian disease in cattle. *Br. Vet. J.* 145, 39-45.
- Nelson S, Martin A, Østerås O. 2010. Risk factors associated with cystic ovarian disease in Norwegian dairy cattle. *Acta Vet. Scand.* 52, 60.
- Opsomer G, Wensing T, Laevens H, Coryn M, de Kruif A. 1999. Insulin resistance: the link between metabolic disorders and cystic ovarian disease in high yielding dairy cows? *Anim. Reprod. Sci.* 56, 211-222.
- Ortega HH, Salvetti NR, Amable P, Dallard BE, Baravalle C, Barbeito CG, Gimeno EJ. 2007. Intraovarian localization of growth factors in induced cystic ovaries in rats. *Anat. Histol. Embryol.* 36, 94-102.
- Ortega HH., Palomar MM., Acosta JC., Salvetti NR., Dallard BE., Lorente JA., Barbeito CG., Gimeno EJ. 2008. Insulin-like growth factor I in sera, ovarian follicles and follicular fluid of cows with spontaneous or induced cystic ovarian disease. *Res. Vet. Sci.* 84, 419–427.
- Østerås O, Solbu H, Refsdal AO, Roalkvam T, Filseth O, Minsaas A. 2007. Results and evaluation of thirty years of health recordings in the Norwegian dairy cattle population. *J. Dairy Sci.* 90, 4483-4497.
- Overton TR., Waldron MR. 2004. Nutritional management of transitions dairy cows: strategies to optimize metabolic health. *J. Dairy Sci.* 87,105–119.
- Ozturk M, Smith RF, Dobson H. 1998. Effect of prolonged exposure to oestradiol on subsequent LH secretion in ewes. *J. Reprod. Fertil.* 114, 1–9.

- Palomar MM, Acosta JC, Salvetti NR, Barberis F, Beldomenico PM, Garnero O, Ortega HH. 2008. Treatment of cystic ovarian disease with Naloxone in high production dairy cows. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 31, 184–186.
- Peter AT, Bosu WTK, De Decker RJ. 1989. Suppression of preovulatory luteinizing hormone surges in heifers after intrauterine infusions of *Escherichia coli* endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 50, 369-373.
- Peter AT, Bosu WT, Gilbert RO. 1990. Absorption of *Escherichia coli* endotoxin (lipopolysaccharide) from the uteri of postpartum dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.* 39, 1–7.
- Peter AT. 2004. An update on cystic ovarian degeneration in cattle. *Reprod. Domest. Anim.* 39, 1-7.
- Peter AT, Vos PLAM, Ambrose DJ. 2009. Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology* 71, 1333–1342.
- Piccione G, Messina V, Marafioti S, Casella S, Giannetto C, Fazio C. 2012. Changes of some haematochemical parameters in dairy cows during late gestation, post partum, lactation and dry periods. *Vet. Med. Zoot.* 58, 59-64.
- Price CA, Silva JM. 1999. Intracellular regulation of P450 aromatase by FSH and insulin in bovine granulosa cells. *J. Reprod. Fertil.*, abstract series 23, 5.
- Probo M, Comin A, Cairoli F, Faustini M, Kindahl H, De Amicis I, Veronesi M. 2011. Selected metabolic and hormonal profiles during maintenance of spontaneous ovarian cysts in dairy cows. *Reprod. Domest. Anim.* 46, 448-454.
- Rajala PJ, Gröhn YT. 1998. Disease occurrence and risk factor analysis in Finnish Ayrshire cows. *Acta Vet. Scand.* 39, 1-13.

- Rey F, Rodríguez FM, Salvetti NR, Palomar MM, Barbeito CG, Alfaro NS, Ortega HH. 2010. Insulin-like growth factor-II and insulin-like growth factor-binding proteins in bovine cystic ovarian disease. *J. Comp. Pathol.* 142, 193-204.
- Ribadu AY, Nakada K, Moriyoshi M, Zhang WC, Tanaka Y, Nakao T. 2000. The role of LH pulse frequency in ACTH-induced ovarian follicular cysts in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 64, 21-31.
- Ribeiro ES, Lima FS, Greco LF, Bisinotto RS, Monteiro APA, Favoreto M, Ayres H, Marsola RS, Martinez N, Thatcher WW, Santos JEP. 2013. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *J. Dairy Sci.* 96, 1–16.
- Roberts SJ. 1955. Clinical observations on cystic ovaries in dairy cattle. *Cornell Vet.* 45, 497-513.
- Roberts SJ. 1971. *Veterinary obstetrics and genital diseases. Theriogenology.* 2nd ed. Edwards Brothers Inc. Ann Arbor, MI., pp. 421-430.
- Roberts SJ. 1986. Hormonal disturbances resulting in infertility: cystic ovaries. In: Roberts S.J., editor. *Veterinary obstetrics and genital diseases.* Woodstock Vt., pp. 478-487.
- Rodríguez FM, Salvetti NR, Panzani CG, Barbeito CG, Ortega HH, Rey F. 2011. Influence of insulin-like growth factor-binding proteins-2 and -3 in the pathogenesis of cystic ovarian disease in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 128, 1–10.
- Rodríguez FM, Salvetti NR, Colombero M, Stangaferro ML, Barbeito CG, Ortega HH, et al. 2013. Interaction between IGF1 and IGFBPs in bovine cystic ovarian disease. *Anim. Reprod. Sci.* 140(1–2), 14–25.

- Royal MD, Darwash AO, Flint APF, Webb R, Wooliams JA, Lamming GE. 2000. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Anim. Sci.* 70, 487–501.
- Rukkwamsuk T, Geelen MJH, Kruijff TAM, Wensing T. 2000. Interrelation of fatty acid composition in adipose tissue, serum, and liver of dairy cows during the development of fatty liver postpartum. *J. Dairy Sci.* 83, 52–59.
- Sakaguchi M, Sasamoto, Y, Suzuki T, Takahashi Y, Yamada Y. 2004. Postpartum ovarian follicular dynamics and estrous activity in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87, 2114–2121.
- Sakaguchi M. 2011. Practical aspects of the fertility of dairy cattle. *J. Reprod. Dev.* 57(1) 17-33.
- Salvetti NR, Rey F, Ortega HH. 2007. Enfermedad quística ovárica bovina. *Revista FAVE - Ciencias Veterinarias* 6, 1-2.
- Salvetti NR, Stangaferro ML, Palomar MM, Alfaro NA, Rey F, Gimeno EJ, Ortega HH. 2010. Cell proliferation and survival mechanisms underlying the abnormal persistence of follicular cysts in bovines with cystic ovarian disease induced by ACTH. *Anim. Reprod. Sci.* 122, 98–110.
- Salvetti NR, Alfaro NS, Velázquez MN, Amweg AN, Matiller V, Díaz PU, Ortega HH. 2012. Alteration in localization of steroid hormone receptors and co-regulatory proteins in follicles from cows with induced ovarian follicular cysts. *Reproduction* 144, 723-735.
- Santos JEP, Cerri RLA, Ballou LA, Higginbotham GE, Kirk JH. 2004. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 80, 31-45.

Sartori R, Haughian JM, Shaver RD, Rosa GJM, Wiltbank MC. 2004. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.* 87, 905–920.

Savio JD, Boland MP, Roche JF. 1990a. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 88, 581–591.

Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF. 1990b. Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 88, 569–579.

Savio JD, Thatcher WW, Badinga L, de la Sota RL, Wolfenson D. 1993. Regulation of dominant follicle turnover during the estrous cycle in cows. *J. Reprod. Fertil.* 97, 197–203.

Scandolo D, Noro M.; Bohmwald H, Contreras PA, Wittwer F. 2007. Variación diurna del ph y de las concentraciones de magnesio y potasio del fluido ruminal en vacas lecheras en pastoreo. *Arch. Med. Vet.* 39(2), 141-146.

Scharp DW. 1979. Effects of adding superphosphate to the drinking water on the fertility of dairy cows. *Aust. Vet. J.* 55, 240–243.

Schrick FN, Hockett ME, Saxtom AM, Lewis MJ, Dowlen HH, Oliver SP. 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation in reproductive parameters. *J. Dairy Sci.* 84, 1407-1412.

Silvia WJ, Hatler TB, Nugent AM, Laranja da Fonseca LF. 2002. Ovarian follicular cysts in dairy cows: an abnormality in folliculogenesis. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23, 167-177.

- Sirois J, Fortune JE. 1990. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology* 127, 916–925.
- Snijders SEM, Dillon PG, O'Farrell KJ, Diskin MG, Wylie ARG, O'Callaghan D, Rath M, Boland MP. 2001. Genetic merit for milk production and reproductive success in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 65, 17–21.
- Spicer LJ, Echternkamp SE. 1995. The ovarian insulin and insulin like growth factor system with emphasis on domestic animals. *Domest. Anim. Endocrinol.* 12, 223–245.
- Stagg K, Spicer LJ, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG. 1998. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biol. Reprod.* 59, 777–783.
- Stoebel DP, Moberg GP. 1982b. Effect of adrenocorticotrophin and cortisol on luteinizing hormone surge and estrous behavior of cows. *J. Dairy Sci.* 65, 1016-1024.
- Stock AE, Fortune JE. 1993. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology* 132, 1108–1114.
- Swedish Agriculture. 1978. *Statistics Yearbook for 1976 to 1977*. P. 114.
- Tallam SK, Ealy AD, Bryan KA, Wu Z. 2005. Ovarian activity and reproductive performance of dairy cows fed different amounts of phosphorus. *J. Dairy Sci.* 88, 3609–3618.
- Taylor VJ, Cheng Z, Pushpakumara PGA, Beever DE, Wathes DC. 2004b. Fertility and yield in lactating dairy cows: relationship to plasma IGF-I in the peripartum period. *Vet. Rec.* 155, 583–588.

- Theiler AH, Green H, Du Toit PJ. 1928. Studies in mineral metabolism III. Breeding of cattle on phosphorus deficient pasture. *J. Agr. Sci. (Camb.)* 18, 369–371.
- Van Kneegsel A, Van den Brand H, Dijkstra J, Van Straalen W, Jorritsma R, Tamminga S, Kemp B. 2007. Effect of glucogenic vs. lipogenic diets on energy balance, blood metabolites and reproduction in primiparous and multiparous dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 90, 3397–3409.
- Vanholder T, Leroy JLMR, Dewulf J, Duchateau L, Coryn M, De Kruif A, Opsomer G. 2005. Hormonal and metabolic profiles of high-yielding dairy cows prior to ovarian cyst formation or first ovulation postpartum. *Reprod. Domest. Anim.* 40, 460–467.
- Vanholder T, Opsomer G, DeKruif A. 2006. Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: A review. *Reprod. Nutr. Dev.* 46, 105-119.
- Velazquez MA, Spicer LJ, Wathes DC. 2008. The role of endocrine insulin-like growth factor-I (IGF-I) in female bovine reproduction. *Domestic Animal Endocrinology* 35, 325–342.
- Velázquez MN, Salvetti NR, Amweg AN, Díaz PU, Matiller V, Ortega HH. 2013. Changes in the expression of Heat Shock Proteins in ovaries from bovines with cystic ovarian disease induced by ACTH. *Res. Vet. Sci.* 95, 1059-1067.
- Vernon, R. G. 2005. Lipid metabolism during lactation: a review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. *Journal of Dairy Research* 72, 460–469.
- Waltner SS, McNamara JP, Hillers JK. 1993. Relationships of body condition score to production variables in high producing Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 76, 3410-3419.
- Wathes DC. 2012. Mechanisms linking metabolic status and disease with reproductive outcome in the dairy cow. *Reprod. Dom. Anim.* 47 (Suppl. 4), 304–312.

Wathes DC, Clempson AM, Pollott GE. 2013. Associations between lipid metabolism and fertility in the dairy cow. *Reproduction, Fertility and Development* 25, 48–61.

Whitmore HL, Tyler WJ, Casida LE. 1974. Incidence of cystic ovaries in Holstein-Friesian cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 165, 693-694.

Wiltbank MC, Gumen A, Sartori R. 2002. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57, 21–52.

Wolfenson D, Inbar G, Roth Z, Kaim M, Bloch A, Braw-Tal R. 2004. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. *Theriogenology* 62, 1042–1055.

Yelich JV, Wettemann RP, Marston TT, Spicer LJ. 1996. Luteinising hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. *Domest. Anim. Endocrinol.* 13, 325–338.

Youngquist RS. 1986. Cystic follicular degeneration in the cow. In: Morrow D (Ed), *Current therapy in Theriogenology*, 2nd ed., WB Saunders Co, Philadelphia, pp. 243–246.

Zulu VC, Sawamukai Y, Nakada K, Kida K. 2002. Relationship among Insulin-Like Growth Factor-I, blood metabolites and post partum ovarian function in dairy cows. *J. Vet. Med. Sci.* 64, 879-885.

9. Publicaciones: