



01674 1
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

"EFECTO DE LA CONDICION CORPORAL AL PARTO SOBRE
EL INICIO DE LA ACTIVIDAD OVARICA POSPARTO EN
VACAS LECHERAS: PERFILES METABOLICOS Y HORMONAL"

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION
Y DE LA SALUD ANIMAL
PRESENTADA POR

INGRID 'AGUILERA CARDENAS

299734

TUTOR PRINCIPAL: DR. CARLOS GUTIERREZ AGUILAR

COMITE TUTORAL:

DR. EVERARDO GONZALEZ PADILLA

DRA. MA. TERESA SANCHEZ TORRES ESQUEDA





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

El llegar a ésta meta ha representado un gran esfuerzo compartido con personas que ocupan un lugar muy especial en mi vida:

Angelina Cárdenas Reyes
Mario Aguilera Cárdenas
Omar Cuervo Espinosa
Martha Rosado Rodríguez

Hago especial mención al apoyo incondicional de parte de mi Jefe y amigo **MVZ MSc Arturo Olguin y Bernal.**

Gracias

AGRADECIMIENTOS

La dirección y desarrollo de este trabajo se lograron con el apoyo y consejo del Dr. **Carlos Gutiérrez Aguilar**.

Gracias

Agradezco las atinadas observaciones de mi **H. Jurado**: Dr. Everardo González Padilla, Dra. Ma. Teresa Sánchez Torres Esqueda, Dr. Alejandro Villa Godoy, Dr. Carlos García Bojalil, Dr. Carlos Gutiérrez Aguilar.

Las siguientes personas representaron en algún momento del desarrollo de este trabajo un apoyo importante que me animó a continuar:

Dr. Oscar Ortiz González, Dr. Pedro Ochoa Galván, Dr. Sergio Ángeles Campos.

Al personal del **Instituto Nacional de la Nutrición "SALVADOR ZUBIRAN"**, especialmente a la Química Norma López Orea.

Al Departamento de Producción Animal:Rumiantes:. Especialmente a Miguel Quiroz, Lérida Martínez, Reyna Castro, Sra. Lourdes Montañez, Luis y Geraldo Trejo.

Al Departamento de Reproducción: Arantzazu Lassala, Lucy Rangel, Gisel García, Javier Hernández, Susana Rojas, Clara Murcia, Gerardo Perera, José Ramón, Juan Ramón, Luis Alonso, Nicolás Valezuela y muy en especial al Dr. Joel Hernández Cerón por todo el apoyo brindado.

Al Departamento de Patología Clínica: en especial a Gerardo Quiroz, Arlette Castillo, Rosalba Salcedo.

Es importante reconocer que este logro se dio por el apoyo **del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** y por los valores y educación que he recibido de mi **Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia** y de la **Universidad Nacional Autónoma de México**

GRACIAS

Ingrid Aguilera Cárdenas, MVZ

DECLARACIÓN

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que esta tesis esté disponible para cualquier tipo de intercambio bibliotecario.

Ingrid Aguilera Cárdenas, MVZ

ÍNDICE	PÁGINA
RESUMEN	VI
SUMMARY	VIII
 Capítulo 1 INTRODUCCIÓN	 1
 Capítulo 2 REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1. REINICIO DE LA ACTIVIDAD OVÁRICA POSPARTO	5
2.1.1 Control endocrino de la actividad reproductiva en vacas posparto	6
2.2. EFECTO DE LA CONDICIÓN CORPORAL SOBRE LA SECRECIÓN DE GONADOTROPINAS Y EL INICIO DE LA ACTIVIDAD OVÁRICA EN VACAS LECHERAS POSPARTO	8
2.2.1 Balance energético posparto	10
2.2.2. Balance energético y días a primera ovulación	11
2.2.3 Efecto del balance energético sobre la dinámica folicular	13
2.3. SEÑALES METABÓLICAS Y HORMONALES QUE PUEDEN INTERVENIR EN EL REINICIO DE LA ACTIVIDAD OVÁRICA POSPARTO	16
 Capítulo 3 MATERIAL Y MÉTODOS	 22
3.1. ANIMALES EXPERIMENTALES	22
3.2. ALIMENTACIÓN	22
3.3. CONDICIÓN CORPORAL	23
3.4. MUESTREO SANGUÍNEO	24

3.5. DETERMINACIONES HORMONALES	24
3.6. DETERMINACIONES DE ANALITOS	25
3.8. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	26
Capítulo 4 RESULTADOS	27
Capítulo 5 DISCUSIÓN	35
APÉNDICE	46
LITERATURA CITADA	51

RESUMEN

AGUILERA CARDENAS INGRID. **Efecto de la condición corporal al parto sobre el inicio de la actividad ovárica posparto en vacas lecheras: Perfiles metabólicos y hormonal** (bajo la dirección del Dr. Carlos G Gutiérrez Aguilar).

El objetivo del trabajo fue determinar la relación existentes entre la condición corporal (CC) al parto, el inicio de la actividad ovárica posparto y los niveles de glucosa, insulina, colesterol, triacilglicerol y nitrógeno ureico como indicadores del consumo de alimento; proteínas totales y albúmina como indicadores del estado nutricional; ácidos grasos libres (AGL) como indicador de movilización grasa y bilirrubina total, bilirrubina directa y aspartato amino transferasa (AST) como indicadores de daño hepático en vacas lecheras altas productoras. Se seleccionaron 18 vacas multiparas con 8 meses de gestación y un promedio de 650 kg de peso; divididas en dos grupos, con CC moderada (CCM = 2.43 ± 0.06 ; n = 9) y con CC alta (CCA = 3.15 ± 0.1 ; n = 9). Entre la semana 1 preparto y la semana 8 posparto se midió la CC semanalmente y se obtuvieron muestras sanguíneas para la determinación de metabolitos e insulina. Adicionalmente, se tomaron muestras de leche tres veces por semana para determinar progesterona. La producción de leche ajustada al día 75 (2740.07 ± 171.35) y los cambios de CC ($0.73 \pm .08$) no difirieron entre grupo. El reinicio de actividad ovárica ocurrió mas tarde para CCA (45.1 ± 4.1 días) que para el grupo CCM (32.5 ± 4.4 días) (P= 0.04). Al analizar individualmente los metabolitos para cada animal por medio de un análisis de regresión para maximizar la R², se encontró que las vacas que tuvieron menor concentración de albúmina en la semana 2 posparto, tardaron más

Palabras claves: Condición Corporal, reinicio de actividad ovárica posparto, perfiles metabólicos.

tiempo en reiniciar actividad ovárica ($P= 0.07$), a razón de 8.83 días por g/dL de albúmina y que a mayor concentración de bilirrubina directa en la semana 2 posparto, las vacas tardaron más tiempo en ovular ($P=0.09$), a razón de 8.85 días por mg/L de bilirrubina directa. Se concluye que vacas con CC alta tardan más tiempo en reiniciar actividad ovárica. Esto se presenta a pesar de que no hay diferencia de la pérdida de CC y que las concentraciones de metabolitos e insulina no salen de rangos normales. Debido a la relación que se encontró entre la bilirrubina directa y la albúmina, sobre los días a primera ovulación, el papel del metabolismo hepático requiere más estudios para determinar su relación con la primera ovulación posparto.

SUMMARY

AGUILERA CÁRDENAS INGRID. First ovulation postpartum and metabolic profiles in dairy cattle differing in body condition score at parturition (directed by Dr. Carlos G Gutiérrez Aguilar)

The objective of this study was to determine the existing relationship between body condition score (BCS) at calving, ovarian activity and serum concentrations of insulin and metabolites. Eighteen multiparous eight-month pregnant cows, weighing 650 kg, were allocated according to their BCS at calving to one of two groups. Low moderate group (LM) with BC between 2-2.5 and the high moderate group (HM) with BC between 3-3.5 points. Metabolite concentration were measured from blood samples withdrew weekly between parturition and eight weeks postpartum. Glucose, insulin, cholesterol, triglyceride and blood urea nitrogen were measured as indicators of food intake. Total serum protein and albumin were measured as indicators of nutritional status. Free fatty acids were measured as indicators of fat mobilisation. Conjugated bilirubin and aspartate aminotransferase (AST) were measured as indicators of hepatic function. Progesterone was measured from milk samples collected thrice a week. Body condition score was estimated weekly. Changes in BCS (0.73 ± 0.08) and milk yield adjusted at 75 days postpartum (2740.07 ± 171.35 kg) did not differ between groups ($P > 0.05$). First ovulation postpartum occurred later ($P = 0.04$) in HM group (45.1 ± 4.1 days) than in LM group (32.5 ± 4.4 days). Regression analysis of metabolites for each individual cow showed an inverse relationship between albumin concentration on week two and first ovulation postpartum (regression coefficient = -8.83d/g/dL ;

Key words: Body condition score, first ovulation postpartum, metabolic profile.

P=0.07). Similarly, conjugated bilirubin had a direct relationship with first ovulation postpartum (regression coefficient = 8.85d/mg/L; P=0.09). It was concluded that despite the lack of difference in BC loss and that metabolites concentrations remained within the reported range, HM cows delay more to reinitiate postpartum ovarian activity. Due to the relationship found between conjugated bilirubin and albumin concentration with first ovulation postpartum we suggest that a higher degree of hepatic compromise hampers the reinitiation of ovarian activity and that the role of hepatic metabolism on postpartum ovarian activity should be analysed further.

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

PÁGINAS

Figura 1. Cambios de condición corporal durante el transcurso de las ocho semanas posparto, de vacas que paren en condición corporal moderada (CCM) ó alta (CCA)	28
Figuras 2. Concentraciones sanguíneas de albúmina (a), aspartato amino transferasa (AST) (b), glucosa (c), insulina (d), nitrógeno ureico (e), colesterol (f), triacilglicerol (g), proteínas totales (h), ácidos grasos libres (AGL) (i), y bilirrubina directa (j) durante la semana 1 preparto y hasta la semana 8 posparto en vacas con condición corporal alta o media al parto. Páneles donde solo se presenta una línea, representa la conjunción de ambos grupos de CC (a-j).	32
Cuadro 1. Ingredientes que conforman la dieta de las vacas en las últimas dos semanas de gestación.	46
Cuadro 2. Evaluación nutricional de la dieta aportada a vacas en las últimas dos semanas de gestación	46
Cuadro 3. Ingredientes que conforman la dieta de las vacas en las primeras dos semanas de lactación.	47
Cuadro 4. Evaluación nutricional de la dieta aportada a vacas en las dos primeras semanas de lactación.	47
Cuadro 5. Ingredientes que conforman la dieta de las vacas a partir de la segunda semana de lactación y hasta el décimo mes de gestación.	48
Cuadro 6. Evaluación nutricional de la dieta aportada a vacas a partir de la segunda semana de lactación y hasta el décimo mes de gestación.	48
Cuadro 7. Coeficientes de correlación de Pearson, para tiempo (semanas) y las concentraciones de analitos desde la semana 1 preparto a la 2 posparto	49

Cuadro 8. Coeficientes de correlación de Pearson, para tiempo (semanas) y las concentraciones de analitos desde la semana 3 posparto a la 8

50

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

La eficiencia reproductiva es uno de los factores más importantes que determina el óptimo rendimiento de un hato lechero. El intervalo entre partos es el parámetro más utilizado para valorar la eficiencia reproductiva en el bovino (Opsomer *et al.*, 1996). Tradicionalmente, un intervalo entre partos de un año aproximadamente, es considerado económicamente aceptable para vacas lecheras (Dijkhuizen *et al.*, 1984/1985; Schmidt, 1989). Para lograrlo, una vaca posparto debe reanudar su actividad ovárica, para ser observada en calor, ser servida y concebir dentro de los 85 días después del parto (Savio *et al.*, 1990a). Sin embargo, en hatos modernos con vacas altas productoras (produciendo 8000 - 12000 kg de leche por lactación), el intervalo entre partos es de 400-450 días, ya que la lactación actualmente tiene persistencia en producciones por un largo tiempo (Roche y Diskin, 1999). La posibilidad biológica de una nueva concepción alrededor de los 85 días posparto basada en un trabajo conjunto y coordinado del hipotálamo, la pituitaria, los ovarios y el útero, resultando en una excelente involución uterina y una temprana reanudación de la función ovárica (Lamming *et al.*, 1981; Nett, 1987). Pero, en los últimos años la disminución de los niveles de fertilidad en vacas lecheras está asociada con incremento en la producción de leche anual, debida a un mejor manejo y un incremento del mérito genético (Roche y Diskin, 1999; Lucy y Croker, 1999).

La nutrición juega un papel muy importante en el comportamiento reproductivo posparto de las vacas lecheras, ya que está involucrada en la regulación de la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (**GnRH**) y por consiguiente, de la frecuencia de pulsos de la hormona luteinizante (**LH**) (Roche *et al.*, 1992). Los elementos

nutricios obtenidos por el consumo alimenticio y las reservas grasas son utilizadas como una fuente de energía en las funciones corporales y producción de leche, pero los requerimientos energéticos de la vaca en lactancia temprana exceden su consumo de energía (Beam y Butler, 1998). Además, el consumo de alimento se ve disminuido en el posparto temprano y se incrementa lentamente conforme avanza el periodo posparto (Beam y Butler, 1998). La causa de esta disminución en el consumo de alimento está relacionada con cambios hormonales, que ocurren alrededor del parto (Rukkwamsuk *et al.*, 1999). Debido a esto las vacas utilizan sus reservas de energía corporal, ocasionando pérdida de peso durante las primeras semanas después del parto; caracterizándose este periodo por un balance energético negativo (**BEN**) (Staples *et al.*, 1990; Beam y Butler, 1998).

Lucy *et al.* (1998), encontraron que las alteraciones en el equilibrio metabólico y endocrino de la lactación temprana pueden producir afecciones en el desarrollo folicular que podrían tener un impacto negativo en la fertilidad de vacas lecheras, a través de periodos anovulatorios prolongados. Se ha observado que la frecuencia de pulsos de LH se incrementa conforme aumenta el balance energético (**BE**) (Roche *et al.*, 1992), es decir al salir del punto más bajo de BEN (nadir) (Butler y Smith, 1989)

La escala de condición corporal es un parámetro aceptado para estimar la condición física de una vaca, y proporciona información indirecta relacionada con la cantidad de reservas grasas (Wagner *et al.*, 1988). Se ha observado que las vacas que paren con condición corporal alta (4 ó mayor) caen en un balance energético negativo más profundo que aquellas que lo hacen en una condición corporal moderada. Esto se debe a que las vacas que fueron sobrealimentadas durante el periodo

seco tienen un menor consumo alimenticio durante la lactación temprana, una mayor movilización de tejido corporal, y mayor pérdida de peso (Treacher et al 1986; Lotan *et al.*, 1998), ocasionando que alcancen y salgan del nadir de BE en un periodo más prolongado (Beam y Butler, 1999). Por lo anterior, Butler (2000) afirma que las vacas que pierden un punto o más de condición corporal después del parto, se encuentran en mayor riesgo de incrementar el tiempo a la primera ovulación posparto.

Se ha postulado que el efecto del estado nutricional sobre la reproducción es mediado por la acción de señales metabólicas que son reconocidas por el cerebro y sirven como indicador del estado metabólico, sin embargo, la identidad de estas señales no ha sido aclarada (Barash *et al.*, 1996). Por lo tanto, este trabajo buscó la relación existente entre la condición corporal al parto, el inicio de la actividad ovárica posparto y los niveles sanguíneos de insulina, glucosa, nitrógeno ureico, colesterol, triacilglicerol, albúmina, proteínas totales, ácidos grasos libres (**AGL**), bilirrubina directa, y aspartato amino transferasa (**AST**), con el fin de determinar algún parámetro que sirva como predictor de reinicio de la actividad ovárica en vacas lecheras altas productoras.

HIPOTESIS

El intervalo del parto a la primera ovulación difiere entre animales que paren con condición corporal alta o moderada.

Los niveles de analitos son diferentes para vacas que paren con condición corporal alta o condición corporal moderada.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la relación que existe entre la condición corporal al parto, el inicio de la actividad ovárica posparto y los niveles de analitos séricos (insulina, glucosa, albúmina, proteínas totales, AGL, colesterol, triacilglicéridos, nitrógeno ureico, bilirrubina directa, AST –estos dos últimos como indicadores de función hepática-) en vacas lecheras altas productoras.

Capítulo 2

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. REINICIO DE ACTIVIDAD OVÁRICA POSPARTO

Existe evidencia, tanto por estudios ultrasonográficos como por palpación rectal, que hay crecimiento folicular en los primeros días posparto (Adams *et al.*, 1993; Ginther *et al.*, 1996). Sin embargo, en este periodo, se presenta la regresión de folículos menores de 8 mm de diámetro, sin llegar a ovular (Roche *et al.*, 1992). Fisiológicamente los eventos que llevan al desarrollo de un FD en un ciclo estral normal, involucran el reclutamiento de un grupo de folículos dependientes de gonadotropinas para su desarrollo. De este grupo, un folículo es seleccionado para crecer, convirtiéndose en dominante (folículo mayor de 10 mm, el cuál suprime el crecimiento de los folículos subordinados), llegando a ovular si se desarrolla al mismo tiempo en que ocurre la regresión del cuerpo lúteo (**CL**) (Roche *et al.*, 1992; Webb *et al.*, 1999). En un estudio realizado por Beam y Butler (1997) encontraron que las concentraciones de hormona folículo estimulante (**FSH**) se incrementaron a valores máximos sobre los días 4-5 posparto después de que las concentraciones de estrógenos gestacionales (estrón y estradiol) disminuyeron. Este pico en las concentraciones de FSH fue seguido inmediatamente por la iniciación de una oleada folicular y el desarrollo de un FD. El folículo dominante desarrollado en la etapa inmediata después del parto puede ovular si existe secreción pulsátil adecuada de LH. Esta secreción de LH pudiera ser afectada por el estatus nutricional. En vacas lecheras altas productoras que experimentan un BEN, la LH pero no la FSH, parece ser deficiente después de la primera semana posparto (Lamming *et al.*, 1981; Beam y Butler, 1997).

Con base en imágenes de ultrasonido y perfiles de progesterona, la primera ovulación posparto en vacas lecheras con puerperio normal, puede ocurrir tan temprano como 15 a 21 días después del parto (Rajamahendran y Taylor, 1990; Savio *et al.*, 1990a). Sin embargo, el promedio se encuentra entre 17-42 días (Butler y Smith, 1989; Staples *et al.*, 1990). El reinicio de la actividad ovárica después del parto está altamente correlacionado con la aparición del primer FD (Savio *et al.*, 1990b).

2.1.1. Control endocrino de la actividad reproductiva en vacas posparto.

La función ovárica está estrechamente controlada por el eje hipotalámico-pituitario, a través de la secreción de gonadotropinas, y este a su vez es controlado por la secreción de hormonas esteroides por el ovario (Roche *et al.*, 1998). Se ha demostrado que la secreción de LH es el factor limitante más importante en la reanudación de la actividad ovárica posparto. Durante la preñez y alrededor del parto, los altos niveles de esteroides plasmáticos suprimen la secreción de gonadotropinas por el eje hipotalámico-pituitario, llegando a una marcada disminución de las concentraciones de LH alrededor del parto (Patel *et al.*, 1999). Estos cambios en las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas pueden ocasionar cambios en la sensibilidad de la pituitaria a la estimulación por GnRH después del parto (Peters y Lamming, 1986).

Inmediatamente después del parto, los niveles FSH y LH se encuentran disminuidos. Sin embargo, en la mayoría de las vacas los niveles de FSH se incrementan al 5° día posparto y no se considera una limitante importante para la reanudación de la actividad ovárica (Crowe

et al., 1998). El incremento en FSH da como resultado el crecimiento folicular, la aparición del primer FD (Savio *et al.*, 1990a, y McDougall *et al.*, 1995) y secreción de estradiol ovárico (Opsomer *et al.*, 1996). El incremento en el estradiol ovárico retroalimenta positivamente la secreción de LH haciendo a la pituitaria más sensible a la estimulación hipotalámica (Opsomer *et al.*, 1996). Este hallazgo fue confirmado por la administración exógena de GnRH en el posparto temprano. De este experimento es claro que la susceptibilidad de la pituitaria a la GnRH no es restaurada hasta el día 10 ó más posparto (Fernandes *et al.*, 1978).

Después de la inhibición provocada por gestación avanzada, los niveles de LH se recuperan tiempo después en comparación con los de FSH, sugiriendo un mecanismo diferente en el control de estas dos gonadotropinas en la vaca (Foster *et al.*, 1980). Las concentraciones normales de LH son reducidas durante los primeros días posparto, observándose una liberación pulsátil de baja amplitud y poca frecuencia (Schallenberger *et al.*, 1990). La frecuencia en la secreción pulsátil de LH aumenta de la 2ª a 3ª semana posparto (Beam y Butler, 1997). El inicio del primer ciclo estral se presenta cuando la frecuencia de la LH incrementa por lo menos 1 pulso/hora (Beam y Butler, 1997).

Como la interrelación endocrina entre ovarios y útero (secreción de prostaglandinas) se normaliza al tiempo en que termina la involución uterina, el primer ciclo estral fértil puede comenzar de 20 a 25 días posparto (Opsomer *et al.*, 1996). Sin embargo, los informes basados en perfiles de progesterona en leche de vacas recién paridas han mostrado un rango muy amplio en el intervalo de parto a primera ovulación. La dispersión tan grande observada en el intervalo a primera ovulación es debida principalmente al sin número de factores que influyen en la reanudación de la actividad ovárica posparto. De entre ellos los más

importantes son, el consumo de alimento (Beam y Butler, 1997) la producción de leche (Marion y Gier, 1968), el balance energético (Butler y Smith 1989, Staples *et al.*, 1990), enfermedades metabólicas posparto (Haraszti *et al.*, 1985; Huszenicza *et al.*, 1988), edad y número de partos de la vaca (Bulman y Lamming, 1978), tipo de instalaciones (Opsomer *et al.*, 1996) y raza (Larsson *et al.*, 1984; Masilo *et al.*, 1992).

Es evidente que uno de los pre-requisitos para reanudar la ciclicidad ovárica posparto en vacas es el incremento en frecuencia pulsátil de la LH (Lamming *et al.*, 1981). Se ha demostrado también que vacas con buena condición corporal tiene mayor frecuencia pulsátil de LH en el periodo posparto, que aquellas que llegan al parto con menor condición corporal (Malven, 1984; Canfield y Butler, 1991).

En varios estudios se ha visto que los cambios de CC presentan la relación inversa entre balance energético y función ovárica posparto; las vacas que pierden más CC durante las primeras semanas posparto, experimentan un intervalo más prolongado a primera ovulación, que aquellas que pierden menor CC (Canfield *et al.*, 1990; Canfield y Butler, 1991; Beam y Butler, 1997 y 1998).

2.2. EFECTO DE LA CONDICIÓN CORPORAL SOBRE LA SECRECIÓN DE GONADOTROPINAS Y EL INICIO DE ACTIVIDAD OVÁRICA EN VACAS LECHERAS POSPARTO

Por lo expresado en el capítulo anterior, se aprecia que el reinicio de la actividad ovárica posparto estará influido por la CC de la vaca al momento del parto. Por tal motivo en los años 60 y 70s (Evans, 1978; Jefferies, 1961) se desarrolló una escala de medición de CC que se ha

venido utilizando como un método confiable y repetible para la medición de energía corporal y reservas grasas.

En vacas lecheras, la sobrealimentación durante el periodo seco conduce a una CC alta al parto y depresión del apetito después del parto (Rukkwamsuk *et al.*, 1999). Como consecuencia, las vacas lecheras altas productoras que paren con una CC alta sufren de un balance energético negativo posparto más severo que las vacas que tienen una CC moderada (Butler y Smith, 1989; Rukkwamsuk *et al.*, 1999).

La disminución en el consumo voluntario que se presenta en la lactación temprana, está asociada con pérdida de peso corporal, lo cual a su vez se manifiesta con cambios en condición corporal, movilización de grasa y un balance energético negativo, suprimiendo la secreción pulsátil de LH, al mismo tiempo que se reduce la susceptibilidad del ovario en respuesta a la LH (Butler; 200). Los mecanismos por los cuales la nutrición tiene influencia sobre la reproducción en vacas en el periodo posparto permanecen inciertos, aunque se ha establecido que las reservas de energía corporal controlan el comportamiento reproductivo (Beam y Butler, 1999).

Aunque no se ha encontrado consenso en cuanto a la CC con la que las vacas productoras de leche deben llegar al parto, en general, una CC de 3-3.5 en una escala del 1-5, se considera como óptima (Wildman *et al.*, 1982; Gearhart *et al.*, 1990). Así, se ha observado que las vacas que llegan al parto con una CC >4 presentan mayor incidencia de distocias, retención placentaria, fiebre de leche, endometritis y quistes ováricos, comparadas con vacas que llegaron al parto con una CC >2 y <4 (Gearhart *et al.*, 1990; Heuer *et al.*, 1999). Gillund *et al.* (2001) encontraron que las vacas con CC al parto ≥ 3.5 fueron 2.5 veces más susceptibles de padecer cetosis comparadas con vacas de CC

≤3.25. Staples *et al.* (1990) asociaron la buena condición corporal con periodos anéstricos cortos. La mayoría de los autores coinciden que es la pérdida de CC después del parto, la que se relaciona más estrechamente con el comportamiento reproductivo y de salud posparto. La pérdida de una unidad de CC (en la escala de cinco puntos) durante la lactación temprana ha sido relacionada con disminución de la fertilidad que puede llegar a ser de hasta 28% (Butler, 2000). Gillund *et al.* (2001) encontraron que las vacas que pierden ≥ 0.5 unidades de CC, tienen más problemas para concebir en la primer inseminación artificial, que las vacas que pierden ≤ 0.5 unidades de CC. También asociaron la pérdida de CC durante el periodo posparto con un prolongado intervalo parto-concepción y un incremento en el número de inseminaciones artificiales por concepción. Igualmente, se ha observado una mayor tasa de distocias y desechos en vacas que pierden ≥ 1.0 unidades de CC (Gerarhart *et al.*, 1990).

2.2.1. Balance energético posparto.

En el contexto del posparto de la vaca lechera, el balance energético es la diferencia entre el consumo dietario de la energía utilizable y el gasto de energía requerido para el mantenimiento corporal y la síntesis de leche (Beam y Butler, 1999). Debido a la disminución del consumo de alimento aunado al aumento en la producción de leche, las vacas altas productoras experimentan un periodo variable de balance energético negativo durante la lactación temprana que es caracterizado por la pérdida de peso corporal y movilización de almacenes de grasa (Bauman y Currie, 1980; Butler, 2000). El balance energético negativo puede persistir por 10-12 semanas (Butler *et al.*, 1981). Igualmente, una alta producción de leche ha sido asociada con baja eficiencia

reproductiva (Nebel y McGillard; 1993). Sin embargo, a pesar de la aparente relación negativa entre la tasa de concepción y la producción de leche, las mediciones de la actividad reproductiva en varios estudios, han sido relacionadas más estrechamente al balance energético que a la producción de leche. Butler y Smith, (1989) y Staples *et al.* (1990), reportaron que vacas anéstricas tienen un balance energético más negativo que las vacas que reiniciaron actividad cíclica ovárica antes del día 60 posparto, a pesar de tener una menor producción de leche y menor consumo de alimento. Un incremento en la utilización de reservas energéticas corporales para producción de leche ha sido asociado con intervalos de ciclicidad ovárica más prolongados (Staples *et al.*, 1990). En efecto, Villa-Godoy *et al.* (1988), encontraron que mucha de la variación en balance energético durante la lactación temprana se relaciona más frecuentemente con el consumo energético ($r=0.73$) que con la producción láctea ($r=-0.25$). La relación inversa entre balance energético y función ovárica posparto, puede ser expresada más claramente por cambios en la condición corporal; así, las vacas que pierden mayor condición corporal durante el primer mes posparto experimentan intervalos más prolongados a la primera ovulación (Beam y Butler 1997, 1998).

2.2.2 Balance energético y días a primera ovulación

Debido a que el número de ciclos estrales anteriores a la inseminación artificial han mostrado influencia sobre la tasa de concepción (Thatcher y Wilcox, 1973; Lucy *et al.*, 1992), la duración del intervalo anovulatorio posparto puede servir como una medición de los efectos del balance energético en la actividad reproductiva. Sin embargo, las observaciones de los efectos del balance energético en el

número de días a la primera ovulación han sido inconsistentes. Tanto el nivel del balance energético negativo (Butler *et al.*, 1981; Staples *et al.*, 1990), como los cambios que ocurren en el balance energético (Candfield y Butler, 1990; Canfield *et al.*, 1990; Beam y Butler, 1999) han sido implicados en el retardo de la ocurrencia del primer evento ovulatorio después del parto. En vacas lecheras el rápido incremento en requerimientos energéticos al inicio de la lactación resulta en un BEN que inicia inclusive unos cuantos días antes del parto y usualmente alcanza su nivel más negativo (nadir), aproximadamente 2 semanas después (Butler y Smith, 1989; Bell, 1995). El nadir de BEN ha sido relacionado con el momento en que ocurre la primera ovulación (Beam y Butler, 1999; Butler, 2000). Butler *et al.* (2000) encontraron que la ovulación y el inicio de la primera fase lútea normal ocurrió aproximadamente 10 días después del nadir de BE. Durante este intervalo de 10 días, se observó una elevación transitoria en las concentraciones séricas de progesterona (0.7 a 1.9 ng/ml con duración de 4 a 11 días) antes de presentar una ovulación normal en 8 de 13 vacas. Después de la ovulación se observó un patrón de concentraciones de progesterona característico de fase lútea. En otros estudios, el BEN durante las primeras 3 semanas de lactación ha sido altamente correlacionado con el intervalo a primera ovulación. La severidad y duración del BEN es relacionada principalmente con consumo de materia seca y la tasa de incremento de este consumo durante la lactación temprana (Villa-Godoy *et al.*, 1988; Staples *et al.*, 1990). Es posible que las vacas que llegan al parto con CC alta exhibirán una disminución del apetito y desarrollo más severo de BEN que las vacas con condición moderada (Rukkwamsuk *et al.*, 1999). Como resultado, las vacas con CC alta sufren un incremento de movilización de grasa corporal y

acumulo de mayor cantidad de triacilglicerol en el hígado (Rukkwamsuk *et al.*, 1999), que son asociados con un mayor intervalo a la primera ovulación y la reducción de la fertilidad (Butler y Smith, 1989; Rukkwamsuk *et al.*, 1999).

2.2.3. Efecto del balance energético en la dinámica folicular

La primera ovulación posparto refleja la reanudación y término del desarrollo folicular preovulatorio y la recuperación de condiciones hormonales alteradas durante la gestación tardía (Butler, 2000). Varios estudios realizados anteriormente han dejado claro que el encontrar desarrollo folicular en forma de oleadas ocurre durante toda la gestación, pero que ninguno de los folículos crece más allá de 6 mm de diámetro (Adams *et al.*, 1993; Ginther *et al.*, 1996; Beam y Butler, 1997). Esta disminución en el diámetro de los folículos durante las últimas semanas de gestación fue asociada con secreción alterada de FSH, probablemente como resultado del aumento en las concentraciones de estrógenos gestacionales (estradiol y estrona; Adams *et al.*, 1993). Una vez que declinaron las concentraciones de estradiol gestacional, el promedio diario de las concentraciones plasmáticas de FSH se incrementó a valores pico en los días 4-5 posparto (Beam y Butler, 1997). Este pico de FSH fue seguido inmediatamente por la iniciación de una nueva oleada folicular y el desarrollo del primer folículo dominante posparto (Butler, 2000). El periodo de dominancia folicular ocurrió en todas las vacas examinadas, a pesar de que el promedio de balance energético negativo fue $-7.5 \text{ Mcal día}^{-1}$ durante las primeras tres semanas posparto. Al parecer la iniciación de las oleadas foliculares en el posparto temprano en vacas no es alterado por el balance energético negativo, éste ocurre en respuesta al restablecimiento de oleadas

periódicas de FSH al final de la gestación (Butler, 2000). Las vacas lecheras en producción que experimentan balance energético negativo, parecen ser deficientes en LH, pero no en FSH, después de la primera semana posparto (Lamming *et al.*, 1981; Beam y Butler, 1997), por lo que la iniciación de una oleada folicular y formación de un gran folículo dominante durante el BEN no es una limitación para la primera ovulación. Sin embargo, tres vías de desarrollo folicular han sido descritas (Beam y Butler, 1997): (1) ovulación del primer folículo dominante (16-20 días posparto); (2) primer folículo dominante no ovulatorio seguido de atresia y una nueva oleada folicular; (3) falla del folículo dominante para ovular convirtiéndose en quístico. El patrón 1 (ovulatorio) y el 3 (quístico) son caracterizados por desarrollo de folículos dominantes con actividad estrogénica, mientras el patrón 2 (anovulatorio) es caracterizado por crecimiento de folículos que producen poco estradiol y sufren atresia (Beam y Butler, 1997). El desarrollo de un folículo dominante no ovulatorio o de un folículo quístico prolonga el intervalo a la primera ovulación hasta 40-50 días posparto.

Los efectos del estrés energético sobre el eje hipotálamo-pituitario-ovárico han sido examinados primariamente en el hipotálamo y pituitaria anterior, y la reducción de la secreción pulsátil de LH ha sido mostrada como resultado de un consumo inadecuado de energía dietaria por tiempo prolongado en vacas productoras de carne posparto (Perry *et al.*, 1991).

El restablecimiento de un patrón de secreción pulsátil de LH contribuye al desarrollo del folículo preovulatorio, y su función es reconocida como un evento clave en el retorno de ciclicidad ovárica por la vaca lechera posparto en BEN (Lamming *et al.*, 1981; Malven, 1984;

Candfield y Butler, 1991). La frecuencia de los pulsos de LH es más baja durante la primera oleada de desarrollo folicular posparto (días 8-12) en vacas que desarrollan un folículo dominante anovulatorio, comparado con vacas que desarrollan un folículo dominante ovulatorio (Beam y Butler, 1994). Por lo general, parece que la recuperación del contenido de LH en la pituitaria y la sensibilidad de ésta a la GnRH se completa aproximadamente en el día 10 posparto en vacas lecheras (Lamming *et al.*, 1982; Malven, 1984), y evidencias disponibles a través de estudios en distintas especies sugieren al hipotálamo como el foco de atención del efecto primario de la disminución de consumo energético (Schillo, 1992). En vacas lecheras en posparto temprano, la menor actividad del generador pulsátil de GnRH es expresada como una disminución del soporte pulsátil de LH para la esteroidogénesis folicular, necesaria para la inducción de un pico de LH y ovulación. Sin embargo, una aparente baja frecuencia pulsátil de LH (2 pulsos por 6 h) es adecuada para sostener el desarrollo morfológico de folículos dominantes en la segunda semana posparto (Beam y Butler, 1999). Esta observación es consistente con el crecimiento y diferenciación de folículos dominantes competentes durante la fase media lútea del ciclo estral en vacas cuando la frecuencia de pulsos de LH es baja (Rahe *et al.*, 1980; Driancourt *et al.*, 1991).

2.3. SEÑALES METABÓLICAS Y HORMONALES QUE PUEDEN INTERVENIR EN EL REINICIO DE LA ACTIVIDAD OVÁRICA POSPARTO.

Es razonable predecir que existen factores señalizadores del estado energético hacia el eje hipotálamo-hipofisiario-ovárico, y que el aumento o disminución de estos factores son parte del medio metabólico y endocrino característico de un balance energético negativo en la lactación temprana (Beam y Butler, 1999). Por lo tanto, en los estudios donde se han investigado señales metabólicas potenciales de la actividad ovárica, se han enfocado primariamente en los metabolitos sanguíneos y en las hormonas metabólicas, sabiendo que éstos fluctúan durante estados metabólicos distintos. El incremento de ácidos grasos libres (AGL) debido a la movilización grasa que ocurre alrededor del parto (Cardóniga-Valdiño *et al.*, 1997; Rukkwamsuk *et al.*, 1999), ha sido sugerido como una señal potencial del estatus energético que influye sobre la iniciación de la primera ovulación (Canfield *et al.*, 1990; Canfield y Butler 1991). Sin embargo, AGL y glucosa plasmáticos fueron similares durante las primeras 2-3 semanas posparto en vacas lecheras que desarrollaron un folículo dominante ovulatorio o un folículo anovulatorio posparto en la primer oleada (Beam y Butler, 1997, 1998). Como se mencionó anteriormente, las vacas que llegan al parto con una CC alta, disminuyen su apetito y llegan a tener un BEN más profundo que aquellas que lo hacen en una CC moderada. Este BEN más profundo ocasiona una mayor movilización de reservas grasas y por consiguiente mayor incremento de AGL. Estos son transportados hacia el hígado para ser esterificados con glicerol transformándose en triacilglicéridos (Herdt, 2000; Andrews, 1998). El exceso de triacilglicérols sobrepasa la habilidad metabólica del hígado y se acumulan en forma de pequeñas

gotas dentro de los hepatocitos, ocasionando lipidosis hepática ó hígado graso (Andrews, 1998). Reid y Roberts (1983), mencionan que las vacas que tienen más del 20% de grasa acumulada en el hígado presentan la condición de lipidosis hepática. Jorritsma *et al.* (2001) clasificaron la lipidosis hepática en baja (de 0-50 mg de grasa acumulada por gramo de tejido hepático), moderada (de 51-100 mg/g) y alta (>100mg/g). La severidad del daño hepático puede ser indicada por cambios en las concentraciones de algunos analitos, tales como el aumento de la bilirrubina directa (Tietz, 1987) y de los AGL, así como el de algunas enzimas hepáticas como la AST, y la disminución de glucosa e insulina (Reid, 1986).

La glucosa es la única fuente de energía utilizable por el sistema nervioso central, por ello Short y Adams (1998), consideran que las concentraciones de glucosa circulantes pueden ser un factor que modifique la función del hipotálamo, y por lo tanto la producción de GnRH. En efecto, se ha demostrado que la carencia de glucosa ocasiona una disminución en los pulsos de LH. En un estudio en el que se utilizó un inhibidor metabólico de la glucosa, el 2-deoxy-D-glucosa, se observó que se impedía la ocurrencia del estro y la formación del cuerpo lúteo, sugiriendo que la glucosa parece ser necesaria para la función reproductiva en el ganado (McClure *et al.*, 1978). Igualmente, cuando a vacas productoras de carne se les administró phlorizina que induce glucosuria y por lo tanto causa hipoglicemia, éstas tuvieron una disminución de la amplitud de los pulsos de LH (Rutter y Manns, 1987). Rabiee *et al.* (1999) evidenciaron que la glucosa es una de las principales fuentes de energía en el ovario bovino, ya que observaron una correlación directa entre la utilización de glucosa por el ovario y el oxígeno, indicando oxidación inmediata de la glucosa. Sin embargo, a

pesar de lo arriba expuesto donde los cambios en las concentraciones de glucosa alteran la secreción de LH y la función ovárica, no se ha encontrado una relación clara entre la glucosa y la primera ovulación posparto. Harrison *et al.* (1990) observaron que a pesar de existir una correlación positiva entre el balance energético y las concentraciones de glucosa durante las primeras semanas de lactación, las concentraciones de glucosa de vacas altas productoras no se correlacionaron con los días a la primera ovulación o al primer estro posparto.

Otros mediadores potenciales de los efectos de la nutrición sobre la reproducción pueden ser los factores de crecimiento parecidos a la insulina (**IGF-I y II**) (Webb *et al.*, 1999; Armstrong, 2000). Inicialmente, se publicaron artículos que señalaban que vacas que desarrollaron un folículo dominante ovulatorio y estrogénicamente activo tenían más IGF-I circulando durante las primeras dos semanas posparto, que aquellas vacas que desarrollaron folículo dominante, estrogénicamente activo pero que no ovuló (Beam y Butler, 1997, 1998). Sin embargo, se ha comprobado que la IGF-I en el folículo proviene de la circulación, ya que el folículo no lo produce (Gutiérrez *et al.*, 1997a; Armstrong *et al.*, 2000). Esto concuerda con Echterkamp *et al.* (1990), que encontraron una correlación positiva entre IGF-I circulante y la del líquido folicular. Al igual que la insulina (Gutiérrez *et al.*, 1997b), se sabe que la IGF-I afecta la función de células foliculares *in vitro*, estimulando la esteroidogénesis y proliferación tanto de las células de la teca (Campbell *et al.*, 1998) como de la granulosa (Gutiérrez *et al.*, 1997b). En células de la teca de los bovinos, la IGF-I incrementa el número de sitios ligadores de LH y aumentan la producción de progesterona y androstenediona inducida por LH *in vitro* (Spicer y Stewart, 1996; Stewart *et al.*, 1996). Tanto el estradiol como

la FSH incrementan el número de receptores de IGF-I en las células de la granulosa, los cuales han mostrado estar en mayor número en folículos grandes, comparados con folículos pequeños (Spicer *et al.*, 1994). Sin embargo, la actividad del IGF-I es regulada por el folículo, mediante la producción de proteína ligadora para IGF-I (Gutiérrez *et al.*, 1997a; Armstrong, 2000).

En estudios previos (Beam y Butler, 1997) realizados en las dos primeras semanas posparto en vacas altas productoras, se observó un incremento en concentraciones circulantes de hormona de crecimiento (**GH**) y una disminución en las concentraciones de insulina y receptores hepáticos de GH en el hígado (Pell y Bates, 1990). En otro estudio se observó que la relación insulina:GH fue incrementada durante la primera semana posparto en vacas que tuvieron folículos dominantes que ovularon (Beam y Butler, 1997). Estos resultados indican que las diferencias hormonales en la primera semana posparto pueden influir la función folicular durante la primera oleada posparto. Existen evidencias de que la insulina estimula la proliferación y esteroidogénesis de las células foliculares *in vitro*, en una variedad de especies incluyendo a la vaca (Gutiérrez *et al.*, 1997b). Además, concentraciones más altas de insulina se relacionan con ovulación más temprana posparto (Gutiérrez, 1997c). Es posible que pequeños incrementos en las concentraciones de insulina puedan tener efectos importantes durante varios estadios tempranos de desarrollo folicular. Igualmente, un incremento de la relación insulina:GH inmediatamente posterior al parto podría contribuir a mayor producción de IGF-I hepático, resultando en un incremento en la cantidad circulante de este factor de crecimiento en el posparto temprano (McGuire *et al.*, 1995).

La albúmina es la proteína más abundante en el plasma; es sintetizada por el hígado, y sus concentraciones dependen del consumo de proteína, por lo que frecuentemente es utilizada junto con las proteínas totales para valorar el estatus nutricional en humanos (Tietz, 1987). Varios autores han observado que las causas que provocan bajas concentraciones de albúmina y/o la inhabilidad de mantener estables sus niveles posparto, interfieren con la función reproductiva, tanto en vacas productoras de carne (Kroetz y Neves, 1984), como de leche (Manston *et al.*, 1975; Carroll *et al.*, 1988).

El nitrógeno ureico es un producto final del catabolismo proteico en el hígado y está directamente relacionado con el contenido y degradabilidad de la proteína cruda en la dieta. Cualquier factor que incremente el catabolismo de proteína puede ocasionar una elevación del nitrógeno ureico plasmático (Goldston *et al.*, 1981). Un exceso en el consumo de proteína cruda y un aumento en las concentraciones séricas del nitrógeno ureico, pueden afectar directamente la tasa de concepción alterando el medio ambiente uterino, el transporte espermático y las concentraciones de progesterona séricas (Canfield *et al.*, 1990). En efecto, en algunos estudios donde se han diseñado dietas que provoquen un aumento del nitrógeno ureico, se ha visto que se disminuye el porcentaje de concepción y de embriones que llegan a desarrollarse hasta blastocito (Sinclair *et al.*, 2000).

Otros analitos que pueden tener efecto sobre la reproducción, son los triglicéridos y el colesterol circulantes. En vacas productoras de carne se encontró que la duración del primer cuerpo lúteo posparto fue mayor y las concentraciones de progesterona circulantes fueron más elevadas en vacas alimentadas con dietas isocalóricas con alto contenido de lípidos, que en vacas con dietas con bajo contenido de lípidos

(Williams, 1989). Dichas dietas también provocaron un aumento en las concentraciones de colesterol y triglicéridos circulantes. Debido a que el colesterol es precursor de la progesterona, se postuló que las dietas altas en lípidos pueden favorecer la función lútea mediante la elevación de la disponibilidad de colesterol (Williams, 1989).

Debido a que no es clara cual es la relación entre el metabolismo general y el reinicio de actividad ovárica posparto, en el presente estudio se busca conocer la diferencia que existe entre las concentraciones de analitos, en dos grupos con diferente condición corporal (alta y moderada), y si estas diferencias influyen los días a primera ovulación posparto.

Capítulo 3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 ANIMALES EXPERIMENTALES

El estudio se realizó en los meses de febrero a mayo de 2000, en la explotación "Ex-Hacienda San Sebastián", ubicada en Santiago Tequixquiac, Edo. de México. El establo cuenta con 1200 vacas Holstein Friesian, alojadas en diferentes corrales según su producción o estado fisiológico. La producción promedio es 9692 kg de leche anual por vaca en tres ordeños.

Se seleccionaron 18 hembras multiparas (promedio de 2.7 ± 0.3 partos) clínicamente sanas, con ocho meses de gestación, y un peso promedio de 650 kg. Dichos animales fueron clasificados de acuerdo a su CC en: grupo **CCM** (n=9) con una CC de 2 a 2.5 al que se le denominó CC moderada y en el grupo **CCA** (n=9) con CC de 3 a 3.5 al que se le denominó CC alta. Una semana antes del parto y hasta la octava semana posparto se determinó la condición corporal y se colectaron muestras semanales de sangre (25 ml), previo a la administración de la ración alimenticia. Además, cada quince días se midió la producción de leche y tres veces por semana se obtuvieron muestras de leche para la determinación de progesterona.

3.2 ALIMENTACIÓN

Los animales fueron alimentados con dietas integrales, de acuerdo al estado fisiológico o a la etapa de producción en que se encontraban. Dichas dietas se ofrecieron tres veces al día (8:00 am, 11:00 am y 3:00 pm), el sobrante fue recogido todos los días por la mañana y se calculó el consumo voluntario de materia seca (**MS**) por animal. En los quince

días previos a la fecha probable de parto se proporcionaba la dieta *ad libitum* (Dietas de cierre o de reto) y se calculó un consumo voluntario de materia seca por animal (MS/animal) de 12.28 kg aproximadamente, conteniendo 1.50 Mcal de Energía Neta de lactación (**ENI**), y 15.37% de proteína cruda. Los ingredientes que se utilizaron en esta dieta y su evaluación nutricional se enlistan en los cuadro 1 y 2 (Apéndice). A partir del parto y hasta 15 días posparto, se ofreció alimento *ad libitum*, calculando un consumo voluntario de 16.51 kg de MS/animal aproximadamente, de una dieta integral cuyo contenido fue de 1.64 Mcal de ENI/kg de MS y 17.97% de proteína cruda. Los ingredientes utilizados en esta dieta y su evaluación nutricional se enlistan en los cuadros 3 y 4 (Apéndice). Posterior a los 15 días posparto y hasta el séptimo mes de gestación (Dieta de producción, calculada para 45 kg de producción de leche) se ofreció una dieta *ad libitum* calculando un consumo de 25.30 kg de MS/animal aproximadamente conteniendo 1.73 Mcal de ENI y 17.73% de proteína cruda. Los ingredientes de esta dieta y su evaluación nutricional se enlistan en los cuadros 5 y 6 (Apéndice).

3.3 CONDICIÓN CORPORAL

La condición corporal se determinó semanalmente por un solo evaluador, utilizando la técnica descrita por Wildman *et al.* (1982), que consiste en la observación y palpación de las apófisis espinosas de la columna vertebral, en las áreas del lomo y de la grupa. Debido a que el isquión, el ileón, la parte superior de los procesos lumbares, y las terminaciones de las apófisis transversas presentan un recubrimiento muy delgado de tejido muscular, cualquier cubierta que se vea o sienta es la combinación de la piel y depósitos grasos. Las calificaciones de la

condición corporal varían de 1, una vaca sumamente delgada sin reservas grasas, a 5 en una vaca obesa.

3.4 MUESTREO SANGUÍNEO

Desde la semana 1 antes de la fecha probable de parto y hasta la semana 8 posparto, semanalmente se obtuvieron 25 ml de sangre mediante la punción de la vena yugular, en la mañana antes de que los animales ingirieran su primer alimento. Para la determinación de insulina se obtuvieron 10 ml de sangre en tubos al vacío conteniendo 100 μ l de citrato de sodio (0.35g/ml) como anticoagulante. Para la determinación de albúmina, colesterol, triacilglicéridos, nitrógeno ureico, AST, bilirrubina directa y AGL, se tomaron 10 ml de sangre en tubos sin anticoagulante. Para determinar glucosa se tomaron 5 ml de sangre con tubos que contenían 20 mg de oxalato de potasio. Las muestras fueron transportadas al laboratorio a una temperatura de 4°C donde se centrifugaron a 1500 x g durante 10 minutos para la separación del plasma o suero que se conservó a -20°C hasta su análisis.

3.5 DETERMINACIONES HORMONALES

Las concentraciones de progesterona se utilizaron para determinar el inicio de actividad ovárica posparto. Se consideró que un animal había reiniciado su actividad ovárica cuando se encontraron concentraciones de progesterona en leche ≥ 1 ng/ml en 3 muestras consecutivas o más (Canfield y Butler, 1991). Si para la semana 8 posparto había vacas que no hubiesen reiniciado actividad ovárica, se le asignó arbitrariamente el día 60 como día de reinicio de actividad ovárica. Antes del primer ordeño de la mañana, se desecharon los primeros chorros de leche y se obtuvieron 20 ml de leche total de los cuatro cuartos, en frascos de

plástico que contenían una pastilla de azida de sodio (8 mg). Las muestras se conservaron en refrigeración para posteriormente separar la grasa por centrifugación a 1500 x g a una temperatura de 3°C por 15 minutos; posteriormente se obtuvo la fracción sin grasa y se conservó a -20°C hasta la determinación de progesterona.

La insulina y la progesterona fueron determinadas por medio de radioinmunoensayo de fase sólida (Coat-A-Count; Roche, Switzerland) con un coeficiente de variación inter e intra ensayo de 11.43% y 7.31% para insulina y <1% y <1% para progesterona.

3.6 DETERMINACIONES DE ANALITOS

El análisis de los analitos se realizó por medio de fotolorimetría, (sistema Synchron CX-5, Beckman-Coulter). Para la glucosa, triacilglicéridos, colesterol, proteínas totales, bilirrubina directa e indirecta el sistema utiliza un método enzimático de punto final (Tietz, 1987), con coeficientes de variación de 3, 4.5, 4.5, 3, 7.5, 7% respectivamente. Para nitrógeno ureico, aspartato amino transferasa y (AST), dicho sistema utiliza un método enzimático cinético (Tietz, 1987), con coeficientes de variación de 4.5, 10, y 5.3% respectivamente.

La determinación de albúmina (Tietz, 1987) y AGL (Trout et al, 1960) se realizó utilizando un método enzimático de punto final (COBAS-MIRA, Roche, Switzerland), con coeficientes de variación de 2 y 2.7% respectivamente.

3.8 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

La condición corporal se analizó por medio del método de Wilcoxon (Zar, 1996). Los cambios en CC durante el posparto fueron analizados por medio de análisis de varianza incluyendo al tiempo, el grupo de CC y la interacción entre ellos, y por regresión incluyendo los anteriores más el efecto cuadrático del tiempo y la interacción con grupo. Para probar el efecto del grupo se utilizó como error al animal anidado dentro del grupo. El efecto de la CC al parto sobre los días a la primera ovulación se analizó por análisis de varianza, utilizando la producción de leche ajustada al día 75 como covariable, para lo cual se utilizó el método del Dairy Herd Improvement Association (DHIA) (Warwick and Legates, 1984), el cual calcula un estimado de la producción láctea a partir de registros para cada vaca. Brevemente, este método multiplica el primer pesaje de leche por los días en leche, posteriormente se calcula el promedio del primer y segundo pesaje y se multiplica por los días en leche y así sucesivamente, finalmente se suman todos los resultados obteniendo un acumulado. Posteriormente, se ajustó la producción láctea al día 75 posparto por medio de regresión lineal.

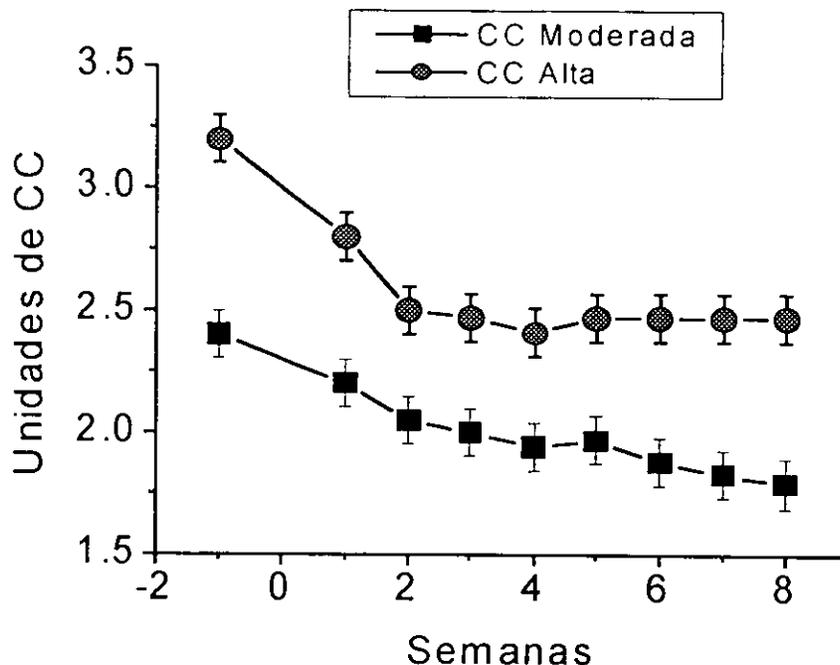
Para determinar el efecto de la CC al parto, el efecto de tiempo (semanas) y la interacción de tiempo y la CC al parto sobre cada uno de los analitos, se realizó un análisis de varianza multivariado para mediciones repetidas. Se realizaron correlaciones entre las concentraciones de insulina, AGL, glucosa, colesterol, triacilglicéridos, albúmina, proteínas totales, nitrógeno ureico y tiempo (semana -1 a 8 posparto). Además se realizó una regresión por pasos (step wise), utilizando el método que maximiza la R^2 , de las concentraciones de analitos en la semana 2 posparto con los días de reinicio de actividad ovárica posparto.

Capítulo 4

RESULTADOS

La CC difirió entre grupos previo al parto y ambos grupos perdieron CC después del parto ($P < 0.05$). Se encontró una interacción de tiempo por grupo ($P = 0.02$), observándose que la pérdida de CC en vacas con CCA fue más rápida que como ocurrió para las de CCM. En el grupo de CC alta al parto, se perdió 0.5 unidades de CC durante la primera semana posparto, siendo esta pérdida significativa ($P = 0.002$). La pérdida de CC en este grupo continuó entre la semana 1 y 2 posparto ($P = 0.03$). Sin embargo, no se presentaron cambios de CC después de la semana 2 posparto (efecto cuadrático de la variable tiempo; $P < 0.01$). En contraste, el grupo de CC moderada al parto mostró una reducción significativa ($P = 0.005$) en su CC hasta la segunda semana posparto y no fue hasta la semana 4 posparto cuando este grupo perdió en promedio 0.5 unidades de CC (ver Figura 1). Después de la 2ª semana la CC del grupo CCM no disminuyó por el resto del estudio ($P = 0.06$). Adicionalmente, hubo una interacción del grupo ($P = 0.027$) con el efecto cuadrático de tiempo, el cual resultó significativo para vacas en CCA. Sin embargo, no hubo diferencia entre los grupos ($P = 0.61$) en la pérdida total de CC y ésta fue de 0.73 ± 0.08 unidades de CC en promedio para ambos grupos.

Figura 1. Cambios de condición corporal, durante el transcurso de las ocho semanas posparto, de vacas que paren en condición corporal moderada (CCM) ó alta (CCA).



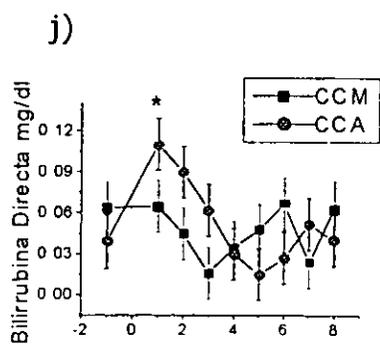
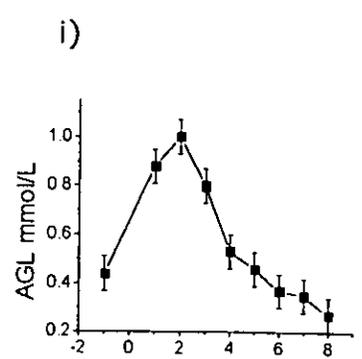
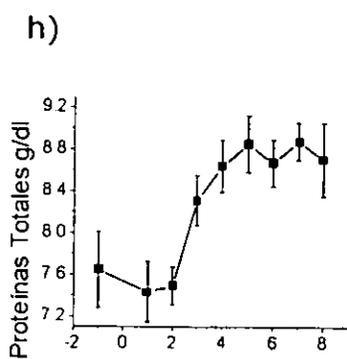
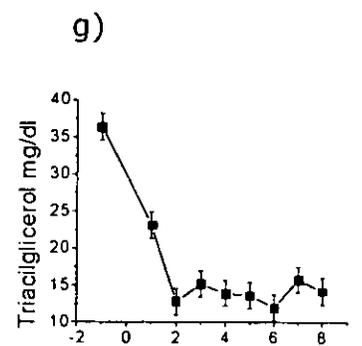
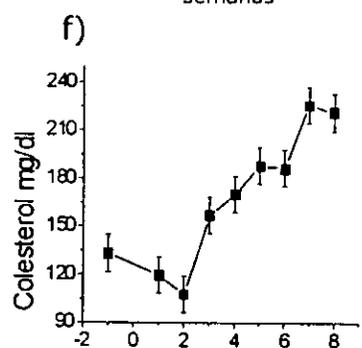
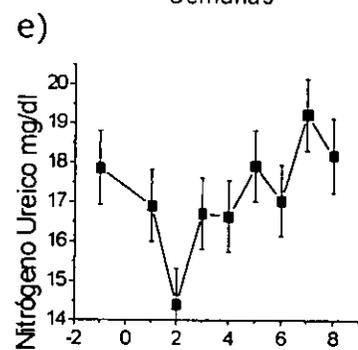
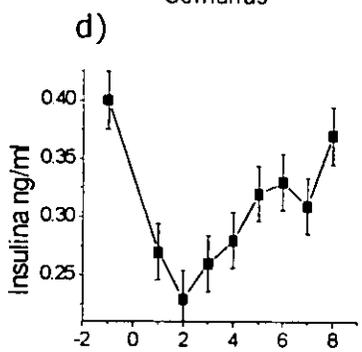
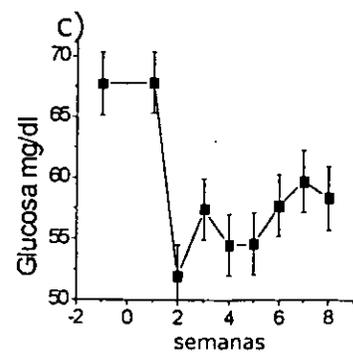
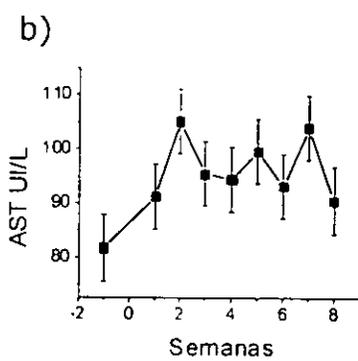
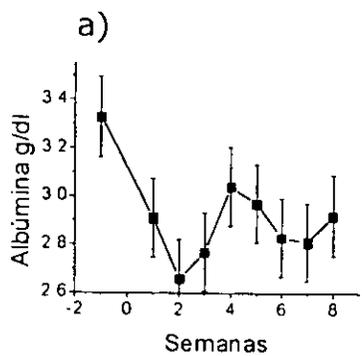
Al comparar el intervalo entre el parto y el reinicio de actividad ovárica posparto, se encontró que las vacas de CC moderada reiniciaron actividad ovárica (32.5 ± 4.4) más temprano ($P= 0.041$) que las vacas del grupo CCA (45.1 ± 4.1) observándose que 3 vacas de este grupo no reiniciaron actividad ovárica para el día 60. El análisis de covarianza mostró que la producción de leche ajustada al día 75 (2584.3 ± 250.52 kg las vacas con CCM; 2895.8 ± 237.48 kg en las vacas con CCA), no tuvo efecto sobre el intervalo del parto a la primera ovulación ($P=0.35$). Adicionalmente la producción láctea no difirió entre grupos (promedio 2740.07 ± 171.35 kg) ($P>0.05$).

Durante el periodo de estudio las concentraciones de glucosa, insulina, nitrógeno ureico, proteínas totales, colesterol, triacilglicerol, AGL y bilirrubina directa variaron sus concentraciones con el tiempo ($P < 0.05$). En cambio la albúmina (Figura 2a) y la AST (Figura 2b) no presentaron variaciones significativas ($P > 0.05$). Con respecto a la concentración de glucosa, ésta disminuyó significativamente en la semana 2 ($P = 0.008$) durante la cual alcanzó su nivel más bajo, permaneciendo sin variaciones significativas de ahí en adelante sin alcanzar sus niveles preparto (Figura 2c). Las concentraciones de insulina tuvieron una disminución notoria después del parto ($P < 0.0001$) llegando a su nadir en la semana 2, y posteriormente incrementándose paulatinamente hasta llegar a los valores preparto en la última semana del estudio (Figura 2d). El nitrógeno ureico disminuyó con respecto a sus valores preparto en la semana 2 posparto ($P = 0.0087$) y posteriormente incrementó sus concentraciones a valores que no difirieron de aquellos encontrados en el preparto (Figura 2e). El colesterol aumentó significativamente a partir de la semana 4 posparto ($P = 0.022$), continuando su incremento hasta el final del estudio ($P = 0.002$) (Figura 2f). El triacilglicerol disminuyó significativamente después del parto ($P = 0.026$) alcanzando su nadir en la semana 2 continuando con valores bajos hasta el final del estudio (Figura 2g). La proteína total tuvo un incremento a partir de la segunda semana posparto ($P = 0.018$) alcanzando su cenit en la quinta semana con valores superiores a los del preparto (Figura 2h). En los AGL se observó un incremento significativo ($P < 0.0001$) a partir de la semana 1 posparto llegando a su valor más alto en la semana 2, después de la cual

presentó un decremento, alcanzando su concentración más baja en la semana 8 ($P= 0.012$) (Figura 2i).

No se encontró efecto de la CC al parto ($P>0.05$) en la concentración media de analitos durante el estudio. Sin embargo, se observó interacción del tiempo con la CC al parto en las concentraciones de bilirrubina directa (Figura 2j), siendo los valores de las CCA más elevados ($P= 0.05$) durante la semana 2 posparto que los del grupo de CCM.

Figuras 2. Concentraciones sanguíneas de albúmina (a), aspartato amino transferasa (AST) (b), glucosa (c), insulina (d), nitrógeno ureico (e), colesterol (f), triacilglicerol (g), proteínas totales (h), ácidos grasos libres (AGL) (i), y bilirrubina directa (J) durante la semana 1 preparto y hasta la semana 8 posparto en vacas con condición corporal alta o media al parto. Páneles donde solo se presenta una línea, representa la conjunción de ambos grupos de CC (a-j). * Única semana en la cual las vacas condición corporal alta (CCA) tienen concentraciones significativamente más elevadas de bilirrubina directa que las condición corporal moderada (CCM) ($P=0.05$).



Con excepción de la bilirrubina directa (que alcanzó el cenit en la semana 1), todos los analitos estudiados alcanzaron su cenit o nadir en la semana 2 posparto. Por tal motivo, se estudiaron las relaciones entre las concentraciones de analitos en el periodo previo y posterior a la semana 2 posparto. Durante el periodo periparto (semana 1 preparto a la 2 posparto), el tiempo se correlacionó positivamente con las concentraciones de AGL ($r=0.47$), y AST ($r= 0.32$) (Cuadro 7 en apéndice), y negativamente con nitrógeno ureico, ($r= -0.32$), glucosa ($r= -0.36$), insulina ($r= -0.37$), triacilglicerol ($r= -0.64$) y albúmina ($r= -0.34$) (Cuadro 4 en apéndice). Se observó que hubo una correlación positiva entre los AGL, la bilirrubina directa ($r= 0.31$) y la AST ($r= 0.38$). Además se encontró una correlación positiva entre la glucosa, insulina, nitrógeno ureico, triacilglicerol, proteínas totales y albúmina. Así mismo, los AGL, la bilirrubina directa y la AST se correlacionaron negativamente con los analitos anteriores(cuadro 7 en apéndice).

En contraste, a partir de la tercera semana posparto, las correlaciones entre analitos fueron en sentido inverso a las descritas anteriormente. El tiempo se correlacionó positivamente con las concentraciones de colesterol ($r= 0.37$) e insulina ($r= 0.25$) y negativamente con los AGL ($r= -0.45$). Al igual que en el periodo periparto, la glucosa, insulina, nitrógeno ureico, triacilglicerol, proteínas totales y albúmina se correlacionaron positivamente y los AGL, la bilirrubina directa y la AST se correlacionaron negativamente con los analitos anteriores (Cuadro 8 en apéndice).

Como se describió anteriormente, existe una alta correlación entre las variables estudiadas, por tal razón para estudiar el efecto de las concentraciones de analitos en la semana 2 (semana en la cual los

analitos alcanzaron su nadir o cenit) sobre el día a la primera ovulación, se optó por hacer un análisis de regresión por pasos (step wise) utilizando el método que maximiza la R^2 , sin encontrarse efecto de los analitos sobre los días de reinicio de actividad ovárica. Sin embargo, los analitos que más se relacionaron con el tiempo a la primera ovulación fueron la bilirrubina directa y la albúmina, encontrándose que a mayor concentración de bilirrubina directa en la semana 2 posparto aumentan los días de reinicio de actividad ovárica a razón de 8.8 días/mg/L de ésta ($P=0.088$). Adicionalmente, a menor concentración de albúmina en la semana 2 posparto, aumentan los días a de reinicio de actividad ovárica a razón de 8.8 días /g/dL ($P= 0.069$).

Capítulo 5.

DISCUSIÓN

En este estudio se analizó el efecto de la CC al parto sobre la primera ovulación posparto, identificando las señales metabólicas que pudieran servir como predictores del reinicio de la actividad ovárica posparto en vacas lecheras altas productoras. Se encontró que las vacas con CCA tardaron más tiempo en reiniciar actividad ovárica comparadas con las vacas CCM. Pryce *et al.* (2001) sugirieron que la CC podría ser utilizada como una herramienta de selección y manejo para mejorar el comportamiento reproductivo. Estos autores compararon vacas seleccionadas para alto mérito genético en producción de leche, contra vacas de mérito promedio, encontrando que las vacas con alto mérito genético tenían menor CC a la semana 1 posparto (2.5 VS 2.63), y perdieron mayor CC de la semana 1 a la 10 (-0.38 VS -0.23), que las vacas de mérito promedio. También observaron que las vacas que tuvieron 1 punto más de condición corporal que el promediado en la semana 10 presentaron calor 5.4 días antes que el promedio, 14.6 días menos de intervalo entre partos, 6.2 días menos a primer servicio, un 9% de mejora de la tasa de concepción y 1.9 kg menos de leche diaria. En otro estudio realizado por Rukkwamsuk *et al.* (1999) se demostró que la pérdida de peso corporal durante las primeras cuatro semanas posparto fue positivamente correlacionada con el número de días a primera ovulación. En este estudio no se encontró un efecto significativo de la pérdida total de CC entre los dos grupos en los días a primera ovulación, esto se puede deber a que ambos grupos perdieron CC en las ocho semanas posparto, sin alcanzar sus niveles preparto. A pesar de que no hubo diferencia en la pérdida total de CC entre grupos, las vacas

CCA perdieron CC más rápido que las de CCM. En los trabajos realizados por Staples *et al.* (1990) y Beam y Butler (1998), se encontró una correlación positiva entre BEN y días a la primera ovulación posparto; en el presente trabajo las vacas con CCA pudieron tener un BEN más negativo que las CCM, provocado por esa pérdida de CC drástica en la primer semana posparto, retardando los días en que reiniciaron actividad ovárica.

En el periodo posparto las vacas se encuentran en BEN debido a que los requerimientos de energía para lactación rebasan lo aportado por el consumo voluntario (Andrews, 1998). Las vacas lecheras que llegan al parto con una CC excesiva sufren una disminución del consumo voluntario más prolongado y por lo tanto un BEN posparto más severo (Butler y Smith, 1989; Rukkwamsuk *et al.*, 1999). Parece ser que el BE es el factor principal que influye en el desempeño reproductivo en vacas en lactación temprana. La recuperación del valor más bajo de BEN, el nadir, ha sido relacionado con el tiempo a primera ovulación (Canfield y Butler, 1991; Canfield *et al.*, 1990; Beam y Butler, 1997). Zurek *et al.*, (1995) y Beam y Butler, (1997), mencionan que la primera ovulación posparto se presenta pocos días después de alcanzar el nadir del BE. La mayoría de las vacas hacen frente al BEN de la lactación temprana, a través de un intrincado mecanismo de adaptación metabólica. Durante esta adaptación se presentan alteraciones en las concentraciones de hormonas metabólicas y metabolitos (Herdt, 2000), que pudieran servir como señalizadores del estado metabólico dirigidos hacia el hipotálamo ejerciendo un efecto en la secreción de LH, además de alterar la susceptibilidad del ovario al estímulo de la LH (Canfield y Butler, 1991). En general, estas vacas presentan diferentes grados de lipidosis hepática, y se ha observado una correlación positiva entre las

concentraciones de AGL y los triacilglicéridos acumulados en hígado (Rukkwamsuk *et al.*, 1999). Y esta acumulación se ha asociado con un incremento del intervalo de parto a primera ovulación (Rukkwamsuk *et al.*, 1999). En un estudio realizado por Cebra *et al.* (1997) encontraron que las vacas con lipidosis hepática severa tuvieron concentraciones séricas de bilirrubinas y AST significativamente mayores que vacas con lipidosis hepática menos severa, a pesar de no ser pruebas concluyentes para el diagnóstico de esta alteración. En este estudio no fue posible medir las concentraciones de triacilglicéridos acumulados en hígado. Sin embargo, se determinaron las concentraciones circulantes de bilirrubina directa y de AST. A pesar de que no se encontró una relación significativa y de que las concentraciones de bilirrubina directa y albúmina nunca salieron de valores normales, observamos que fueron los analitos más relacionados con los días de reinicio de actividad ovárica en la semana 2 posparto, observándose que a mayores concentraciones de bilirrubina directa a la semana 2, mayor es el tiempo en que se presenta el reinicio de actividad ovárica posparto, y que a menores concentraciones de albúmina en la misma semana, mayor es el tiempo de presentación de reinicio de actividad ovárica. La bilirrubina es producida a partir del grupo heme de los eritocitos viejos que son destruidos en células reticuloendoteliales del hígado, bazo y médula ósea, a esta bilirrubina se le denomina bilirrubina indirecta o bilirrubina no conjugada. La bilirrubina indirecta es transportada hacia el hígado donde es conjugada con ácido glucurónico denominándosele bilirrubina directa o bilirrubina conjugada (Tietz, 1987; Kaneko 1997). En enfermedades hepatobiliares, se puede presentar un bloqueo del árbol biliar o una permeabilidad anormal, por lo que el paso de algunas sustancias como la bilirrubina directa y otras enzimas hepáticas, entre

ellas la AST, se retarda, por lo que estas sustancias son retenidas, dando como resultado un incremento anormal de sus concentraciones (Tietz, 1987; Kaneko 1997). En este estudio, se encontró que las concentraciones de bilirrubina directa fueron significativamente más elevadas en la semana 1 posparto en las vacas con CCA, por lo que suponemos que el compromiso hepático de estas vacas fue mayor.

Parra *et al.* (1999), observaron una relación negativa de las concentraciones de albúmina con el intervalo de parto-concepción en vacas *Bos taurus/Bos indicus*. Del día 60-90 después del parto, el 26% de estos animales presentó concentraciones de albúmina por debajo de 30 g/L, y 16.2% mostraron concentraciones de urea menores de 3.6 mmol/L. La disminución de estos metabolitos es un indicativo de deficiencia de proteína en la dieta, particularmente en el pico de producción de leche. Esta disminución podría haber resultado también por enfermedad, ya que los valores de globulina se encontraban elevados (mayor de 50 g/L) en el 10% de las vacas antes y después del parto, y se incremento a 25.7% de las vacas a los dos a tres meses de lactación. En este estudio no encontramos cambios significativos de la albúmina asociados con grupo o con el tiempo. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, se encontró una relación negativa entre las concentraciones de albúmina en la semana 2 y los días a la primera ovulación. Debido a que la albúmina es sintetizada exclusivamente en el hígado (Kaneko, 1997) una disminución de sus concentraciones, nos pueden indicar una alteración del metabolismo hepático. De hecho se ha demostrado que la desnutrición en bovinos, cursa con una disminución de las concentraciones séricas de albúmina (Manston *et al.*, 1975; Kroetz y Neves, 1984; Carroll *et al.*, 1988).

Los resultados de bilirrubina y albúmina conjunto nos indican que las vacas que tuvieron mayor grado de compromiso o estrés hepático, tardaron más tiempo en ovular y que el metabolismo hepático pudiera estar relacionado con la primera ovulación posparto.

La manera en que un mayor estrés hepático pudiera estar afectando al intervalo parto a primera ovulación, podría estar mediada por una disminución de los receptores de GH en el hígado. Se ha establecido que los cambios en las concentraciones de GH e IGF-I afectan la función ovárica (Monniaux *et al.*, 1997). Las concentraciones sanguíneas de GH e IGF-I sufren cambios dinámicos durante el periodo periparto (Chohick, 1998). Comparadas con vacas lactantes, las vacas en el periodo preparto tienen concentraciones bajas de GH y altas de IGF-I (Chohick, 1998). Al momento del parto y al inicio de la lactación esta relación se invierte. El BEN que ocurre en vacas en el posparto temprano, tiene probablemente un papel importante, debido a que el estado nutricional controla parcialmente la síntesis de IGF-I (Thissen *et al.*, 1994). Chase *et al.* (1998), observaron que vacas Brahman, seleccionadas con deficiencia de receptores de GH, tuvieron una reducida concentración sanguínea de IGF-I y se relacionó con una disminución del funcionamiento ovárico comparadas con las vacas control. En un estudio realizado por Kobayshi *et al.* (1999) observaron que la cantidad de ARNm para el receptor 1A de GH específico de hígado, se encontraba disminuía en vacas en lactación temprana y media, comparadas con vacas en lactación tardía o vacas que no se encontraban lactando. Las vacas en lactación temprana se encontraban en BEN en el periodo en que se recolectaron las muestras de hígado. Por lo tanto, las vacas que presentan un mayor estrés hepático, provocado

posiblemente por una lipidosis hepática, pudieran presentar una deficiencia de receptores de GH en hígado, resultando en una menor concentración circulante de IGF-I y así retardar los días a la primera ovulación.

En el presente trabajo no se encontró efecto de la CC en las concentraciones de los analitos medidos. La falta de diferencia puede deberse a que la pérdida de CC fue la misma entre grupos. En contraste con los trabajos de Reid *et al.* (1986) y Holtenius y Holtenius (1996) en los que reportaron cambios en las concentraciones de los analitos entre grupos con CC de 2.5 y de 4 o más. En este trabajo no se logró incluir vacas obesas antes del parto, sin embargo, se encontraron cambios significativos en las concentraciones de los analitos durante el transcurso de las semanas, observando que la glucosa, la insulina, el triacilglicerol y el nitrógeno ureico disminuyeron después del parto con excepción del colesterol y las proteínas totales que se encontraron con concentraciones bajas. Cabe mencionar que a pesar de los cambios significativos en las concentraciones de analitos, sus concentraciones estuvieron siempre dentro de los rangos fisiológicos reportados (Kaneko, 1997). Los analitos arriba mencionados, alcanzaron su nadir en la semana 2 posparto después de la cual aumentaron significativamente. Los cambios de las concentraciones de éstos analitos han sido relacionados con cambios en el consumo de alimento y del estado nutricional (Goldston *et al.*, 1981; Marcos *et al.*, 1990; Vicini *et al.*, 1991; Zurek *et al.*, 1995). Treacher *et al.* (1986), reportaron que el consumo de alimento se ve disminuido alrededor del parto, comenzando a incrementarse a partir de la segunda semana posparto, y llegando a su máximo nivel en la semana 10. Por lo que la disminución de la

glucosa, insulina, nitrógeno ureico, proteínas totales, colesterol y triacilglicerol pudiera resultar de la disminución en el consumo de alimento que se presenta en la lactación temprana y por lo tanto del BEN.

La glucosa se ha postulado como un posible mediador entre el estado nutricional y la actividad reproductiva (Zurek *et al.*, 1995). Sin embargo, en este estudio se observó una caída en la concentración de glucosa en la semana 2 posparto, después de la cual sus concentraciones se mantuvieron bajas y sin cambio. La razón por la cual este metabolito no recuperó sus concentraciones preparto puede deberse a que es rápidamente utilizada por la glándula mamaria para la producción de leche (Herdt, 2000). Sin embargo, a pesar del aumento en la producción de leche que ocurre en los primeros días de lactancia, las concentraciones de glucosa se mantienen dentro de rangos muy estrechos mediante la desaminación de la proteína sirviendo como sustrato para la gluconeogénesis dentro del hígado (Zurek *et al.*, 1995), y de la movilización de grasa corporal que sirve como una fuente alterna de energía en forma de cuerpos cetónicos (Herdt, 2000).

Así mismo, las concentraciones de insulina no variaron significativamente entre grupos. La insulina se encontraba aumentada al final de la gestación, debido probablemente a una mayor disponibilidad de glucosa durante el balance de energía positivo (Vicini *et al.*, 1991). Después del parto las concentraciones de insulina disminuyeron, lo que se puede explicar por la baja disponibilidad de glucosa periférica ocasionada por las demandas extremas de glucosa por la glándula mamaria (Vicini *et al.*, 1991). Esta disminución de insulina es uno de los factores que desencadena la movilización de AGL, favorecida por la hormona de crecimiento. Por el contrario, concentraciones elevadas de

insulina, inhiben dicha movilización (Emery y Herdt, 1991). La insulina es un potente estimulador de la esteroidogénesis (Gutiérrez, 1997b) y está relacionada con aumento en el desarrollo folicular (Gutiérrez, 1997b, 2000). Adicionalmente, se ha encontrado que dietas que producen niveles mayores de insulina, estimulan la ovulación más temprana en el posparto (Gong et al. Resultados no publicados). Sin embargo, en este trabajo no encontramos una relación entre insulina y la primera ovulación posparto, posiblemente debido a que las concentraciones de insulina no se comportaron de manera diferente entre los grupos de CC.

El colesterol se encontraba con concentraciones bajas alrededor del parto. Una explicación es que el colesterol es altamente influenciado por el consumo de alimento (Marcos *et al.*, 1990; Emery y Herdt, 1991). Otra explicación es que este metabolito es un componente de las lipoproteínas séricas y sus concentraciones en suero es un indicador de las concentraciones de lipoproteínas en general. Concentraciones reducidas de lipoproteínas séricas son características del periodo periparto. La reducción de lipoproteínas parece ser relacionada con el metabolismo hepático, indicando infiltración grasa (Kaneene, 1997).

Los triacilglicéridos disminuyeron abruptamente después del parto, permaneciendo con concentraciones bajas hasta el final del estudio. Esto podría deberse a que en periodos de BEN, los triacilglicéridos son desesterificados formando AGL, y éstos son el sustrato para la formación de cuerpos cetónicos (Herdt, 2000). Alternativamente, la disminución de las concentraciones de los triacilglicéridos se puede explicar debido al inicio de la lactación, ya que posiblemente se transfiera grasa sanguínea hacia leche (Emery y Herdt, 1991).

Las proteínas totales también se encontraron disminuídas alrededor del parto. La razón de ello puede ser a la desaminación que sufren éstas cuando existe una disminución de aporte energético (Zurek *et al.*, 1995). Lo anterior encuentra soporte por el hecho de que las concentraciones de nitrógeno ureico estaban elevadas cuando las concentraciones de proteínas se encontraban disminuídas. El nitrógeno ureico es un metabolito final del catabolismo de proteínas (Goldston *et al.*, 1981). Cualquier factor que incremente este catabolismo, puede ocasionar el incremento del nitrógeno ureico sanguíneo (Goldston *et al.*, 1981). Dietas altas en proteína también ocasionan una elevación de los niveles de nitrógeno ureico (Goldston *et al.*, 1981), pero como en el periodo periparto existe una disminución del consumo de alimento, el incremento que coincide con la disminución de proteína total, pudiera ser debido al catabolismo de las proteínas plasmáticas más que al de las proteínas de origen dietario.

Los analitos que indican movilización de grasa (AGL) y daño hepático (bilirrubina directa y la AST) se incrementaron después del parto, alcanzando su cenit entre la semana 1 y 2 posparto. El aumento en los AGL era de esperarse, ya que las vacas disminuyen su consumo de alimento en las primeras semanas posparto, provocando movilización de reservas grasas, incrementando las concentraciones de AGL (Rumkkuamsuk, 1999). Cuando una gran cantidad de AGL es movilizada y transportada al hígado, estos AGL son esterificados hacia triacilglicéridos (Herdt, 2000). El transporte de los triacilglicéridos del hígado hacia otros tejidos, requiere de la síntesis y secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (Pullen *et al.*, 1990). Sin embargo, la capacidad del hígado en los rumiantes, para sintetizar y secretar estas lipoproteínas es muy baja, e incluso puede ser suprimida en la lactación

temprana (Pullen *et al.*, 1990; Herdt, 2000). Cuando ésto sucede los triacilglicéridos en hígado se acumulan y ocasionan lipidosis hepática, que resulta en el incremento de las bilirrubinas y enzimas hepáticas (Reid, 1986). Aproximadamente el 30% de las vacas altas productoras presentan lipidosis hepática subclínica. Reid y Roberts (1983) encontraron que la lipidosis hepática se asocia con un retardo en el inicio de la actividad ovárica posparto y un alargamiento del intervalo parto – concepción. Los cambios en las concentraciones de insulina, glucosa, y AGL coincidieron con los estudios de Canfield y Butler (1990) quienes observaron incrementos en las concentraciones de AGL y GH durante periodos de BEN, acompañado de una disminución de los niveles de glucosa, insulina e IGF-I. Igualmente, Hiroshi *et al.* (1999) encontraron que vacas en lactación temprana y con BEN presentaban altos niveles de AGL y de 3- β hidroxibutirato, junto con bajos niveles de glucosa y acetato.

En este estudio no se encontró el efecto de la producción de leche acumulada al día 75 en los días a la primera ovulación posparto. De igual manera, Fonseca *et al.* (1983) y Villa-Godoy *et al.* (1988) no encontraron efecto de la producción láctea en el desempeño reproductivo posparto. Esto nos indica que el reinicio de la actividad ovárica posparto se presenta independientemente de la cantidad de leche producida, y que son los cambios metabólicos que se llevan a cabo para mantener esta producción los que pudieran afectar la actividad reproductiva.

Se concluye que el intervalo del parto a la primera ovulación pudiera ser afectado por una disminución drástica de la CC en la primer semana posparto, y que a las vacas que presentan un mayor estrés

hepático pudieran tener efectos negativos sobre el reinicio de la actividad ovárica posparto.

Debido a la relación que encontramos de la bilirrubina directa y la albúmina con los días a primera ovulación posparto, el efecto del metabolismo hepático sobre la eficiencia reproductiva en el posparto requiere de posteriores estudios.

APÉNDICE.

Cuadro 1. Ingredientes que conforman la dieta de las vacas en las últimas dos semanas de gestación.

Ingredientes	APORTE					
	%MS	Kg de MS	PC %	ENI Mcals/kg	FDN % MS	FDA % MS
Heno de alfalfa	91.2	2.74	19.7	1.46	38.0	28.6
Heno de avena	91.0	1.18	5.0	1.20	59.0	42.0
Alfalfa achicalada	21.1	0.42	20.5	1.39	41.4	33.0
Ensilado de maíz	27.1	4.34	9.0	1.34	58.6	35.0
Semilla de algodón	92.0	0.46	20.0	2.23	44.0	34.0
Pulpa de cítricos	90.0	0.27	6.7	1.76	23.0	22.0
Maíz molido	90.0	0.18	11.5	2.01	55.0	13.0
Maíz quebrado	88.0	0.88	10.0	1.98	9.0	3.0
Enervit®	99.0	0.03	0.0	5.84	0.0	0.0
Energy II®	96.0	0.05	0.0	5.84	0.0	0.0
Melaza	75.0	0.15	5.0	1.61	12.0	6.0
Suplemento anionico®	97.4	0.34	26.0	0.18	3.8	1.2
Suplemento de primer plano®	89.2	1.20	39.7	1.78	9.9	5.2
Soy plus®	90.0	0.05	48.2	1.98	10.0	8.0

Cuadro 2. Evaluación nutricional de la dieta aportada a vacas en las últimas dos semanas de gestación

NUTRIENTES	APORTE EN MS	REQUERIMIENTOS DE MS*	BALANCE
MS (Kg)	12.28	12.3	-0.02
PC (%)	15.37	15.5	-0.13
ENI (Mcal/Kg)	1.5	1.54	-0.04
FDN (%)	41.12	43.0	-1.88
FDA (%)	26.72	29.0	-2.28
Ca (%)	1.25	0.80	+0.45
P (%)	0.34	0.35	-0.01

MS= Materia Seca

PC= Proteína cruda

ENI= Energía Neta de lactación

FDN= Fibra Detergente Neutra

FDA= Fibra Detergente Acida

Ca= Calcio

P= fosforo

Enervit (Zuavit, SA de CV)

Energy II (Dairy Nutrition)

Suplemento anionico (Nubba Comercial)

Suplemento de primer plano (Nubba Comercial)

Soy plus (Apligen)

* Requerimientos recomendados por Hutjens (1990) y Van Saun (1991) adaptados por Oetzel (1997).

Cuadro 3. Ingredientes que conforman la dieta de las vacas en las primeras dos semanas de lactación.

Ingredientes	APORTE					
	%MS	Kg de MS	PC %	ENI Mcals/kg	FDN % MS	FDA % MS
Heno de alfalfa	91.0	4.37	20.0	1.46	33.8	28.6
Ensilado de Maíz	27.1	4.34	9.0	1.39	47.0	35.0
Alfalfa achicalada	21.1	0.32	20.5	1.46	38.0	33.0
Rye grass	18.0	0.18	21.8	1.50	42.0	24.2
Pulpa de cítricos	90.0	0.23	6.7	1.76	21.0	22.0
Semilla de algodón	92.0	1.38	19.5	2.23	51.0	40.0
Maíz molido	90.0	0.36	10.0	2.01	33.0	10.0
Maíz quebrado	88.0	0.88	10.0	1.98	9.0	3.0
Maíz roado	86.0	0.86	8.8	1.98	9.0	3.0
Melaza	75.0	0.36	5.0	1.61	12.0	6.0
Pasta de soya	89.0	0.54	49.0	1.94	15.0	10.0
Soy plus®	90.0	0.27	48.2	1.98	10.0	8.0
Pellet Sn Seba	2.22	2.22	31.5	1.34	19.0	11.0
Energy II®	96.0	0.14	0.0	5.84	0.0	0.0
Enervit®	99.0	0.05	0.0	5.84	0.0	0.0

Cuadro 4. Evaluación nutricional de la dieta aportada a vacas en las dos primeras semanas de lactación.

NUTRIENTES	APORTE EN MS	REQUERIMIENTOS DE MS*	BALANCE
MS (Kg)	16.51	16.25	+0.26
PC (%)	17.97	17.5	+0.47
ENI (Mcal/Kg)	1.64	1.67	-0.03
FDN (%)	32.18	31.0	+1.18
FDA (%)	23.91	21.0	+2.9
Ca (%)	1.24	1.1	+0.14
P (%)	0.51	0.55	-0.04

MS= Materia Seca
 PC= Proteína cruda
 ENI= Energía Neta de lactación
 FDN= Fibra Detergente Neutra
 FDA= Fibra Detergente Acida
 Ca= Calcio
 P= fosforo

Enervit (Zuavit, SA de CV)
 Energy II (Dairy Nutrition)
 Soy plus (Apligen)

* Requerimientos recomendados por Hutjens (1990) y Van Saun (1991) adaptados por Oetzel (1997).

Cuadro 5. Ingredientes que conforman la dieta de las vacas a partir de la segunda semana de lactación y hasta el décimo mes de gestación.

Ingredientes	APORTE					
	%MS	Kg de MS	PC %	ENI Mcals/kg	FDN % MS	FDA % MS
Heno de alfalfa	91.0	1.64	20.0	1.46	33.8	28.6
Ensilado de Maíz	27.1	6.77	9.0	1.39	47.0	35.0
Alfalfa achicalada	21.1	2.11	20.5	1.46	38.0	33.0
Rye grass	18.0	1.26	21.8	1.50	42.0	24.2
Pulpa de cítricos	90.0	0.54	6.7	1.76	21.0	22.0
Semilla de algodón	92.0	2.12	19.5	2.23	51.0	40.0
Maíz molido	90.0	0.72	10.0	2.01	33.0	10.0
Maíz quebrado	88.0	1.85	10.0	1.98	9.0	3.0
Maíz rolado	86.0	1.81	8.8	1.98	9.0	3.0
Melaza	75.0	0.75	5.0	1.61	12.0	6.0
Pasta de soya	89.0	1.47	49.0	1.94	15.0	10.0
Soy plus®	90.0	0.16	48.2	1.98	10.0	8.0
Pellet Sn Seba	2.22	3.48	31.5	1.34	19.0	11.0
Energy II®	96.0	0.43	0.0	5.84	0.0	0.0
Enervit®	99.0	0.20	0.0	5.84	0.0	0.0

Cuadro 6. Evaluación nutricional de la dieta aportada a vacas a partir de la segunda semana de lactación y hasta el décimo mes de gestación.

NUTRIENTES	APORTE EN MS	REQUERIMIENTOS DE MS*	BALANCE
MS (Kg)	25.3	25.0	+0.3
PC (%)	17.5	17.0	+0.5
ENI (Mcal/Kg)	1.73	1.71	+0.02
FDN (%)	30.89	33.0	-2.11
FDA (%)	22.03	22.0	+0.03
Ca (%)	1.18	1.0	+0.18
P (%)	0.51	0.48	+0.03

MS= Materia Seca
 PC= Proteína cruda
 ENI= Energía Neta de lactación
 FDN= Fibra Detergente Neutra
 FDA= Fibra Detergente Acida
 Ca= Calcio
 P= fosforo

Enervit (Zuavit, SA de CV)
 Energy II (Dairy Nutrition)
 Soy plus (Apligen)

* Datos obtenidos en National Research Council. 1988. Nutrient Requirement of dairy cattle.

Cuadro 7. Coeficientes de correlación de Pearson, para el tiempo (semanas) y las concentraciones de analitos durante la semana 1 parto a la 2 posparto.

	AST	AGL	Alb	Ins
Semana	0.32706	0.46947	-0.34280	-0.37812
P	0.0168	0.0004	0.0120	0.0052
	NU	Gluc	TG	
Semana	-0.32693	-0.36062	-0.64025	
P	0.0169	0.0080	<.0001	
	BD.	AST	TG	
AGL	0.31575	0.38464	-0.42910	
P	0.0213	0.0045	0.0013	
	Gluc	PT	Alb	
Ins	0.31751	0.49945	0.31969	
	0.0205	0.0001	0.0196	
	Ins	Alb	Col	
TG	0.42043	0.46675	0.3382	
P	0.0017	0.0004	0.0133	
	Ins	Alb	PT	
Col	0.48540	0.35681	0.56631	
P	0.0002	0.0087	<.0001	
	Alb	PT	Col	
NU	0.33581	0.33695	0.55232	
P	0.0140	0.0136	<.0001	
	BD.	AST	TG	
BT	0.49640	0.43464	-0.34142	
P	0.0002	0.0011	0.0124	
	BD.	Gluc		
AST	0.33127	-0.30763		
P	0.0154	0.0250		

Col= colesterol, Ins= insulina, Alb= albumina, PT= proteínas totales, BD= bilirrubina directa, AST= aspartato amino transferasa, TG= triacilglicerol, Gluc= glucosa, NU= nitrógeno ureico, AGL= ácidos grasos libres.

Cuadro 8. Coeficientes de correlación de Pearson, para el tiempo (semanas) y las concentraciones de analitos, de la semana 3 a la 8 posparto.

	Col	Ins	AGL
Semana	0.37484	0.25830	-0.45572
P	<.0001	0.0072	<.0001
	NU	Col	TG
PT	0.360072	0.31779	0.24003
P	0.0001	0.0009	0.0128
	PT	Col	Ins
AGL	-0.23751	-0.27170	-0.36137
P	0.0138	0.0046	0.0001
	ALP	AGL	
BD	0.32867	0.2391	
P	0.0005	0.0131	
	Col	TG	BD
NU	0.50019	0.2836	-0.39285
P	<.0001	0.0031	<.0001
	TG	Ins	BD
Col	0.32184	0.19340	-0.49970
P	0.0007	0.0459	<.0001
	AST	AGL	Col
BT	0.32859	0.33591	-0.30467
P	0.0005	0.0004	0.0014
	AGL	Ins	
AST	0.28403	-0.23783	
P	0.0030	0.0136	
	Ins		
ALP	-0.24012		
	0.0127		
	TG		
Gluc	0.19099		
P	0.0488		

Col= colesterol, Ins= insulina, Alb= albumina, PT= proteínas totales, BD= bilirrubina directa, AST= aspartato amino transferasa, TG= triacilglicerol, Gluc= glucosa, NU= nitrógeno ureico, AGL= ácidos grasos libres.

LITERATURA CITADA

- Adams GP, Matteri RL, Dastelic RP, KO JCH, and Ginther OJ. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 1993; 94:177-188.
- Andrews T. Ketosis and fatty liver in cattle. *In Practice* 1998; 20(9):509-513.
- Armstrong DG, Gutierrez CG, Baxter G, Glazyrin AL, Mann G.E, Woad KJ, Hogg CO, and Webb R. Expression of mRNA encoding IGF-I, IGF-II and type 1 IGF receptor in bovine ovarian follicles. *Journal of Endocrinology* 2000. 165: 101-113
- Barash IA, Cheung CC, Wigle DS, Ren H, Kabigting EB, Kuijper JL, Clifton DK, and Steiner RA. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology* 1996; 137(7):3144-3147.
- Bauman DE, and Currie WB. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science* 1980; 63:1514.
- Beam SW, and Butler WR. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility, Suppl* 1999; 54, 411-424.
- Beam SW, and Butler WR. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *Journal of Dairy Science* 1998; 81:121-131.
- Beam SW, and Butler WR. Ovulatory follicle development during the first follicular wave postpartum in cows differing in energy balance. *Journal of Animal Science* 1994; 77 Supplement 1:77.
- Beam SW, and Butler WR. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biology of Reproduction* 1997; 56:133-142.
- Bell AW. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journa of Animal Science* 1995; 73:2804-2819.
- Brown MS, Kovanen PT and Goldstein JL. Regulation of plasma cholesterol by lipoprotein receptors. *Science* 1981; 212:628-635.
- Bulman DC, and Lamming GE. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *Journal Reproduction and Fertility* 1978; 54:447-458.
- Butler WR, and Smith RD. Interrelationship between energy balance on postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 1989; 7:767-783.

- Butler WR, Everett RW, and Coppock CE. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cow. *Journal of Animal Science* 1981; 53:742-748.
- Butler WR. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 2000; 60-61:449-457.
- Campbell BK, Baird DT, and Webb R. Effect of dose of LH on androgen production and luteinization of ovine theca cells cultured in a serum-free system. *Journal of Reproduction and Fertility* 1998; 112:69-77.
- Canfield RW, and Butler WR. Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. *Journal of Animal Science* 1991; 69:740-746.
- Canfield RW, Sniffen CJ, and Butler WR. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 1990; 73:2342-2349.
- Cardóniga-Valdiño C, Grummer RR, Armentano EL, Donkin SS, and Bertics JS. Effects of fatty acids and hormones on fatty acids metabolism and gluconeogenesis in bovine hepatocytes. *Journal of Dairy Science* 1997; 80:646-656.
- Carroll DJ, Barton BA, Anderson GW, and Smith RD. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1988; 71: 3470-3481.
- Cebra CK, Franklyn GB, Getzy DM, and Fettman MJ. Hepatic lipidosis in anorectic, lactating Holstein cattle: A retrospective study of serum biochemical abnormalities. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 1997; 11(4):231-237.
- Chase Jr CC, Kirby CJ, Hammond AC, Olson TA, and Lucy MC. Patterns of ovarian growth and development in cattle with a growth hormone receptor deficiency. *Journal of Animal Science* 1998; 76:212-21.
- Cohick WS. Role of the insulin-like growth factors and their binding proteins in lactation. *Journal of Dairy Science* 1998; 81:1769-1777.
- Crowe MA, Padmanabhan V, Mihm M, Beitins IZ, and Roche JF. Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentrations. *Biology of Reproduction* 1998; 58:1445-1450.
- Dijkhuizen AA, Stelwagen J, and Renkeman JA. Economic aspects of reproductive failure level in dairy cattle. 1. Financial loss at farm level. *Prev Vet Med* 1984/1985; 3:251-263.
- Driancourt MA, Thatcher WW, Terqui M, and Andrieu D. Dynamics of ovarian follicular development in cattle during the estrous cycle,

- early pregnancy and in response to PMSG. *Domestic Animal Endocrinology* 1991; 8:209-221.
- Echternkamp SE, Spicer LJ, Gregory KE, Canning SF, and Hammond JM. Concentrations of insulin-like growth factor-I in blood and ovarian follicular fluid of cattle selected for twins. *Biology of Reproduction* 1990; 43:8-14.
- Emery RS, and Herdt TH. Lipid Nutrition. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 1991; 7(2):341-352.
- Evans DG. The interpretation and analysis of subjective body condition score. *Animal Production* 1978; 26:119.
- Fernandes LC, Thatcher WW, Wilcox CJ, and Call EP. LH release in response to GnRH during the postpartum period of dairy cows. *Journal of Animal Science* 1978; 46:443-448.
- Fonseca FA, Britt JH, McDaniel BT, Wilk JC, and Rakes AH. Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects age, milk yield and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate and days open. *Journal of Dairy Science* 1983; 66:1128-1147.
- Foster JP, Lamming GE, and Peters AR. Short-term relationships between plasma LH, FSH and progesterone concentrations in postpartum dairy cows and the effect of GnRH injection. *Journal of Reproduction and Fertility* 1980; 59:321-327.
- Gearhart MA, Curtis CR, Erb NH, Smith RD, Sniffen CJ, Chase LE, and Cooper MD. Relationship of changes in condition score to cow health in Holstein. *Journal of Dairy Science* 1990; 73:3132-3140.
- Gillund P, Reksen O, Gröhn YT, and Karlberg K. Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2001; 84:1390-1396.
- Ginther OJ, Kot K, Kukick LJ, Martin S, and Wiltbank MC. Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility* 1996; 108:271-279.
- Goldston RT, Wilkes RD, and Seybold JM. Evaluation of renal function. 1. Blood urea nitrogen and creatinine determination. *Veterinary Medicine Small Animal Clinic* 1981; 76:157.
- Gutiérrez CG, Campbell BK, Armstrong DG, and Webb R. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) production by bovine granulosa cells in vitro and peripheral IGF-I measurement in cattle serum: an evaluation of IGF-binding protein extraction protocols. *Journal of Endocrinology* 1997a. 153: 231-240
- Gutiérrez CG, Campbell BK, and Webb R. Development of a long-term bovine granulosa cell culture system: Induction and maintenance

- of estradiol production, response to follicle-stimulating hormone, and morphological characteristics. *Biology of Reproduction* 1997b; 56: 608-616
- Gutiérrez CG. Effect of nutrition and metabolic hormones on follicular development in cattle. Edinburgh (United Kingdom):University of Edinburgh, 1997c.
- Gutiérrez CG, Saharrea A, Palacios T, Alvarez J, Aguilera I, and López N. The effect of short-term administration of a glycogenic solution on plasma glucose concentrations and ovulation rate in Pelibuey sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 2000; Abstract series number 25 (abs 143):55.
- Haraszti J, Huszenicza G, Molnar L, Solti L, and Csernus V. Postpartum ovarian activity of healthy cows and those affected by subclinical metabolic disorders. *Animal Reproduction Science* 1985; 9:125-136.
- Harrison RO, Ford SP, Young JW, Conley AJ, and Freeman AE. Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1990; 73:2749-2758.
- Herdt TH. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinic of North American food Animal Practice* 2000; 16(2): 215-230.
- Heuer C, Schukken YH, and Doubbelaar P. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science* 1999; 82:295-304.
- Holtenius P, and Holtenius K. New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: A Review. *Journal of Veterinary Medicine A* 1996; 43:579-587.
- Huszenicza G, Haraszti J, Molnar L, Solti L, Fekete S, Ekes K, and Yaro AC. Some metabolic characteristics of dairy cows with different postpartum ovarian function. *Journal of Veterinary Medicine A* 1988; 35:506-515.
- Hutjens MF. Dry cow programs and metabolic disorders. Page 147. in *Proc. 75th Annual Conv. Winsconsin Vet. Med. Assoc. Madison* 1990.
- Imakawa K, Kittok RJ, and Kinder JE. The influence of energy intake on progesterone concentration in beef heifers. *Journal of Animal Science* 1983; 56:454-459.
- Jefferies BC. Body condition scoring and its use in management. *Tasmanian Journal Agricultural, Min. Agric.* 1961; 32:19.
- Jorritsma R, Jorritsma H, Schukken YH, Bartlett PC, Wensing TH, and Wentink GH. Prevalence and indicators of postpartum fatty

- infiltration of the liver in nine commercial dairy herds in the Netherlands. *Livestock Production Science* 2001; 68:53-60.
- Kaneene JB, Miller R, Herdt TH, and Gardiner JC. The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* 1997; 31(1-2):59-72.
- Kaneko JJ, Harvey WJ, and Bruss ML. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic Press. 5^a edition. 1997.
- Kobayashi Y, Vandehaar MJ, Tucker HA, Sharma BK, and Lucy MC. Expression of growth hormone receptor 1A messenger ribonucleic acid in liver of dairy cows during lactation and after administration of recombinant bovine somatotropin. *Journal of Dairy Science* 1999; 82:1910-1916.
- Kroetz IA, and Neves JP. Influence of serum albumin levels on the fecundity of the beef cows. *Revista Brasileira Reproduccion Animal (Belo Horizonte)* 1984; 8:155-161.
- Lamming GE, Wathes DC, and Peters AR. Endocrine patterns of the post partum cow. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1981; 30:155-170.
- Lamming GE, and Royal MD. Ovarian hormone patterns and subfertility in dairy cows. *Fertility in the High-Producing Dairy Cow. Occasional Publication -British Society of Animal Science* 1999; 6:105-118.
- Lamming GE, Peters AR, Riley GM, and Fisher W. Endocrine regulation of postpartum function. *Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science* 1982; 20: 148-172.
- Larsson K, Jansson L, Berglund B, Edqvist LE, and Kindahl H. Postpartum reproductive performance in dairy cows. I: Influence of animal, breed and parity. *Acta Vet Scand* 1984; 25:445-461.
- Loeffler SH, De Vries MJ, Schukken YH, De Zeeuw AC, Dijkhuizen AA, De Graaf FM, and Brand A. Use of AI technician scores for body condition, uterine tone and uterine discharge in a model with disease and milk production parameters to predict pregnancy risk at first AI in Holstein dairy cows. *Theriogenology* 1999; 51:1267-1284.
- Lotan. Experimental manipulation of post partum energy partition in high yielding dairy cows. *Israeli Journal of Veterinary Medicine* 1998, 44:159-67.
- Lucy MC, and Crooker BA. Physiological and genetic differences between low and high index dairy cows. *Fertility in the high-producing dairy cow. Occasional Publication -British Society of Animal Science* 1999; 6:223-236.

- Lucy MC, Staples CR, Thatcher WW, Erickson PS, Cleale RM, Firkins JL, Clark JH, Murphy MR, and Brodie BO. Influence of diet composition, dry matter intake, milk production and energy balance on time of postpartum ovulation and fertility in dairy cows. *Animal Production* 1992; 54:323-331.
- Lucy MC, Weber WJ, Baumgard LH, Baumgard LH, Seguin BS, Koenigsfeld AT, Hansen LB, Chester Jones H, and Crooker BA. Reproductive endocrinology of lactating dairy cows selected for increased milk production. *Journal of Dairy Science* 1998; (suppl 1):246 (abstract):
- Malven PV. Pathophysiology of the puerperium: definition of the problem. *Proceedings of the 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination* 1984; 4(III):1-8.
- Manston R, Russe AM, Dew SM, and Payne JM. The influence of dietary protein upon blood composition in dairy cows. *Veterinary Record* 1975; 96: 497-502.
- Marcos E.; Mazur A.; Cardot P, Rayssiguier Y. The effect of pregnancy and lactation on serum lipid and apolipoprotein B and A-I levels in dairy cows. *Journal of Animal Physiology. Animal Nutrition* 1990.64: 133-138
- Marion GB, and Gier HT. Factors affecting bovine ovarian activity after parturition. *Journal of Animal Science* 1968; 27:1621-1626.
- Masilo BS, Stevenson JS, Schalles RR, and Shirley JE. Influence of genotype and yield and composition of milk on interval to first postpartum ovulation in milked beef and dairy cows. *Journal of Animal Science* 1992; 70:379-85.
- McClure TJ, Nancarrow CD, and Radford HM. The effect of 2-deoxy-D-glucose on ovarian function of cattle. *Australian Journal Biology* 1978; 31:183.
- McDougall S, Burke CR, and Macmillan KL. Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving. *Research in Veterinary Science* 1995; 58:212-216.
- McGuire MA, Bauman DE, Dwyer DA, and Cohick WS. Nutritional modulation of the somatotropin/insulin-like growth factor system: response to feed deprivation in lactating cows. *Journal of Nutrition* 1995; 125:493:502.
- Monniaux D, Monget P, Besnard N, Huet C, and Pisselet C. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. *Theriogenology* 1997; 47:3-12.
- Nakagawa H, Oikawa S, Oohashi T, and Katoh N. Decreased serum lecithin:cholesterol acyltransferase activity in spontaneous cases

- of fatty liver in cows. *Veterinary Research Communications* 1997; 21:1-8.
- National Research Council. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. (6th rev ed.). Washington, D.C: National Academy Press; 1988.
- Nebel RL, and McGillard ML. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1993; 76: 3257-3268.
- Nett TM. Function of the hypothalamic-hypophysial axis during the post-partum period in ewes and cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 1987; 34:201-213.
- Oetzel CR. Improving reproductive performance in dairy cows via milk fever prevention. *The Bovine Proceedings, 20th Annual Meeting American Association of Bovine Practitioner*. 1996:52.
- Opsomer G, Mijten P, Coryn M, and Druif de A. Post-partum anoestrus in dairy cows. A review. *Vet Quart* 1996; 18:68-75.
- Patel OV, Takenouchi N, Takanashi T, Hiraki M, Sasaki N, and Domeki I. Plasma oestrone and oestradiol concentrations throughout gestation in cattle: relationship to stage of gestation and fetal number. *Research of Veterinary Science* 1999; 66:129-133.
- Pell JM, and Bates PC. The nutritional regulation of growth hormone action. *Nutrition Research Reviews* 1990; 3:163-192.
- Perry RC, Corah LR, Cochran RC, Beal WE, Tevenson JS, Minton JE, Simms DD and Brethour JR. Influence of dietary energy on follicular development, serum gonadotropins, and first postpartum ovulation in suckled beef cows. *Journal of Animal Science* 1991; 69: 3762-373.
- Peters AR, and Lamming GE. Regulation of ovarian function in the postpartum cow: An endocrine model. *The Veterinary Record* 1986; 118:236-239.
- Pullen DL, Liesman JS, and Emery RS. A species comparison of liver slice synthesis and secretion of triacylglycerol from nonesterified fatty acids in media. *Journal of Animal Science* 1990; 68:1395.
- Pryce JE, Coffey MP, and Brotherstone S. The genetic relationship between calving interval, body condition score and linear type and management traits in registered Holstein. *Journal of Dairy Science* 2000, 83:2664-2671.
- Rabiee AR, Lean IJ, Gooden JM, and Miller BG. Relationships among metabolites influencing ovarian function in the dairy cow. *Journal of Dairy Science* 1999; 82:39-44.
- Rahe CH, Owens RE, Fleeger JL, Newton HJ, and Harms PG. Patterns of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology* 1980; 107:498-503.

- Rajamahendran R, and Taylor C. Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. *Animal Reproduction Science* 1990; 22:171-180.
- Reid IM, and Roberts J. Subclinical fatty liver in dairy cow. *Irish Veterinary J* 1983; 37:104-110.
- Reid IM, Ducker MJ, Morant SV, and Bloomfield GA. An investigation of the fatty-liver syndrome in dairy cows. *Animal Production* 1982; 34:368-9.
- Reid IM. Diagnosis of fatty liver in dairy cows. *Isr J of Vet Med* 1986; 42(4):399-403.
- Roche JF, and Diskin MA. Resumption of reproductive activity in the early postpartum period of cows. *Fertility in the High-Producing Dairy Cow. Occasional Publication -British Society of Animal Science* 1999; 6:31-41.
- Roche JF, Crow MA, and Boland MP. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. *Animal Reproduction Science* 1992; 28:371-378.
- Roche JF, Mihm M, Kiskin MG, and Ireland JJ. A review of regulation of follicle growth in cattle. *Journal of Animal Science* 1998; 76(Supplement3):16-29.
- Rukkwamsuk T, Wensing T, and Geelen JHM. Effect of overfeeding during the dry period on the rate of esterification in adipose tissue of dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science* 1999; 82:1164-1169.
- Rutter LM and Manns JG. Hypoglycemia alters pulsatile luteinizing hormone secretion in the postpartum beef cow. *Journal of Animal Science* 1987; 64:479.
- Savio JD, Boland MP, Hynes N, and Roche JF. Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 1990a; 88:569-579.
- Savio JD, Boland MP, and Roche JF. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 1990b; 88:581-591.
- Schallenberger E. Charakterisierung von sekretionsrythmen der gonadotropine und ovarsteroiden während des brunstzyklus, der gravidität und post partum beim rind. *Advances in Veterinary Medicine* 1990; 40:117.
- Schillo KK. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *Journal of Animal Science* 1992; 70:1271-1282.
- Schmidt GH. Effect of length of calving intervals on income over feed and variable cost. *Journal of Dairy Science* 1989; 72:1605-1611.

- Short RE, and Adams DC. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. *Canadian Journal of Animal Science* 1998; 68:29-39.
- Sinclair L.A.; Kuram, M.; Gebbie F.E.; Webb R.; McEvoy T.G. Nitrogen metabolism and fertility in cattle: II. Development of oocytes recovered from heifer diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen. *Journal of Animal Science* 2000. 78:2670-2680
- Spicer LJ, Alpizar E, and Vernon RK. Insulin-like growth factor-I receptors in ovarian granulosa cells: effect of follicle size and hormones. *Molecular and Cellular Endocrinology* 1994; 102:69-76.
- Spicer LJ, and Stewart RE. Interactions among beef fibroblast growth factor, epidermal growth factor, insulin and insulin-like growth factor-I (IGF-I) on cell numbers and steroidogenesis of bovine thecal cells: role of IGF-I receptors. *Biology of Reproduction* 1996; 54:255-263.
- Staples CR, Thatcher WW, and Clark JH. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1990; 73:938-947.
- Stewart RE, Spicer LJ, Hamilton TD, Keefer BE, Dawson IJ, Morgan GL, and Echtenkamp SE. Levels of insulin-like growth factor (IGF-I) binding proteins, luteinizing hormone and IGF-I receptors, and steroids in dominant follicles during the first follicular wave in cattle exhibiting regular estrous cycles. *Endocrinology* 1996; 137:2842-2850.
- Thatcher WW, and Wilcox CJ. Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. *Journal of Dairy Science* 1973; 56:608-610.
- Thiessen JP, Ketelslegers JM, and Underwood LE. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocrine Review* 1994; 15:80-101.-
- Tietz NM. *Fundamentals of clinical chemistry*. WB Saunders Company. Philadelphia, 3rd edition, 1987.
- Treacher RJ, Reid IM, and Roberts CJ. Effect of body condition at calving on the health and performance of dairy cow. *Animal Production* 1986, 43:1-6.
- Trout DL, Estes EH, and Friedberg SJ. *Lipids Research* 1960; 1:199.
- Van Saun RJ. Dry cow nutrition: key to improving fresh cow performance. In *dairy nutrition management*. *Veterinary Clinic of American Food Animal Practice* 1991; 7:599.

- Vicini JL, Buonomo FC, Veenhuizen JJ, Miller MA, Clemmons DR, and Collier RJ. Nutrient balance and stage of lactation affect responses of insulin, insulin-like growth factors I and II, and insulin-like growth factor-binding protein 2 to somatotropin administration in dairy cows. *Journal of Nutrition* 1991, 121(10): 1656-1664.
- Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT, Fogwell RL. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1988; 71:1063-1072.
- Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Enright WJ, Ealy AD, Zinn SA, and Fogwell RL. Energy balance and body condition influence luteal function in Holstein heifers. *Domestic Animal Endocrinology* 1990; 7(2):135-148.
- Vizcarra JA, and Wettemann RP. Reproducibility, repeatability and degree of expertise required to assess body condition score in beef cattle. *Prof Animal Science* 1996; 12:28-31.
- Warwick EJ, and Legates JE. *Cría y mejora del Ganado*. 3ª ed. Ed. Mac Graw Hill. México DF, 1984.
- Wagner JN, Lusbsy KS, Oltjen JW, Rakestraw J, Wettemann RP, and Walters LE. Carcass composition in mature Hereford cows: Estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. *Journal of Animal Science* 1988; 66:608.
- Webb R, Campbell BK, Garverick HA, Gong JG, Gutierrez GC, Armstrong DG. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 1999. 54: 33-48
- Wildman EE, Jones GM, Wagner PE. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of Dairy Science* 1982; 65:495.
- Williams GL. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. *Journal of Animal Science* 1989; 67:785-793.
- Zar JH. *Bioestatistical analysis*. 3a.ed. Prentice Hall. New Jersey, U.S.A. 1996.
- Zurek E, Foxcroft GR, and kennley JJ. Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1995; 78:1909-1920.