



## Distribución de Nutrientes y Performance Reproductiva en Vacas de Tambo

Matthew C. Lucy

Departamento de Ciencias Animales, Universidad de Missouri, Columbia 65211 - Email: lucym@missouri.edu

### Mensajes para llevarse a Casa

Las concentraciones sanguíneas de hormona de crecimiento (STH) se incrementan poco después del parto.

Niveles altos de STH en sangre coordinan la partición o distribución de nutrientes; el proceso por el cual los nutrientes son destinados preferencialmente para la producción láctea. La insulina sanguínea y el factor de crecimiento tipo insulínico (IGF)-1 se mantienen bajos cuando se incrementan las concentraciones sanguíneas de STH. Las concentraciones sanguíneas de STH se encuentran elevadas en vacas con balance energético negativo. Las concentraciones sanguíneas de insulina e IGF-1 se encuentran bajas en vacas con balance energético negativo.

Las vacas de tambo al postparto experimentan una variedad de anomalías reproductivas.

Muchas anomalías reproductivas pueden ser vinculadas con el balance energético negativo a través de los mecanismos hormonales que involucran GH, IGF-1, e insulina.

### 1.0 Introducción

La iniciación de la lactación y la transición metabólica hacia el pico de producción lechera ocurre rápidamente en la vaca de tambo (Bell, 1995). La distribución de nutrientes es el proceso por el cual los nutrientes son preferencialmente para la producción láctea. El rápido incremento de nutrientes requerido para la lactación provoca un balance energético negativo durante el período postparto temprano que puede durar varias semanas postparto. La distribución de nutrientes y el balance energético negativo afecta las concentraciones hormonales que finalmente controlan la función reproductiva (Butler 2000; Lucy, 2003). Esta revisión examinará los mecanismos endócrinos involucrados y como se relacionan con la reproducción en la vaca de tambo.

### 2.0 Distribución de nutrientes en la vaca de tambo

Las concentraciones sanguíneas de STH se incrementan poco después del parto (Bauman, 1999). Niveles altos de STH en sangre coordinan la partición o distribución de nutrientes; el proceso por el cual los nutrientes son destinados preferencialmente para la producción láctea. Muchos tejidos se ven afectados por la STH en la vaca en lactación, pero eventos coordinados en el hígado y tejido adiposo pueden ser más importantes. En el hígado, el incremento postparto de la STH estimula la gluconeogénesis. Se cree que el incremento en la gluconeogénesis involucra un efecto directo de la STH sobre la vía gluconeogénica así como un efecto indirecto de la STH sobre un antagonismo de la acción de la insulina. Las acciones de la STH sobre la gluconeogénesis hepática en la vaca lechera periparturienta son esenciales para alcanzar las demandas de glucosa

para la producción de leche. En el tejido adiposo, la STH incrementa la lipólisis, lo cual a su vez incrementa las concentraciones de AGNE en sangre. Los AGNE pueden ser oxidizados en el hígado o en tejidos extra hepáticos o pueden ser incorporados directamente en la grasa de la leche.

Las concentraciones de glucosa en sangre son bajas durante este período porque la glándula mamaria usa glucosa como energía y en la síntesis de lactosa. Concentraciones bajas de glucosa en vacas al postparto son asociadas con concentraciones bajas de insulina en sangre. Parece haber una resistencia a la insulina durante este período; particularmente en vacas de alta producción. Concentraciones bajas de insulina y una resistencia parcial a la insulina redireccionan los pool de glucosa existente hacia la glándula mamaria, donde la toma de glucosa es independiente de la insulina sanguínea.

La relación entre insulina sanguínea y la hormona del crecimiento (STH) es importante debido a que cada una de estas hormonas afecta de manera opuesta a la lactación. Las vacas de alta producción tienen concentraciones sanguíneas altas de STH, bajas concentraciones sanguíneas de glucosa y bajas concentraciones sanguíneas de insulina (Bauman, 1999). Las concentraciones sanguíneas altas de STH promueven una movilización del tejido adiposo e incrementan las concentraciones sanguíneas de ácidos grasos no esterificados (AGNE). Los AGNE pueden ser usados para la síntesis de la grasa de la leche. Las bajas concentraciones sanguíneas de insulina redireccionan la glucosa sanguínea hacia la glándula mamaria (mencionado arriba). Las vacas de baja producción tienen menores concentraciones sanguíneas de STH y mayores de insulina. Su capacidad para movilizar los AGNE es menor y se distribuye más glucosa hacia los tejidos fuera de la glándula mamaria. Estos hechos conducen a una menor producción de leche.

### 2.1 Mecanismos de Control de la Distribución de Nutrientes cerca del Parto

La hormona del crecimiento se une al receptor de la hormona de crecimiento (RSTH) en el hígado y controla la secreción de factor de crecimiento tipo-insulínico (IGF)-1. El IGF1 actúa entonces sobre el hipotálamo y la hipófisis para controlar la secreción de STH a través de un feedback negativo. Una serie de eventos fisiológicos que involucran a la STH, al RSTH, al IGF-1 y a la insulina coordinan los eventos metabólicos durante la lactación temprana en la vaca. El RSTH en el hígado declina aproximadamente dos días antes del parto, se mantiene bajo por aproximadamente una semana, y se incrementa lentamente durante la segunda semana después del parto (Figura 1; Radcliff y col., 2003). La disminución del RSTH después del parto se asocia con el período STH-resistente de la lactación temprana debido a que la STH debería actuar a través del RSTH. El perfil para el IGF-1 hepático es similar al del RSTH pero

la disminución en el IGF-1 ocurre levemente más tarde que la disminución del RSTH. Este retraso puede reflejar el hecho de que la síntesis de IGF-1 hepático depende de la STH actuando a través del RSTH. Las concentraciones sanguíneas de insulina también decrecen durante el período periparturiente. La disminución en la insulina ocurre aproximadamente 2 a 3 días después de la disminución del RSTH y coincide con la disminución en el IGF-1. Las concentraciones sanguíneas de STH se incrementan durante la primera semana después del parto debido a que las concentraciones sanguíneas de IGF-1 decrecen y se reduce el feedback negativo sobre la STH. El incremento de STH en sangre provoca una movilización lipídica y eleva los AGNE en sangre (Figura 1). De manera remarcable, la señal que inicia la movilización del tejido adiposo (el RSTH disminuido) ocurre coincidentemente con la lactogénesis y justo antes del pico de producción de leche. Por lo tanto, los mecanismos para la distribución de nutrientes son disparados con anticipación a la mayor demanda de nutrientes para la lactación.

La disminución en el RSTH es un fenómeno que es único para la vaca de tambo ya que la vaca de carne no sufre los mismos cambios en el RSTH en las cercanías del parto. Los cambios en el RSTH en la vaca de tambo versus la vaca de carne pueden ser una consecuencia de la sensibilidad diferencial a las hormonas del parto entre las razas de carne y leche, o pueden ser una consecuencia de un mayor empuje lactogénico en las vacas de tambo. Se necesita clarificar los respectivos roles que las señales del parto y las señales lactogénicas juegan en el control del RSTH.

La disminución en el RSTH antes del parto provoca un "no acoplamiento" del eje de la STH en las vacas al postparto. Existe un "reacoplamiento" subsiguiente del eje de la STH durante la lactación temprana. El proceso de reacoplamiento ha sido vinculado con la nutrición postparto y el balance energético y probablemente es dependiente del RSTH. Si la nutrición postparto y el balance energético afecta el reacoplamiento (expresión del RSTH) entonces, ¿cuál es la naturaleza de la señal? La infusión de insulina en vacas al postparto temprano incrementó el RSTH hepático (Butler y col., 2003). El no acoplamiento del RSTH inmediatamente antes del parto puede no ser insulino-dependiente ya que el RSTH decrece antes de la disminución de la insulina en sangre (Figura 1). Sin embargo, el incremento coincidente de insulina en sangre y RSTH hepático sugiere que el proceso de reacoplamiento depende de la insulina.

## 2.2 Un modelo para el control de la STH e Insulina sobre la Distribución de Nutrientes durante la Lactación

Los efectos antes mencionados de la insulina sobre la expresión del RSTH y el IGF-1 pueden ser combinados con datos recientes sobre diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2 para crear un modelo para la lactación temprana. El modelo incluye al hipotálamo/hipófisis, hígado, páncreas (células  $\beta$ ; fuente de insulina), tejido adiposo, y la glándula mamaria. El RSTH disminuye en el hígado poco después del parto.

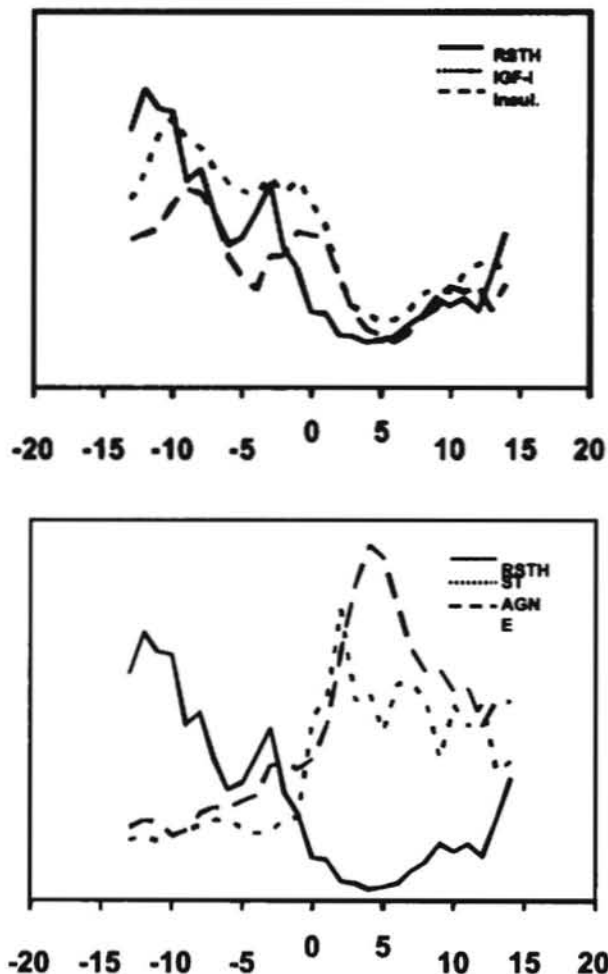


Figura 1. Cantidades relativas de RSTH hepático, insulina sanguínea, e IGF-1 en sangre (gráfica superior) y RSTH hepático, STH en sangre, y AGNE en sangre (gráfica inferior) en vacas postparto muestreadas desde 15 días antes hasta 15 días después del parto.

La disminución del RSTH conduce a una disminución en la síntesis hepática de IGF-1 y a una disminución en las concentraciones sanguíneas de IGF-1. La disminución de IGF-1 en sangre produce una reducción en el feedback negativo sobre la STH y un incremento en las concentraciones sanguíneas de STH. Mayores niveles de STH en sangre incrementan la gluconeogénesis y promueven la lipólisis en el tejido adiposo. Las concentraciones de insulina decrecen durante este período ya que las concentraciones de glucosa están bajas. Concentraciones bajas de insulina mantienen al RSTH hepático bajo. Sin embargo, la disminución en la insulina tiene un efecto opuesto sobre el tejido adiposo donde la expresión del RSTH se incrementa en respuesta a la disminución de la insulina en sangre. Noe está claro el mecanismo biológico que controla la respuesta del tejido adiposo. El incremento en RSTH incrementa el nivel de respuesta del tejido adiposo a la STH y mejora la movilización lipídica. La STH elevada y los AGNE elevados durante este período antagonizan la acción de la insulina y crean un estado de resistencia a la insulina. Las bajas concentraciones sanguíneas de insulina y la resistencia a la insulina entorpecen la utilización de la glucosa por tejidos no mamarios y conserva la glucosa para la síntesis de



leche.

El ciclo descrito arriba (bajo RSTH hepático, bajo IGF-1, alta STH, baja glucosa, baja insulina y resistencia a la insulina) se "apaga" gradualmente durante las primeras 4 a 8 semanas de lactación. El evento crítico podría ser un incremento en la glucosa sanguínea. El incremento en la glucosa en sangre ocurre cuando la síntesis de glucosa excede la demanda de glucosa. Más glucosa en sangre incrementa las concentraciones sanguíneas de insulina; el incremento de insulina incrementa el RSTH hepático y el IGF-1 hepático; el incremento de las concentraciones sanguíneas de IGF-1 produce un feedback negativo sobre la STH; y la reducción de STH reduce la movilización del tejido adiposo. El incremento en la insulina también hace disminuir el RSTH del tejido adiposo y reduce el nivel de respuesta a la STH. Por lo tanto, el vínculo entre los sistemas de la insulina y la somatotrofina garantiza una respuesta coordinada para cambiar la demanda y la disponibilidad de nutrientes durante la lactación temprana.

### 3.0 Mecanismos que Vinculan la Distribución de nutrientes con la Reproducción en la Vaca

Muchos de los mecanismos que controlan la reproducción están vinculados directamente con la nutrición del animal. Se presentará una visualización global de los conceptos básicos (Figura 2) y se refiere al lector a revisiones para una mayor información específica sobre estos temas (Butler, 2000; Lucy 2003).

#### 3.1 Intervalo a la Primera Ovulación

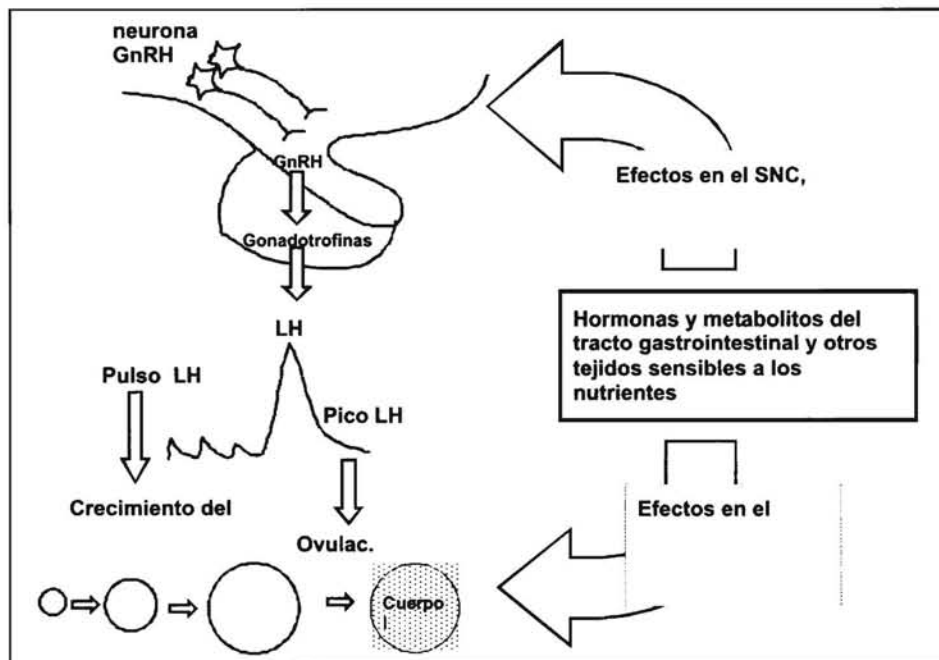
El crecimiento folicular en la vaca postparto es controlado

por una combinación de LH y FSH. Los mecanismos esenciales de control del crecimiento folicular son similares sin importar si la vaca está en anestro o ciclando. Descrita de una manera clásica, la FSH es vista como responsable del inicio del crecimiento folicular y la LH es responsable por la maduración final del folículo dominante/preovulatorio. La secreción de LH y FSH es controlada de manera primaria (LH) o en parte (FSH) por la GnRH del hipotálamo. Los factores que controlan la liberación de GnRH desde el hipotálamo son componentes principales de un modelo conceptual para la secreción de la LH (Figura 2).

La duración del período de anestro postparto depende del estímulo de mamado, condición corporal, y de la profundidad del balance energético negativo. Las vacas de tambor pueden no experimentar el estímulo de mamado pero si experimentan un período de balance energético negativo en el postparto temprano. Los requerimientos energéticos para la leche y el mantenimiento exceden a la energía consumida en la comida. El balance energético negativo resultante es asociado con una disminución en la pulsatilidad de la LH (Beam y Butler, 1999).

Las vacas al postparto comenzarán a ciclar una vez que la pulsatilidad de la LH alcance un nivel crítico. El incremento en la pulsatilidad de la LH estimula la maduración de un folículo dominante. El folículo dominante produce estradiol que alcanza un umbral para disparar un pico de LH. Existe una serie coordinada de eventos que actúan para promover el desarrollo folicular y eventualmente la ovulación.

Las concentraciones de insulina e IGF-1 se incrementan gradualmente durante el postparto. Las vacas en balance



**Figura 2.** Modelo conceptual para los mecanismos a través de los cuales la nutrición afecta la reproducción en vacas postparto (Lucy, 2003). Las hormonas y los metabolitos del tracto gastrointestinal y los tejidos que responden a los nutrientes afectan la secreción de GnRH y LH a través de sus acciones sobre el sistema nervioso central (CNS) e hipotálamo. Estas mismas hormonas y metabolitos pueden tener efectos directos sobre la función ovárica (folículo y cuerpo lúteo) así como sobre el oocito, oviducto y útero. Los efectos combinados de cada eje determinan la fertilidad postparto.



energético negativo tienen menores concentraciones sanguíneas de insulina e IGF-1. La insulina y el IGF-1 influyen en la secreción de GnRH y LH. El control hormonal (endócrino) surge desde tejidos que responden al estatus metabólico o nutricional del animal (p. ej., insulina del páncreas e IGF-1 del hígado). Es lógico que estas señales periféricas puedan actuar sobre el hipotálamo para transportar información desde importantes tejidos metabólicos. También pueden estar involucradas una variedad de metabolitos (glucosa, ácidos grasos, etc.) y otras hormonas que actúan como mensajeros transportados en la sangre.

Los mismos metabolitos y hormonas que influyen en la secreción de GnRH y finalmente la secreción de LH y FSH pueden actuar directamente sobre el ovario para influir en la sensibilidad del ovario a la LH y FSH. Células ováricas tratadas con insulina o con IGF-1 tuvieron un mayor número de receptores de gonadotropinas y una mayor activación de vías de mensaje secundarias en respuesta a las gonadotropinas (Lucy, 2000). También existe el potencial para que los efectos de la insulina y del IGF-1 sean completamente independientes de la LH y la FSH.

Puede ser imposible separar la relativa importancia de las gonadotropinas, factores de crecimiento producidos local y periféricamente, y metabolitos para el control de la reproducción en la vaca postparto. Las vacas que están nutricionalmente comprometidas tienen bajas concentraciones de metabolitos y hormonas metabólicas en su sangre. Teóricamente las menores concentraciones de hormona metabólica reducen el nivel de respuesta ovárica a las gonadotropinas (ver arriba). Al mismo tiempo las vacas al postparto tienen bajas concentraciones sanguíneas de LH, en parte por los efectos de las hormonas metabólicas sobre la secreción de GnRH por parte del hipotálamo. Por lo tanto, los efectos de la nutrición sobre la reproducción se manifiestan en el ovario y en la hipófisis e hipotálamo. La superación de una de las limitaciones no necesariamente hará recuperar la función ovárica.

### 3.2 Ciclos estrales anormales

El reanudamiento de la ciclicidad estral en la vaca no es necesariamente un sinónimo del reanudamiento de la fertilidad normal. Existen, por supuesto, "ciclos estrales cortos" infértiles cuya fisiología ha sido extensamente estudiada. Los fisiólogos reproductivos han visto ciclos estrales después de los ciclos estrales cortos como esencialmente normales con fertilidad normal. Sin embargo, hoy sabemos que al menos en vacas lecheras de alta producción el reanudamiento de la ciclicidad estral no es sinónimo del reanudamiento de los ciclos estrales regulares con fertilidad normal (ver debajo). Los factores que controlan la ciclicidad regular con fertilidad normal representan el mayor desafío para los biólogos reproductivos que trabajan con la vaca moderna.

Estudios han identificado una incidencia aumentada de ciclos estrales irregulares o anormales en las vacas de tambor (Roche y col., 2000; Tabla 1). Estas anomalías pueden manifestarse a través de una variedad de ciclos estrales patológicos que incluyen cese temporal de las fases luteales

así como fases luteales largas. Los factores conocidos por afectar las vacas al postparto como balance energético negativo, desórdenes del parto, y enfermedades del postparto son conocidos factores de riesgo para una ciclicidad demorada y fases luteales prolongadas (Opsomer y col., 2000). La incidencia de mellizos también se ha incrementado en las vacas lecheras modernas debido a que existen correlaciones genéticas positivas entre la incidencia de mellizos y el nivel de producción de leche (Kinsel y col., 1998)..

La incidencia aumentada de anestro, ciclos estrales anormales y mellizos comparten un mecanismo común mediado por la LH (Figura 3). Presumiblemente, el incremento en los anestros es causado por una disminución en la pulsatilidad de la LH que es secundaria al balance energético negativo en la vaca de tambor seleccionada para producción lechera. Menores concentraciones de hormonas metabólicas (p. ej., insulina e IGF-1) pueden contribuir a una disminución en el nivel de respuesta de la LH y crear una insensibilidad a las gonadotropinas en el ovario (ver arriba). Es posible que el estado comprometido de la secreción y sensibilidad de la LH continúen en el animal cíclico y desorganice aspectos funcionales del folículo dominante.

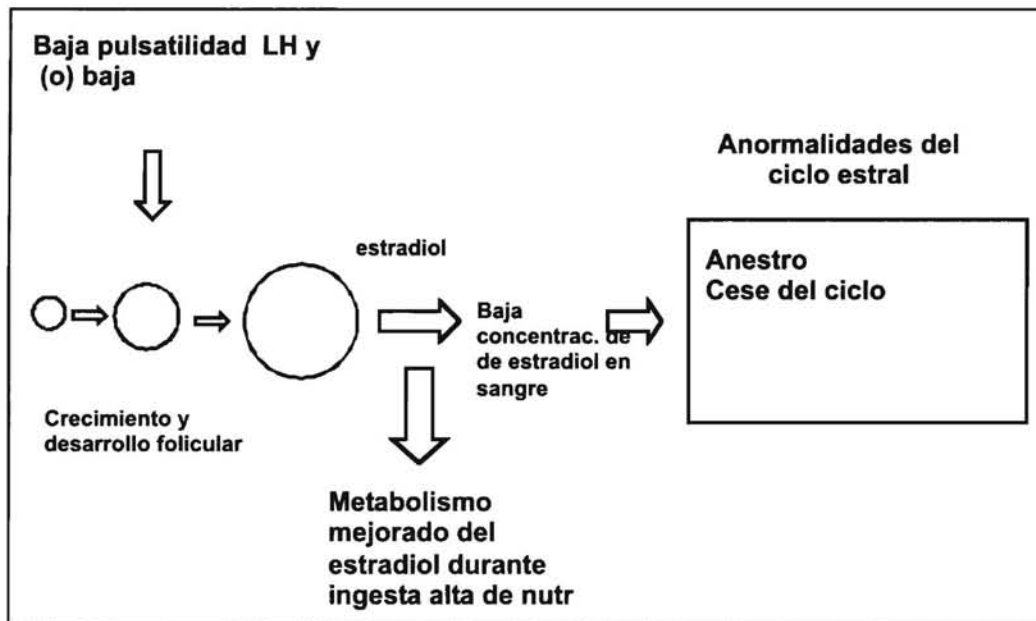
Las fases tempranas de la luteólisis son iniciadas por el estradiol. Por tanto, las fases luteales largas en vacas lecheras seleccionadas por producción láctea pueden ser causadas por folículos dominantes que están comprometidos en su desarrollo y producen insuficiente estradiol para iniciar la cascada luteolítica.

El cese temporal de los ciclos estrales puede ser causado por un mecanismo mediado por estradiol similar donde los folículos dominantes son incapaces de producir suficiente estradiol para disparar un pico de LH para la ovulación. Encontramos que el 21% de las vacas lecheras al

postparto en la fase luteal tratadas con una dosis de  $PGF_{2\alpha}$  no ovularon el folículo preovulatorio (J. M. Borman y M. C. Lucy, no publicado). El fenómeno fue revertido completamente con un tratamiento de estradiol luego de la inyección de  $PGF_{2\alpha}$ . Por lo tanto, concentraciones sanguíneas insuficientes pueden ser un factor causal que lleve a una falla en la ovulación luego de una luteólisis espontánea o de una luteólisis inducida en programas de sincronización del celo.

### 3.2 Calidad del oocito

Snijders y col. (2000) encontraron que los oocitos de vacas con baja condición corporal fertilizados *in vitro* tuvieron una tasa de segmentación menor y una tasa de desarrollo menor cuando se los comparó con oocitos de vacas lecheras con una mejor condición corporal. No se conoce el período exacto de la impresión nutricional del oocito, pero muchos especulan que ocurre durante los dos meses que le toma a un folículo progresar del estado primordial al preovulatorio. La posibilidad de que las vacas lecheras



**Figura 3.** Mecanismos que vinculan una secreción pobre de LH y un crecimiento folicular subóptimo con el ciclo estral y anomalías ováricas (Lucy, 2003). Bajas concentraciones sanguíneas de estradiol pueden ser debidas a una baja secreción de estradiol folicular (secundaria a una baja pulsatilidad de LH [o] a bajas concentraciones sanguíneas de factor de crecimiento) y un metabolismo mejorado del estradiol durante una ingesta alta de nutrientes. Una variedad de ciclos estrales y anomalías ováricas puede estar unida a bajas concentraciones de estradiol en sangre.

modernas tengan una calidad de oocitos pobre y una baja capacidad de fertilización in vivo ha sido alcanzada por un trabajo reciente que compara los estados de segmentación de embriones de vacas lactando y de vacas que no están en lactación (Wiltbank y col., 2001). El porcentaje de embriones normales luego del celo fue bajo (58%) para las vacas en lactación y menor que los valores históricos reportados en la literatura. Las vacas no lactantes tuvieron un porcentaje normal de embriones que fue comparable con los valores históricos para vacas lactantes normales (82%). El porcentaje de embriones en estados tempranos en vacas en lactación se acercó al esperado para las vacas "repetidoras" descrito en los años '70 (vacas con cuatro o más inseminaciones y que fallaban en lograr la preñez). Una calidad pobre del oocito y un desarrollo embrionario temprano pobre pueden reflejar un estado comprometido del desarrollo folicular en la vaca postparto. El desarrollo folicular comprometido puede finalmente ser unido a factores que vinculan la nutrición con la reproducción.

### 3.3 Tamaño y capacidad esteroideogénica del cuerpo lúteo

La subnutrición puede comprometer la preñez a través de sus efectos sobre el cuerpo lúteo. Existe una asociación positiva entre concentraciones de progesterona en sangre y preñez (Lamming y Darwash, 1998). Las vacas que están subalimentadas tienen un cuerpo lúteo más chico y menores concentraciones sanguíneas de progesterona (Gombe y Hansel, 1973). El efecto de la nutrición sobre el tamaño del cuerpo lúteo probablemente sea una consecuencia del efecto nutricional sobre el folículo antes del servicio. Las vacas cíclicas que están subalimentadas tienen folículos dominantes progresivamente menores y me-

nos estrogénicos antes de sucumbir al anestro (Bossi y col., 1999). Los folículos dominantes chicos dan lugar a cuerpos lúteos chicos. La capacidad esteroideogénica de las células luteales depende además de hormonas como STH, insulina e IGF-1 que son controladas por la nutrición en la vaca (Lucy, 2000).

### 3.4 Función uterina

Los embriones aparentemente normales pueden fallar en su desarrollo dentro del útero porque las vacas en pobre condición corporal pueden no sintetizar cantidades adecuadas de factores de crecimiento embriotróficos que son requeridos por embriones filamentosos. Mapletoft y col. (1986) examinaron las tasas de preñez luego de la transferencia embrionaria y encontraron que las receptoras con baja condición corporal tuvieron menores tasas de concepción cuando se las comparó con receptoras con un score alto de condición corporal. La pérdida embrionaria luego del día 28 de preñez fue mayor en vacas que perdieron la mayor cantidad de condición corporal (Silke y col., 2002). El sistema de IGF es regulado nutricionalmente y claramente reside dentro del útero y del embrión. El tratar vacas con STH luego de la inseminación incrementó las tasas de concepción, quizás a través de un mecanismo embriotrófico que involucra al IGF-1 (Bilby y col., 1999; Moreira y col., 2000). Por lo tanto, los IGF pueden estar vinculados a un efecto nutricional (condición corporal) en el embrión.

## 3.0 Conclusiones

La fisiología reproductiva de las vacas postparto es compleja debido a la lactación. Las concentraciones sanguíneas de STH se incrementan poco después del parto. Ni-



veles altos de STH en sangre coordinan la partición o distribución de nutrientes; el proceso por el cual los nutrientes son destinados preferencialmente para la producción láctea. Las concentraciones de STH sanguínea son elevadas y las concentraciones de insulina e IGF-1 en sangre son bajas en vacas en balance energético negativo. Muchas anomalías reproductivas pueden ser vinculadas con la distribución de nutrientes y con el balance energético negativo a través de mecanismos hormonales que involucran STH, IGF-1, e insulina. El entender las señales a través de las cuales la STH, el IGF-1 y la insulina regulan la función ovárica, la función uterina y el desarrollo temprano del embrión, revelará puntos críticos de control que pueden ser manipulados para mejorar la eficiencia reproductiva en la vaca.

### 5.0 Referencias

- Bauman DE. 1999. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application. *Domestic Animal Endocrinology* 17:101-116.
- Beam SW, Butler WR. 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 54:411-424.
- Bell AW. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science* 73:2804-2819.
- Bilby CR, Bader JF, Salfen BE, Youngquist RS, Murphy CN, Garverick HA, Crooker BA, Lucy MC. 1999. Plasma GH, insulin-like growth factor-I and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. *Theriogenology* 51:1285-1296.
- Bossis I, Wettemann RP, Welty SD, Vizcarra JA, Spicer LJ, Diskin MG. 1999. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. *Journal of Animal Science* 77:1536-1546.
- Butler WR. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 60-61:449-457.
- Butler ST, Bork AL, Pelton SH, Radcliff RP, Lucy MC, Butler WR. 2003. Insulin restores hepatic growth hormone (GH) responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of insulin-like growth factor-I and GH receptor 1A. *Journal of Endocrinology* 176:205-217.
- Gombe S, Hansel W. 1973. Plasma luteinizing hormone (LH) and progesterone levels in heifers on restricted energy intakes. *Journal of Animal Science* 37:728-733.
- Kinsel ML, Marsh WE, Ruegg PL, Etherington WG. 1998. Risk factors for twinning in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 81:989-993.
- Lamming GE, Darwash AO. 1998. The use of milk progesterone profiles to characterise components of subfertility in milked dairy cows. *Animal Reproduction Science* 52:175-190.
- Lucy MC. 2000. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *Journal of Dairy Science* 83:1635-1647.
- Lucy, M.C. 2003. Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reprod. Suppl.* 61:415-427.
- Mapletoft RJ, Lindsell CE, Pawlshyn V. 1986. Effects of clenbuterol, body condition, and nonsurgical embryo transfer equipment on pregnancy rates in bovine recipients. *Theriogenology* 25:172(abstract).
- Moreira F, Risco CA, Pires MF, Ambrose JD, Drost M, Thatcher WW. 2000. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science* 83:1237-1247.
- Opsomer G, Gröhn YT, Hertl J, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A. 2000. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology* 53:841-857.
- Radcliff RP, McCormack BL, Crooker BA, Lucy MC. 2003. Plasma hormones and expression of growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 86:3920-3926.
- Roche JF, Mackey D, Diskin MD. 2000. Reproductive management of postpartum cows. *Animal Reproduction Science* 60-61:703-712.
- Silke V, Diskin MG, Kenny DA, Boland MP, Dillon P, Mee JF, Sreenan JM. 2002. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 71:1-12.
- Snijders SE, Dillon P, O'Callaghan D, Boland MP. 2000. Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. *Theriogenology* 53:981-989.
- Wiltbank MC, Sartori R, Sangsritavong S, Lopez H, Haughian JM, Fricke PM, Gumen A. 2001. Novel effects of nutrition on reproduction in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84(Suppl. 1):32 (Abstract).