

ASOCIACIÓN ENTRE FUNCIÓN INMUNE Y DESARROLLO DE ENFERMEDADES UTERINAS

Klibs N. Galvão, PhD.

Department of Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine,
University of Florida Gainesville, FL 32610.

La transición a la lactancia (3 semanas antes y 3 semanas después del parto) es un periodo desafiante para la vaca lechera de alta producción. Este periodo se caracteriza por un descenso en el consumo de materia seca (MS), que conduce a una marcada disminución de glucosa y calcio, y al aumento de la movilización de grasa corporal en forma de ácidos grasos no esterificados (AGNE). Esto da lugar a la acumulación de productos como el beta-hidroxibutirato (BHB) debido a la oxidación incompleta de los AGNE (Vazquez-Añon et al. 1994).

Los neutrófilos (PMN) son el principal tipo de leucocitos involucrados en la eliminación de bacterias tras la infección uterina (Hussain 1989; Gilbert et al. 2007); sin embargo, durante el periodo de balance energético negativo, las vacas lecheras experimentan una reducción en la función de los PMN, incluyendo una reducción en la fagocitosis y en la capacidad de eliminación de bacterias (Cai et al. 1994; Kehrlí and Goff 1989; Gilbert et al. 1993). Los factores que explican tal reducción incluyen: descenso de las reservas de glucógeno de los PMN, descenso en la concentración sanguínea de calcio e incremento de AGNE y BHB. En particular, las vacas que desarrollan enfermedad uterina presentan un descenso más pronunciado del consumo de MS (Huzzey et al. 2007), reducción en la fagocitosis de patógenos por parte de los PMN de la sangre (Kim et al. 2005) y en la eliminación de bacterias (Hammon et al. 2006). En el trabajo realizado por Hammon et al. (2006), los AGNE presentaron una asociación negativa con la actividad de explosión oxidativa de los PMN. Recientemente, se observó que el BHB está asociado negativamente con la fagocitosis de PMN, la formación de trampas extracelulares y la eliminación de bacterias (Grinberg et al. 2008).

Los neutrófilos dependen de diferentes fuentes de glucosa para realizar distintas funciones. Estos dependen fundamentalmente de glucosa extracelular (pero pueden utilizar

glucógeno bajo condiciones de hipoglucemia) para obtener la energía requerida para la quimiotaxis, mientras que dependen del glucógeno intracelular y de la glucogenólisis para obtener la glucosa necesaria para la fagocitosis y eliminación de bacterias (Kuehl and Egan 1980; Weisdorf et al. 1982a; Weisdorf et al. 1982b). Mientras que el estímulo quimiotáctico (como FMLP, C5a y ácido araquidónico) acelera la absorción de glucosa, el estímulo fagocítico (como partículas de zymosan opsonizado) falló en aumentar la absorción de glucosa pero aumentó la degradación de glucógeno (Weisdorf et al. 1982a; Weisdorf et al. 1982b). Por lo tanto, es posible que las bajas concentraciones de glucosa observadas en los primeros 10 días de lactancia (Vazquez-Añon et al. 1994) afecten de forma directa a la quimiotaxis de PMN, lo que podría dar lugar a una disminución de las reservas de glucógeno de PMN. A su vez, la disminución en la quimiotaxis de PMN y las reducidas reservas de glucógeno conducen al descenso en la capacidad fagocítica y de eliminación de los PMN (y posiblemente quimiotáctica), lo cual predispone a que la vaca se enferme. En un estudio reciente, se observó una reducción en las reservas de glucógeno de PMN en el posparto temprano, siendo esta reducción más pronunciada en vacas que desarrollaban enfermedad uterina (Galvão et al. 2010a). El calcio es un segundo mensajero importante para la activación de PMN. En un estudio reciente (Figura 1), vacas que desarrollaron enfermedad uterina presentaron una mayor reducción en la concentración de calcio que vacas sanas (Martínez et al. 2012).

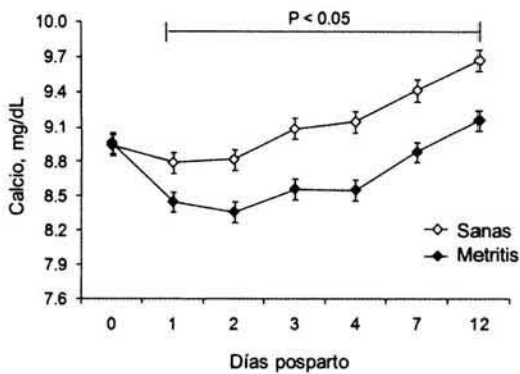


Figura 1. Concentración de calcio (mg/dL) en suero de vacas sanas (◊) y vacas que desarrollaron metritis (●), desde el parto hasta 12 días posparto. Créditos: Martínez et al. (2012).

Se cree que las altas concentraciones de cortisol y estradiol también contribuyen al estado global de inmunosupresión entorno al parto (Goff and Horst 1997). Si el sistema inmune no es capaz de eliminar la infección bacteriana, la enfermedad se establece. Vacas en el posparto temprano (<20 días en leche, DEL) pueden padecer metritis (severa y aguda). Algunas vacas se curan de la infección pero otras quedan infectadas de forma crónica (>21 días), y a esta condición se le denomina endometritis. Independientemente de la enfermedad, el efecto conjunto de la infección uterina es el daño en el endometrio y la activación de la inflamación con liberación de citoquinas pro-inflamatorias, incluyendo el factor de necrosis tumoral- (TNF), interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), y quimiocinas, incluyendo interleucina-8 (IL-8) (Chapwanya et al. 2009; Galvão et al. 2011). El daño al endometrio es causado por bacterias y neutrófilos que liberan gránulos proteolíticos y especies reactivas de oxígeno.

Las bacterias patógenas asociadas con metritis y endometritis son *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, y *Bacteroides spp.* La infección con estas bacterias patógenas inducirá la liberación de citoquinas pro-inflamatorias como el TNF, el cual se ha demostrado que estimula la liberación de prostaglandina-F2 (PGF2) desde el endometrio y las células luteales, e induce la luteolisis (Skarzynski et al. 2005; Kaneko and Kawakami 2008; Kaneko and Kawakami 2009). Por otro lado, se ha demostrado que IL-1 y IL-6 disminuyen la expresión de los receptores de oxitocina en las células del endometrio, lo que podría perjudicar el mecanismo de luteolisis (Leung et al. 2001). Por lo tanto, la inflamación podría ten-

er un efecto bimodal en la duración del ciclo estral.

Aunque la respuesta inicial a la infección sea la lisis del cuerpo lúteo (CL), otra de las respuestas observadas en vacas con enfermedad uterina es una prolongada fase luteal. Una prolongada duración luteal se observó cuando se produjo la primera ovulación posparto en un útero altamente contaminado (Olson et al. 1984), o cuando se infundió *A. pyogenes* dentro del lumen uterino (Farin et al. 1989). *Escherichia coli* libera la endotoxina lipopolisacárido (LPS), que afecta la liberación tanto de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) como de la hormona luteinizante (LH) (Peter et al. 1989), disminuye la actividad de la aromatasa (Herath et al. 2009), y aumenta la proporción prostaglandina-E2 (PGE) y PGF2 (Herath et al. 2009). Las consecuencias de la disminución de la actividad de la aromatasa son la disminución del crecimiento folicular y de la producción de estradiol (Williams et al. 2007; Williams et al. 2008). La disminución en la liberación de GnRH/LH produce un descenso en la tasa de ovulación (Peter et al. 1989), y el aumento en la proporción de PGE: PGF2 conduce a una fase luteal extendida cuando ocurre la ovulación (Farin et al. 1989). *A. pyogenes* libera la citoquina piolisina colesterol dependiente, que daña el endometrio y conduce a la producción de citoquinas pro-inflamatorias, descenso de receptores endometriales de oxitocina, y afectación del desarrollo embrionario (Hansen et al. 2004; Hill and Gilbert 2008). El efecto combinado de la infección bacteriana y activación de la inflamación es el daño al endometrio y embrión, retraso en la ovulación, acortamiento o extensión de la fase luteal tras la ovulación, aumento del tiempo a la primera inseminación, descenso en la tasas de concepción, aumento del tiempo a la concepción, y aumento de pérdida de la gestación (Opsomer 2000, Galvão et al. 2009; Galvão et al. 2010b).

En resumen, los PMN son el principal tipo de leucocito involucrado en la eliminación de bacterias tras la enfermedad uterina; sin embargo, durante el periodo de balance energético negativo, las vacas lecheras experimentan una reducción en la función de los PMN, incluyendo reducción de la fagocitosis y en la capacidad de eliminar bacterias. Esta reducción es más pronunciada en vacas que desarrollan enfermedad uterina. El glucógeno es la principal fuente de energía para la fagocitosis y eliminación de bacterias por

parte de los PMN: el calcio es un mensajero secundario importante para la activación de PMN; los AGNE están asociados con la afectación de la actividad de explosión oxidativa de los PMN, y el BHB reduce la fagocitosis de PMN, formación de trampas extracelulares y la eliminación de bacterias. Si el sistema inmune no es capaz de eliminar la infección bacteriana, la enfermedad se establece. El efecto combinado de la infección bacteriana y activación de la inflamación produce daño al endometrio y embrión, retraso en la ovulación, acortamiento o extensión de la fase luteal tras la ovulación, aumento del tiempo a la primera inseminación, descenso en la tasas de concepción, aumento del tiempo a la concepción, y aumento de pérdida de la gestación.

BIBLIOGRAFÍA

- Cai, T.Q., P.G. Weston, L.A. Lund, B. Brodie, D.J. McKenna, and W.C. Wagner. 1994. "Association between Neutrophil Functions and Periparturient Disorders in Cows." *Am. J. Vet. Res.* 55:934-43.
- Chapwanya, A., K.G. Meade, M.L. Doherty, J.J. Callanan, J.F. Mee, and C. O'Farrelly. 2009. "Histopathological and Molecular Evaluation of Holstein-friesian Cows Postpartum: Toward an Improved Understanding of Uterine Innate Immunity." *Theriogenology* 71:1396-407.
- Farin, P.W., L. Ball, J.D. Olson, R.G. Mortimer, R.L. Jones, W.S. Adney, and A.E. McChesney. 1989. "Effect of Actinomyces Pyogenes and Gram-negative Anaerobic Bacteria on the Development of Bovine Pyometra." *Theriogenology* 31:979-89.
- Galvão, K.N., L.F. Greco, J.M. Vilela, M.F. Sá Filho, and J.E. Santos. 2009. "Effect of Intrauterine Infusion of Ceftiofur on Uterine Health and Fertility in Dairy Cows." *J. Dairy Sci.* 92:1532-42.
- Galvão, K.N., M.J. Flaminio, S.B. Brittin, R. Sper, M. Fraga, L. Caixeta, A. Ricci, C.L. Guard, W.R. Butler, and R.O. Gilbert. 2010a. "Association between Uterine Disease and Indicators of Neutrophil and Systemic Energy Status in Lactating Holstein Cows." *J. Dairy Sci.* 93:2926-37.
- Galvão, K.N., M. Frajblat, W.R. Butler, S.B. Brittin, C.L. Guard, and R.O. Gilbert. 2010b. "Effect of Early Postpartum Ovulation on Fertility in Dairy Cows." *Reprod. Domest. Anim.* 45:e207-11.
- Galvão, K.N., N.R. Santos, J.S. Galvão, and R.O. Gilbert. 2011. "Association between Endometritis and Endometrial Cytokine Expression in Postpartum Holstein Cows." *Theriogenology* 76:290-9.
- Gilbert, R.O., Y.T. Gröhn, P.M. Miller, and D.J. Hoffman. 1993. "Effect of Parity on Periparturient Neutrophil Function in Dairy Cows." *Vet. Immunol. Immunopathol.* 36:75-82.
- Gilbert, R.O., N.R. Santos, K.N. Galvão, S.B. Brittin, and H.B. Roman. 2007. "The Relationship between Postpartum Uterine Bacterial Infection (BI) and Subclinical Endometritis (SE)." *J. Dairy Sci.* 90(Suppl. 1): 469 (Abstr).
- Goff, J.P., and R.L. Horst. 1997. "Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic Disorders." *J. Dairy Sci.* 80:1260-8.
- Grinberg, N., S. Elazar, I. Rosenshine, and N.Y. Shpigel. 2008. "Beta-hydroxybutyrate Abrogates Formation of Bovine Neutrophil Extracellular Traps and Bactericidal Activity against Mammary Pathogenic Escherichia Coli." *Infect. Immun.* 76:2802-7.
- Hammon, D.S., I.M. Evjen, T.R. Dhiman, J.P. Goff, and J.L. Walters. 2006. "Neutrophil Function and Energy Status in Holstein Cows with Uterine Health Disorders." *Vet. Immunol.* 113:21-9.
- Hansen, P.J., P. Soto, and R.P. Natzke. 2004. "Mastitis and Fertility in Cattle Possible Involvement of Inflammation or Immune Activation in Embryonic Mortality." *Am. J. Reprod.* 60:1104-9.
- Herath, S., S.T. Lilly, D.P. Fischer, E.J. Williams, H. Dobson, C.E. Bryant, and I.M. Sheldon. 2009. "Bacterial Lipopolysaccharide Induces an Endocrine Switch from Prostaglandin F2alpha to Prostaglandin E2 in Bovine Endometrium." *Endocrinology* 150:1912-20.
- Hill, J., and R. Gilbert. 2008. "Reduced Quality of Bovine Embryos Cultured in Media Conditioned by Exposure to an Inflamed Endometrium." *Aust. Vet. J.* 86:312-6.
- Hussain, A.M. 1989. "Bovine Uterine Defense Mechanism: A Review." *J. Vet. Med. B.* 36:641-51.
- Huzzey, J.M., D.M. Veira, D.M. Weary, and M.A. von Keyserlingk. 2007. "Prepartum Behavior and Dry Matter Intake Identify Dairy Cows at Risk for Metritis." *J. Dairy Sci.* 90:3220-33.
- Kaneko, K., and S. Kawakami. 2008. "Influence of Experimental Intrauterine Infusion of Arcanobacterium Pyogenes Solution on Ovarian Activity in Cycling Cows." *J. Vet. Med. Sci.* 70:77-83.
- Kaneko, K., and S. Kawakami. 2009. "The Roles of PGF (2alpha) and PGE (2) in Regression of the Corpus Luteum after Intrauterine Infusion of Arcanobacterium Pyogenes in Cows." *Theriogenology* 71:858-63.
- Kehrlí, M.E. Jr., and J.P. Goff. 1989. "Periparturient Hypocalcemia in Cows: Effects on Pe-

ripheral Blood Neutrophil and Lymphocyte Function." *J. Dairy Sci.* 72:1188-96.

- Kim, I. H., K. J. Na, and M. P. Yang. 2005. "Immune responses during the peripartum period in dairy cows with postpartum endometritis." *J. Reprod. Dev.* 51:757-764.
- Kuehl, F.A. Jr., and R.W. Egan. 1980. "Prostaglandins, Arachidonic Acid, and Inflammation." *Science* 210:978-84.
- Leung, S.T., Z. Cheng, E.L. Sheldrick, K. Derecka, K. Derecka, A.P. Flint, and D.C. Wathes. 2001. "The Effects of Lipopolysaccharide and Interleukins-1alpha, -2 and -6 on Oxytocin Receptor Expression and Prostaglandin Production in Bovine Endometrium." *J. Endocrinol.* 168:497-508.
- Martinez, N., C.A. Risco, F.S. Lima, R.S. Bisinotto, L.F. Greco, E.S. Ribeiro, F. Maunsell, K. Galvão, and J.E. Santos. 2012. "Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease." *J. Dairy Sci.* 95:7158-72.
- Olson, J.D., L. Ball, R.G. Mortimer, P.W. Farin, W.S. Adney, and E.M. Huffman. 1984. "Aspects of Bacteriology and Endocrinology of Cows with Pyometra and Retained Fetal Membranes." *Am. J. Vet. Res.* 45: 2251-5.
- Opsomer, G., Y.T. Gröhn, J. Hertl, M. Coryn, H. Deluyker, A. de Kruif. 2000. "Risk Factors for Post-partum Ovarian Dysfunction in High Producing Dairy Cows in Belgium: A Field Study." *Theriogenology* 53(4):841-57.
- Peter, A.T., W.T. Bosu, and R.J. DeDecker. 1989. "Suppression of Preovulatory Luteini-

zing Hormone Surges in Heifers after Intra-uterine Infusions of Escherichia Coli Endotoxin." *Am. J. Vet. Res.* 50:368-73.

- Sheldon, I.M., and H. Dobson. 2004. "Postpartum Uterine Health in Cattle." *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:295-306.
- Skarzynski, D.J., J.J. Jaroszewski, and K. Okuda. 2005. "Role of Tumor Necrosis Factor-alpha and Nitric Oxide in Luteolysis in Cattle." *Domest. Anim. Endocrinol.* 29:340-6.
- Vazquez-Añon, M., S. Bertics, M. Luck, R.R. Grummer, J. Pinheiro. 1994. "Peripartum Liver Triglyceride and Plasma Metabolites in Dairy Cows." *J. Dairy Sci.* 77:1521-8.
- Weisdorf, D.J., P.R. Craddock, and H.S. Jacob. 1982a. "Glycogenolysis versus Glucose Transport in Human Granulocytes: Differential Activation in Phagocytosis and Chemotaxis." *Blood.* 60:888-93.
- Weisdorf, D.J., P.R. Craddock, and H.S. Jacob. 1982b. "Granulocytes Utilize Different Energy Sources for Movement and Phagocytosis." *Inflammation* 6:245-56.
- Williams, E.J., D.P. Fischer, D.E. Noakes, G.C. England, A. Rycroft, H. Dobson, and I.M. Sheldon. 2007. "The Relationship between Uterine Pathogen Growth Density and Ovarian Function in the Postpartum Dairy Cow." *Theriogenology* 68:549-59.
- Williams, E.J., K. Sibley, A.N. Miller, E.A. Lane, J. Fishwick, D.M. Nash, S. Herath, G.C. England, H. Dobson, and I.M. Sheldon. 2008. "The Effect of Escherichia Coli Lipopolysaccharide and Tumour Necrosis Factor Alpha on Ovarian Function." *Am. J. Reprod. Immunol.* 60:462-73.

IDENTIFICACIÓN Y TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES UTERINAS

Klibs N. Galvão, PhD.

Department of Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine,
University of Florida Gainesville, FL 32610.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad uterina en la vaca lechera puede clasificarse como: metritis puerperal, metritis clínica, endometritis clínica y endometritis subclínica (Sheldon et al. 2006). Estas enfermedades se presentan con alta prevalencia en vacas lecheras de alta producción y han sido asociadas a descenso en la preñez por inseminación artificial (IA), inter-

valo a la preñez extendido, aumento de descartes y pérdidas económicas (Bartlett et al. 1986; Sheldon and Dobson 2004; Gilbert et al. 2005). La metritis afecta a alrededor del 20 % de las vacas lecheras, con una incidencia que va desde 8 a 40% en algunos tambos (Curtis et al. 1985; Galvão et al. 2009a; Goshen and Shpigel 2006; Hammon et al. 2006; Huzzey et al. 2007). La endometritis clínica también afecta a cerca del 20% de las vacas lecheras,