

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

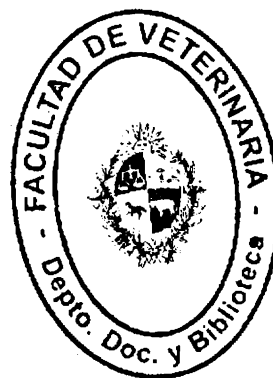
**PERFILES PLASMÁTICOS DE PROGESTERONA Y DINÁMICA FOLICULAR
LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE PROGESTERONA INYECTABLE O
INTRAVAGINAL EN VACAS EN ANESTRO**

por

María Elisa GARCÍA

Ariel SEGREDO

Natalia SOSA



TESIS DE GRADO presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación Producción Animal
Modalidad: Ensayo experimental



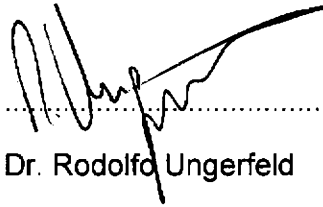
MONTEVIDEO

URUGUAY

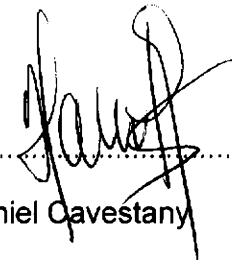
2011

TESIS DE GRADO aprobada por:

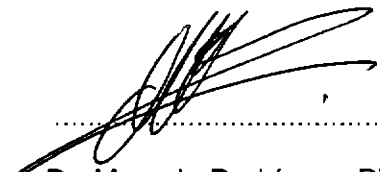
Presidente de mesa:


.....
Dr. Rodolfo Ungerfeld

Segundo miembro (Orientador):


.....
Dr. Daniel Cavestany

Tercer miembro:


.....
Dr. Marcelo Rodríguez Piñón

Fecha:

16 de agosto de 2011


Autores:

María Elisa GARCÍA

Ariel SEGREDO

Natalia SOSA

II

FACULTAD DE VETERINARIA
Aprobado con 9 (nueve) 

AGRADECIMIENTOS:

Al Dr. Daniel Cavestany por su dedicación y constante ayuda en nuestro trabajo.

Al personal de INIA La Estanzuela.

A la Facultad de Veterinaria por contribuir en nuestra formación.

A nuestros familiares, amigos y compañeros.

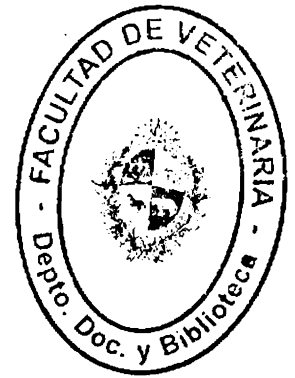
TABLA DE CONTENIDO:

	Página
RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
Recordatorio Anátomo Fisiológico	5
Hipotálamo	5
Hipófisis (Glándula Pituitaria)	5
Ovario	5
Útero	6
Hormonas Primarias de la Reproducción	6
Hormonas Hipotalámicas liberadoras/inhibidoras	6
Hormonas Adenohipofisarias	6
Hormonas Neurohipofisarias	7
Hormonas Esteroideas Gonadales	7
Prostaglandina	8
Ciclo Estral	8
Fases del Ciclo Estral	9
Regulación Hormonal del Ciclo Estral	9
Dinámica Folicular Bovina	11
Emergencia de la Onda Folicular	12
Selección y Desviación Folicular	12
Dominancia Folicular	12
Anestro Posparto	13
Balance energético en el período posparto	14
Clasificación de Anestro	16
Manejo del Anestro	17
Reanudación de la Ciclicidad Ovárica Posparto	18
Las tres fases del período posparto	19
Mecanismos que controlan el crecimiento folicular en el posparto	20
Principios de la Sincronización	21
Suplementación con progestágenos	22
Combinación de Progestágenos y GnRH	23
Eficiencia Reproductiva	23
Producción de leche	24
Condiciones Clínicas	24
Expresión del comportamiento estral y reinicio de la actividad ovárica	24
Calidad del oocito y el embrión	25
Infecciones Uterinas	25
Medidas de la Performance Reproductiva	26
OBJETIVOS	27
MATERIALES Y MÉTODOS	28
Esquema de sangrados	29

Esquema de protocolo de sincronización	30
Análisis estadístico	30
RESULTADOS	31
Perfiles de Progesterona en sangre en las primeras 48 h	31
Perfiles de Progesterona en sangre por día	32
Dinámica Folicular	33
DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES	39
BIBLIOGRAFÍA	40

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Esquema de sangrados realizado en vacas en anestro	29
Figura 2. Protocolo de Sincronización para los tratamientos	30
Figura 3. Niveles de Progesterona plasmática por hora	31
Figura 4. Niveles de Progesterona plasmática por día	32
Figura 5. Diámetro folicular a la US en los días 0, 7 y 9 del ensayo	33
Figura 6. Promedio del diámetro folicular a los días 7 y 9 del ensayo	34



RESUMEN

Los objetivos de este ensayo fueron evaluar los perfiles plasmáticos de progesterona (P4) y la dinámica folicular luego de la administración de P4 parenteral (MAD-4) o intravaginal (CIDR), en vacas en anestro y con más de 200 días posparto. Se utilizó un protocolo de sincronización de celos (Ovsynch), el cual consiste en la administración de GnRH (Buserelina) el día 0, prostaglandina F2 α (PG) al día 7 y GnRH el día 9; al cual se le agregó dos fuentes diferentes de P4, conformando tres tratamientos: CIDR por 7 días (n=8), 200 mg de MAD-4 (n=8) y 400 mg de MAD-4 (n=8). Se obtuvieron muestras de sangre al inicio del tratamiento (hora 0), a las 4, 8, 12 h siguientes y luego diariamente durante 8 días para determinar las concentraciones plasmáticas de P4. Se realizó ultrasonografía ovárica los días 0, 7 y 9 para evaluar el estado ovárico al inicio del tratamiento y el crecimiento de una nueva onda folicular. Los valores de P4 luego de la administración de MAD-4 alcanzaron su pico máximo a las 8 h de iniciado el tratamiento, para descender por debajo de los niveles basales (1ng/mL) a las 48 h. Los animales tratados con CIDR presentaron valores de P4 superiores a los basales (2 ng/mL) durante el tiempo que tuvieron el dispositivo intravaginal, decayendo luego de la remoción de éste. A su vez, éstos animales presentaron diámetros foliculares superiores a los tratados con P4 parenteral en los días 7 y 9 (14 mm vs 10 mm; P<0,05), aunque de todas formas fueron menores a los diámetros preovulatorios esperados para vacas de leche. La administración de P4 podría afectar la calidad del folículo ovulado, repercutiendo directamente en la eficiencia reproductiva. Se concluyó que el tratamiento con CIDR en vacas en anestro demostró ser la fuente de progesterona de elección.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the plasma profiles of progesterone (P4) and follicular dynamics after the administration of parenteral (MAD-4) or intravaginal (CIDR) P4 in anestrous cows with more than 200 days postpartum. A synchronization protocol (Ovsynch) was used, with the addition of two different sources of P4, resulting in 3 treatment groups: CIDR (n=8), 200 mg of MAD-4 (n=8) and 400 mg of MAD-4 (n=8). Blood samples were taken at the beginning of the treatment (0 h), 4, 8, 12 h and then daily for 8 days to determine plasma concentrations of P4; ovarian ultrasonography was performed on days 0, 7 and 9 to assess the ovarian status at the beginning of the treatments and the growth of the new follicular wave. After MAD-4, P4 values peaked at 8 h after the initiation of the treatment to fall below to baseline levels (1ng/mL) at 48 h. CIDR treated animals had higher P4 values (2ng/mL) during the time that the intravaginal device was maintained, declining after removing it. In turn, these animals showed follicular diameters greater than those treated with injectable P4 (14 mm vs. 10 mm; $P<0.05$) but anyway these diameters were smaller than expected for preovulatory follicles in dairy cows. This can affect the quality of the ovulated follicle, directly affecting reproductive efficiency. It was concluded that treatment with CIDR cows in anestrus proved to be the source of progesterone choice.

INTRODUCCIÓN

La fertilidad del ganado ha disminuido en los últimos 50 años mientras que se ha producido un rápido aumento en la producción (Royal y col., 2000). Así, la correlación genética entre la fertilidad y producción es, en general, desfavorable (Dobson y col., 2007). La genética actual de las vacas Holando prioriza el direccionamiento de nutrientes hacia la producción de leche antes que a la recuperación de reservas corporales o a la actividad reproductiva (Cavestany, 2009).

La ingesta diaria actúa a distintos niveles del eje hipotálamo-hipófisis-ovario para controlar la actividad ovárica. El estatus nutricional también ha sido asociado con la supervivencia embrionaria y es un factor importante en el uso de tecnologías para la reproducción asistida. En las vacas lecheras, el aumento en la producción de leche y la alta demanda metabólica han sido asociadas con largos intervalos de anestro posparto y ciclos estrales anormales (Royal y col., 2000).

La eficiencia reproductiva se puede definir como una "medida del logro biológico neto de toda la actividad reproductiva" que representa "el efecto integrado de todos los factores involucrados: celos, ovulación, fertilización, gestación y parto", lo que refleja el carácter multifactorial de la reproducción. No hay producción sin reproducción, para que una vaca comience a producir leche tiene que haber parido, lo que significa haber estado gestada, por lo cual debe de haber sido vista en celo e inseminada correctamente y en el momento adecuado. La dificultad en la detección de celo es uno de los problemas individuales que más incide en la eficiencia reproductiva en bovinos de leche en condiciones pastoriles. El objetivo principal de los esquemas de manejo reproductivo es optimizar la eficiencia reproductiva del rodeo medida como: porcentaje de detección de celos (%DC), que es el porcentaje de animales servidos en los primeros 21 días del inicio de la época de servicio sobre el total de animales ofrecidos al comienzo del mismo; porcentaje de concepción (%C), que es el porcentaje de animales preñados sobre el total de inseminados; y por último el porcentaje de preñez (%P) que se calcula como el porcentaje de detección de celos por el porcentaje de concepción (Cavestany, 2004).

Peter y col., 2009, definen el anestro como un amplio término que indica la falta de expresión del estro (o ausencia de signos estrales), independientemente de la eficiencia en la detección de celos. Aunque la ausencia de comportamiento y las características fisiológicas del estro pueden confundirse con anestro, la condición

verdadera de anestro es la anovulación (Peter y col., 2009a). La anovulación, con crecimiento folicular menor que el tamaño de folículos ovulatorios, ha sido observado en la mayoría de las vacas que muestran un prolongado intervalo posparto, y es la condición que presentan usualmente las vacas de leche en el posparto manejadas en sistemas pastoriles (Rhodes y col., 2003).

Los tratamientos de las vacas anovulatorias para inducir la ovulación y el estro aumentan las proporciones de animales del rodeo que pueden ser sometidos a la inseminación. La terapia actualmente recomendada incluye el uso de progesterona en un régimen de dosis continua por 5 a 8 días (Nation y col., 2000).

El uso adicional de P4 en protocolos Ovsynch en vacas en anestro tiene efectos beneficiosos porque aumenta la tasa de preñez en la inseminación artificial a tiempo fijo (Cavestany y col., 2009).

En la actualidad, la práctica más difundida es el uso de dispositivos intravaginales de liberación lenta de P4. La administración subcutánea podría sustituir al CIDR a los efectos de evitar el manejo que éste requiere (introducción y extracción del dispositivo). Para que esto sea viable, la P4 subcutánea tendría que alcanzar niveles iguales o superiores a los fisiológicos (1 ng/mL) en sangre, secretados por el cuerpo lúteo, por un lapso de tiempo no menor a 5 días.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Recordatorio Anátomo Fisiológico

Hipotálamo

Ocupa solo una pequeña parte del cerebro, en la región del tercer ventrículo, que se extiende desde el quiasma óptico hasta los cuerpos mamilares. Existen conexiones neurales entre el hipotálamo y el lóbulo posterior de la hipófisis a través del tracto hipotalámico-hipofisario y conexiones vasculares entre el hipotálamo y el lóbulo anterior de la hipófisis (Hafez y Hafez, 2000).

Hipófisis (glándula pituitaria)

La Hipófisis se localiza en la silla turca, una depresión ósea en la base del cerebro. La glándula se subdivide en tres partes anatómicas distintas: lóbulo anterior, intermedio y posterior. La hipófisis anterior tiene cinco tipos de células, que secretan seis hormonas diferentes, según el tipo de célula. Las somatotróficas secretan la hormona del crecimiento; las corticotróficas secretan la hormona adeno-corticotrófica (ACTH); las mamotróficas, prolactina; las tirotrólicas secretan la hormona estimulante de la glándula tiroides (TSH), y las gonadotróficas, la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) (Hafez y Hafez, 2000).

Ovarios

Órgano que libera óvulos y secreta hormonas. Entre las hormonas que producen los ovarios están los estrógenos, la progesterona y la inhibina. Los estrógenos, hormonas esteroideas, son producidos por el folículo ovárico y tienen acciones sobre los distintos órganos blanco como son las trompas de Falopio, el útero, la vagina, la vulva y el sistema nervioso central, en el cual estimulan la conducta de celo y el hipotálamo donde ejercen un "feedback" negativo sobre el centro tónico y positivo sobre el centro cíclico. La progesterona (P4) hormona esteroidea, es producida por el cuerpo lúteo por acción de la LH. Los efectos de la progesterona se observan después que el tejido blanco ha estado expuesto durante cierto tiempo a la estimulación de los estrógenos. Esta preparación por los estrógenos conduce a un efecto sinérgico. Esta hormona prepara el útero para el implante del embrión y para mantener la gestación. A nivel hipotalámico ejerce un efecto feedback negativo sobre el centro tónico. La inhibina, hormona proteica, es producida por el folículo

ovárico (células granulosas) e interviene en el mecanismo de regulación de la secreción de FSH. Ejerce un feedback negativo a nivel hipofisario, produciendo una menor secreción de FSH (Fernández y col., 2007).

Útero

Produce la prostaglandina F2 α (PG), la cual interviene en la regulación neuroendocrina del ciclo estral mediante su efecto luteolítico. Otra función es la de intervenir en los mecanismos de ovulación y del parto (Hafez y Hafez, 2000).

Hormonas primarias de la reproducción

Hormonas Hipotalámicas liberadoras/inhibidoras

Las hormonas del hipotálamo que regulan la reproducción son la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), ACTH, y el factor inhibidor de prolactina (Prolactin inhibiting factor, PIF). El hipotálamo es también la fuente de oxitocina y vasopresina que están almacenadas en la neurohipófisis (lóbulo posterior de la hipófisis) (Hafez y Hafez, 2000).

La GnRH proporciona un enlace humoral entre el sistema humoral y endocrino. En respuesta a las señales neurales, se liberan pulsos de GnRH hacia el sistema portal hipofisario para la liberación de LH y FSH de la hipófisis anterior (Hafez y Hafez, 2000).

Hormonas adenohipofisarias

El lóbulo anterior de la hipófisis secreta tres hormonas gonadotróficas: FSH, LH y Prolactina.

Hormona Folículo Estimulante: promueve el crecimiento y la maduración del folículo ovárico o folículo de Graaf. La FSH no causa la secreción de estrógeno del ovario por sí sola, sino que necesita la presencia de LH para estimular la producción de estrógeno (Hafez y Hafez, 2000).

Hormona Luteinizante: los niveles tónicos o basales de LH actúan conjuntamente con FSH para inducir la secreción de estrógenos del folículo ovárico grande. La oleada preovulatoria de LH es la responsable de la ruptura de la pared folicular y la ovulación (Hafez y Hafez, 2000).

Prolactina: ésta inicia y mantiene la lactancia (Hafez y Hafez, 2000).

Hormonas neurohipofisarias

Son producidas por el hipotálamo y almacenadas en la hipófisis posterior. Estas hormonas son la Oxitocina y Vasopresina (Antidiurética o ADH).

Oxitocina: entre otras, está involucrada también en la función lútea. Esta actúa en el endometrio para inducir la liberación de PG, que tiene una acción luteolítica, de regresión del cuerpo lúteo (Hafez y Hafez, 2000).

Hormonas Esteroideas Gonadales

Los ovarios secretan primordialmente hormonas esteroideas gonadales. También órganos no gonadales, como las glándulas adrenales y la placenta, secretan hormonas esteroideas en cierta medida.

Los ovarios producen dos hormonas esteroideas, Estrógenos y P4, y una hormona proteica, la Relaxina (Hafez y Hafez, 2000).

Estrógenos: tienen el rango más amplio de funciones fisiológicas, como actuar sobre el SNC para inducir el comportamiento estral en la hembra. Se necesitan pequeñas cantidades de P4 con estrógenos para inducir el estrus. Otra de las funciones es actuar en el útero para aumentar la amplitud y la frecuencia de las contracciones, potencializando los efectos de la oxitocina y la PG. Otra es desarrollar físicamente los caracteres secundarios femeninos y estimular el crecimiento de los conductos y causa el desarrollo de la glándula mamaria. Por último, ejerce el control de retroalimentación tanto positivo como negativo en la liberación de LH y FSH a través del hipotálamo (Hafez y Hafez, 2000).

Progesterona: realizan las funciones de preparación del endometrio para la implantación y mantenimiento de la preñez, lo cual aumenta la actividad de las glándulas secretoras en el endometrio e inhibe la movilidad del miometrio. A su vez, actúa sinérgicamente con los estrógenos para inducir el comportamiento estral. Desarrolla el tejido secretor de la glándula mamaria. En concentraciones altas inhibe el estrus y el pico pre-ovulatorio de LH. Así, la P4 es importante en la regulación hormonal del ciclo estral (Hafez y Hafez, 2000).

Relaxina: es secretada principalmente por el cuerpo lúteo durante la preñez. La principal acción biológica es la dilatación del cuello uterino y la vagina antes del parto. También inhibe las contracciones uterinas y causa mayor crecimiento de la glándula mamaria si se la administra junto con estradiol (Hafez y Hafez, 2000).

Inhibinas y Activinas: son reguladores endócrinos y paracrinos, ya que modulan la señal endocrina de LH.

Las células de la granulosa en la hembra producen inhibina, éstas desempeñan una regulación importante de la foliculogénesis ovárica durante el ciclo estral. Actúan como señales químicas para la hipófisis, respecto al número de folículos que crecen en el ovario. La inhibina reducen la secreción de FSH a un nivel tal, que mantiene el número de ovulaciones específicas en la especie. Al inhibir la liberación de FSH sin alterar la liberación de LH, la inhibina pueden ser en parte la responsable de la liberación diferencial de LH y FSH desde la hipófisis (Hafez y Hafez, 2000).

La *activina* es un potente dímero liberador de FSH y está presente en líquidos gonadales, por ejemplo, el líquido folicular (Hafez y Hafez, 2000).

Prostaglandina F2 α

Es el agente luteolítico natural que finaliza la fase lútea del ciclo estral y permite el inicio de un nuevo ciclo estral en ausencia de fertilización. Ésta es particularmente potente para finalizar la preñez temprana; y a su vez está involucrada en la ovulación (Hafez y Hafez, 2000).

Ciclo Estral

Definición: consiste en una serie de eventos reproductivos que comienzan en el estro y terminan en el estro siguiente. Se continúan a lo largo de la vida adulta y son interrumpidos (anestro) por la gestación, lactancia, nutrición inadecuada o cuando las condiciones ambientales son estresantes. Condiciones patológicas del tracto reproductivo, como infecciones uterinas, o momificación fetal también pueden causar anestro, período en el cual la ciclicidad se ve interrumpida. El ciclo estral provee a las hembras repetidas oportunidades para quedar gestadas. La receptividad sexual y copulación son eventos conductuales principales que ocurren durante el estro. Si no ocurre la concepción comienza otro ciclo estral, proporcionándole a la hembra otra oportunidad para concebir (Senger, 2003).

Fases del ciclo estral

El ciclo estral se divide comúnmente en dos períodos: fase estrogénica o folicular, que incluye el proestro y el estro, y fase progestacional o luteínica, que comprende el metaestro y el diestro (Roberts, 1984).

El *Proestro* es la fase que precede al celo. Hay crecimiento folicular y regresión del cuerpo lúteo del ciclo previo. El útero aumenta de tamaño, el endometrio está congestionado y edematoso y sus glándulas presentan abundante actividad secretora; la mucosa vaginal está hiperémica (Arthur, 1991).

El *Estro* es el período en el que la hembra acepta al macho. Las glándulas del útero, cérvix y vagina secretan abundante cantidad de moco. El epitelio vaginal y el endometrio están hiperémicos y congestionados. El cérvix se encuentra dilatado. La ovulación se produce unas 12 horas después de finalizado éste período (Arthur, 1991).

Durante el proestro y el estro hay un crecimiento folicular con ausencia de cuerpo lúteo funcional, siendo los estrógenos la hormona que se produce en mayor cantidad por el ovario (Arthur, 1991).

El *Metaestro* es la fase inmediatamente posterior al estro. Las células granulosas del folículo que ha ovulado se transforman en células luteales a partir de las cuales se forma el cuerpo lúteo. En ésta fase se reduce la secreción de las glándulas uterinas, cervicales y vaginales (Arthur, 1991).

El *Diestro* es el período en el que el cuerpo lúteo es funcional secretándose grandes cantidades de progesterona. El cuello uterino se contrae. Las secreciones del aparato genital son escasas y viscosas y la mucosa vaginal se vuelve pálida (Arthur, 1991).

Regulación hormonal del ciclo estral

La regulación de la ciclicidad sexual se lleva a cabo bajo el control del eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

El hipotálamo controla la liberación de las gonadotropinas (FSH y LH) de la hipófisis anterior mediante la acción de sustancias específicas liberadoras e inhibidoras (GnRH).

Existe un sistema tónico, responsable de la secreción basal continúa de gonadotrofinas que estimulan el desarrollo de los componentes germinales y endocrinos del ovario, y un sistema cíclico que controla las secreciones masivas y cíclicas de gonadotrofinas, particularmente la LH, responsable de la ovulación (Arthur, 1991).

No solamente la hipófisis anterior tiene efecto directo sobre las funciones ováricas como la foliculogénesis, maduración folicular, ovulación y formación de cuerpo lúteo, sino que también el ovario tiene un efecto sobre el hipotálamo y la hipófisis anterior. Este último efecto es ejercido por el estradiol, producido por los folículos maduros y la P4 secretada por el cuerpo lúteo. El E2 y la P4 tienen un efecto feedback negativo sobre el centro tónico hipotalámico. El efecto feedback positivo del E2 sobre la función hipotálamo hipofisaria estimula la liberación de LH la cual es necesaria para la ovulación y formación del cuerpo lúteo (Arthur, 1991).

La liberación tónica de gonadotrofinas, especialmente de LH, ocurre de forma pulsátil, en respuesta de una liberación también pulsátil de GnRH del hipotálamo. El efecto feedback negativo de la P4 se lleva a cabo mediante una reducción en la frecuencia de los pulsos de gonadotrofinas, mientras que el E2 ejerce su efecto reduciendo la amplitud de las pulsaciones (Arthur, 1991).

La P4 juega un importante papel en la inhibición de la secreción tónica de LH. Cuando la P4 disminuye, es decir, cuando regresa el cuerpo lúteo, hay una liberación de LH por parte de la hipófisis anterior. El incremento de la LH dispara la secreción de E2, éste incremento estimula el centro cíclico hipotalámico que induce el pico pre-ovulatorio de LH hipofisaria, y como resultado, se provoca la ovulación del folículo maduro (Arthur, 1991).

El cuerpo lúteo se forma a partir de las células luteinizadas que derivan de las células de la granulosa del folículo.

La presencia del cuerpo lúteo funcional mediante la producción de P4 inhibe el retorno al celo al ejercer un feedback negativo sobre la hipófisis anterior.

La acción luteolítica del útero se ejerce sobre el cuerpo lúteo del ovario ipsilateral mediante la PG (Arthur, 1991).

Dinámica Folicular

El proceso continuo de crecimiento y regresión de los folículos antrales que conducen al desarrollo del folículo preovulatorio es conocido como "dinámica folicular" (Lucy y col., 1992)

El crecimiento folicular en el ganado ocurre en un modelo de ondas y en la mayoría de los ciclos estrales están compuestos por 2 ó 3 de estas ondas (Adams y col., 2008).

Numerosos trabajos demuestran que el patrón de ondas se repite en casi todos los estadios de la vida de hembra bovina, incluyendo el período prepúber, preñez y el período posparto (Bo y Caccia, 2000).

La emergencia de la onda folicular se caracteriza por el crecimiento de 8 a 41 folículos pequeños en un lapso de 2 a 3 días. La tasa de crecimiento es similar entre folículos de una misma onda por aproximadamente 2 días, cuando un folículo es seleccionado para continuar su crecimiento (folículo dominante), mientras que los folículos remanentes se vuelven atrésicos y regresan (folículos subordinados). El folículo dominante suprime el crecimiento de los folículos subordinados en la onda existente y la emergencia de una nueva onda folicular (Adams y col., 2008).

En las etapas tempranas del crecimiento folicular las gonadotrofinas parecen no ser un pre requisito definitivo para el desarrollo folicular. Sin embargo en las etapas tardías del mismo es claramente dependiente de las hormonas adenohipofisarias, LH y FSH. Estas hormonas proveen el mecanismo primordial que controla el reclutamiento, selección y dominancia folicular, vía feedback negativo con el eje hipotálamo-hipofisario. La FSH es la hormona principal en el control del crecimiento folicular y su secreción es a su vez controlada a través de los principales productos secretados por un gran folículo dominante, estradiol e inhibina (Hunter y col., 2004).

Emergencia de la onda folicular

Durante cada onda de crecimiento folicular un pool de folículos de 4-5 mm de diámetro (normalmente de 1 a 6) emergen y comienzan a crecer (reclutamiento) (Bao y col., 1998).

En base al momento en que el folículo dominante de la primera onda alcanza un tamaño ≥ 4 mm, la emergencia de la primera onda (anovulatoria) y la segunda onda (ovulatoria), en un ciclo de 2 ondas, ocurre aproximadamente en los días 0 y 10 respectivamente. En los ciclos de 3 ondas la emergencia de cada una de ellas ocurre en los días 0, 9 y 16 respectivamente) (Adams y col., 2008).

Selección y desviación folicular

Selección es el proceso por el cual un solo folículo es elegido y evita la atresia, con la competencia potencial de alcanzar la ovulación (Lucy y col., 1992).

El término desviación es el cambio brusco en el rango de crecimiento de los folículos, el dominante comienza a crecer a un mayor rango y los subordinados cesan de crecer o lo hacen más lentamente (Bo y Caccia, 2000).

Otros eventos en el marco del proceso de selección del folículo incluyen: momento de reclutamiento de folículos primordiales del resto del grupo, disposición jerárquica de los folículos pre antrales, etapa de desarrollo y tamaño del folículo antral en el momento de desarrollo de la onda (Peter y col., 2009a).

Dominancia folicular

Dominancia es el proceso mediante el cual un solo folículo alcanza y mantiene su supremacía sobre los otros folículos reclutados, los cuales sufren atresia (Bao y col., 1998).

Un folículo puede ser considerado dominante cuando alcanza los 10 mm de tamaño (Ginther y col., 2003).

Anestro posparto

El anestro según Mwaanga y Janowski (2000), puede definirse como un período de quietud sexual, en el cual el animal no presenta estro, ciclos normales o manifestación de celo.

Anestro es un amplio término que indica la falta de expresión del estro (o la ausencia de signos estrales) independientemente en la eficiencia en la detección de celos. Se caracteriza generalmente por la falta de producción de progesterona ovárica. Aunque la ausencia de comportamientos y características fisiológicas del estro pueden confundirse con anestro, la condición verdadera de anestro es la anovulación (Peter y col., 2009a).

El retraso en la reanudación de la actividad ovárica posparto es causada por un gran número de problemas, en lugar de ser causada por una tendencia general en la reanudación de la actividad ovárica después del parto (Opsomer y col., 2000). El período posparto juega un papel primordial en la reproducción del ganado. La duración del anestro posparto tiene una influencia importante en la performance reproductiva (Lucy, 2007).

Factores como ser limitaciones en el consumo de energía, bajas reservas corporales, y en enfermedades posparto, pueden demorar el retorno a la ciclicidad (Opsomer y col., 2000).

La duración del anestro posparto no está determinada por la emergencia de la onda folicular sino por la desviación y/o el destino del folículo dominante. Bajo óptimas condiciones, existe desviación en el crecimiento folicular, selección del folículo dominante que crece hasta madurar, ovulación y subsecuentemente luteólisis, resultando en el restablecimiento de la actividad ovárica cíclica, con la oportunidad para la vaca, de quedar preñada. Una falla en cualquiera de estos procesos prolonga el anestro posparto (Peter y col., 2009b).

Después del parto, el crecimiento folicular se reanuda generalmente a los 7-10 días de ocurrido el mismo, asociado a un aumento transitorio de la FSH que se produce 3-5 días luego del parto (Crowe, 2008).

Cuando la concentración de FSH comienza a declinar, un folículo es seleccionado para continuar creciendo y convertirse en un folículo dominante. Este folículo dominante suprime la secreción de FSH y la emergencia de una nueva onda, probablemente debido a la producción de inhibina y estradiol. La habilidad de éste folículo de crecer y ovular depende del cambio en las concentraciones y la viabilidad de varios factores de crecimiento del folículo (p.e. factor de crecimiento tipo insulínico I, IGF-I) así como también el aumento de la pulsatilidad de LH. En ausencia de ovulación el folículo dominante se atresia o se convierte en quiste; en las vacas en las cuales el folículo dominante se vuelve atrésico, tendrán una nueva onda folicular, llevándolo a la selección de un nuevo folículo dominante (Peter y col., 2009b).

Balance energético en el período posparto

El balance energético es el resultado de la ingesta de energía menos la energía utilizada para el mantenimiento y la producción de leche (Peter y col., 2009b).

Existe una interrelación muy importante entre la nutrición y la producción de leche en las vacas y esta relación tiene gran efecto en el funcionamiento fisiológico en el sistema reproductivo, que está bajo la influencia del sistema endocrino. El mecanismo por el cual la nutrición influye en la reproducción no ha sido completamente establecido, pero la cantidad y calidad de los nutrientes en el consumo es muy importante en el preparto (siendo más crucial en el último tercio de la gestación) y el posparto (Mwaanga y Janowski, 2000). Muchos estudios han propuesto señales metabólicas tales como metabolitos sanguíneos (ácidos grasos no esterificados y β -hidroxibutirato) y hormonas metabólicas como Insulina, hormona del crecimiento (GH) y factor de crecimiento tipo insulínico (IGF-1) que se ven afectados por alteraciones en el metabolismo energético (Cavestany, 2009).

Durante la lactancia temprana, en vacas que se encuentran en un estado de balance energético negativo (BEN), las reservas grasas son las primeras a ser usadas para la lactación, mantenimiento y crecimiento, recibiendo así los procesos reproductivos la mínima prioridad. El estatus endocrino, el intervalo parto-primer estro y la tasa de preñez se ven alterados cuando la vaca es sometida a una reducción de la ingesta de nutrientes; expresada con la pérdida de peso y condición corporal, reduciendo la actividad ovárica (actividad lútea y cese del ciclo estral). La disminución sustancial en el peso y la condición corporal se correlaciona con la pérdida de tejido adiposo.

Éste conlleva al aumento de la concentración de ácidos grasos no esterificados (NEFA) en plasma, que es indicativo de BEN y de la liberación de ácidos grasos de los adipocitos. Esto provocaría que la liberación de NEFA debido al BEN, en animales sometidos a un nivel nutricional bajo, o animales de alta producción provoca la liberación de alguna cantidad de progesterona de los tejidos grasos la que a su vez inhiben el crecimiento folicular y los signos del celo (Mwaanga y Janowski, 2000).

La ovulación es retardada por la inhibición de los pulsos de LH y la concentración sanguínea de glucosa, insulina, y factor de crecimiento insulínico (IGF-I), los cuales reducen la producción de estrógeno del folículo dominante (Butler, 2000).

El aumento en la ingesta también suprime la reproducción promoviendo esteroides del metabolismo hormonal. Incrementos en la ingesta mejoran la perfusión hepática, de tal modo que promueve el "clearance" de estradiol y progesterona, la cual contribuye a la anovulación. Además, dietas altas en proteína cruda, mayor al 16 a 17%, favorecen la alta producción de leche, pero pueden disminuir la performance reproductiva debido a la elevada concentración de urea en sangre (Peter y col., 2009b).

Históricamente el anestro ha sido ampliamente clasificado según el estado fisiológico y patológico (Peter y col., 2009b). Según Mwaanga y Janowskei (2000), las vacas se consideran en anestro fisiológico antes de la pubertad, durante la preñez y unos pocos días (hasta 60 días) luego del parto. El tipo patológico puede ser debido a: (1) ovarios inactivos (p. e. mínimo desarrollo folicular, anovulación y no desarrollo del cuerpo lúteo); (2) ovulación silenciosa (p.e. ovulación sin comportamiento estral); (3) hipofunción ovárica (p.e. folículo dominante persistente); (4) degeneración ovárica quística (p.e. quiste folicular luteinizado o folicular); y (5) cuerpo lúteo persistente (p.e. falta de regresión luteal) (Mwaanga y Janowski, 2000).

El anestro ha sido clasificado por Peter y col.(2009b) según la dinámica ovárica, luteal y folicular. La dinámica de la onda folicular implica tres eventos morfológicos principales: (1) emergencia, (2) desviación, y (3) dominancia, la cual termina en ovulación o anovulación (Peter y col., 2009b).

La evaluación del crecimiento folicular ovárico realizado mediante ultrasonografía transrectal, junto a la medición de la concentración de las hormonas reproductivas, ha permitido designar 3 diámetros foliculares funcionales críticos durante el crecimiento folicular: emergencia (~4 mm), desviación (~9 mm), y ovulación (variable desde 10 a 20 mm). La clasificación de la condición de anovulación en base a estos 3 puntos críticos es lógica, ayuda al diagnóstico racional y asiste en los tratamientos de condición fisiológica subyacente (Wiltbank y col., 2002).

Clasificación del Anestro según Peter y col. (2009b)

Anestro tipo I: existe crecimiento folicular hasta la emergencia, sin desviación o establecimiento del folículo dominante. La fisiopatología de esta condición no es bien entendida, pero se presume que se debe a una extrema subnutrición. Esta, y un severo déficit energético puede causar esta condición a través de la falta de LH esencial para mantener el crecimiento folicular y la dominancia. Ovarios asociados con este tipo de anestro entran en la clásica descripción de ovarios inactivos.

Anestro tipo II: existe desviación y crecimiento seguido de atresia o regresión temprana. En ciertos casos, la regresión o atresia, ocurre solo después de haber alcanzado un estado de dominancia. La regresión de éste folículo resulta en la emergencia de una nueva onda folicular 2 a 3 días después. Algunos folículos continúan creciendo y regresan antes de la ovulación. Estas vacas probablemente tienen baja frecuencia en los pulsos de LH (menos de uno cada 3 ó 4 h). Estos folículos dominantes producen concentraciones de E2 periféricas muy bajas, por lo tanto hay insuficiente producción de E2 o falla en el feedback positivo de la producción basal de E2 producida por el folículo dominante. Posteriores ondas foliculares emergen dentro de 1 ó 2 días luego de la regresión de éstos folículos.

Anestro tipo III: hay desviación, crecimiento y establecimiento de folículo dominante, pero no hay ovulación y se convierte en una estructura folicular persistente. Esto se puede deber a la falta de sensibilidad del hipotálamo al efecto del feedback positivo del E2 o a una incapacidad folicular para responder al estímulo gonadotrófico vía hormonas metabólicas (p.e. factor insulínico del crecimiento e insulina). Las estructuras foliculares persistentes pueden convertirse en quistes o se pueden luteinizar (quiste luteal). Dependiendo del estatus estructural/funcional de la

estructura anovulatoria, puede o no suprimir la emergencia de posteriores ondas foliculares posparto por un intervalo variable de tiempo.

Anestro tipo IV: se debe a una prolongada fase luteal. Estas vacas tienen un estro normal, ovulan, y forman cuerpo lúteo, con función luteal prolongada debido a la falta de regresión luteal. Un factor contribuyente puede ser la falta de un folículo estrogénico dominante en el momento esperado de la regresión luteal. En este sentido, el E2 proveniente del folículo dominante induce la formación de receptores uterinos para la oxitocina, que conduce a la liberación pulsátil de PG. Han sido sugeridos muchos factores que incrementen el riesgo de una fase luteal prolongada, incluyendo paridad, distocia, problemas de salud durante el primer mes de lactación, estrés calórico, y quizás ovulación temprana después del parto. Infecciones uterinas o piometras pueden prolongar la vida del cuerpo lúteo (Peter y col., 2009b).

Manejo del anestro:

No existe un tratamiento particular para el anestro que pueda ser recomendado inequívocamente para todos los rodeos. Los tratamientos para el anestro posparto deben estar dirigidos a aumentar la frecuencia de los pulsos de LH y permitir a los folículos alcanzar las etapas finales de maduración. Si se utilizan métodos hormonales para el tratamiento del anestro, es necesario iniciar los mismos con una fuente de progesterona para estimular el sistema hipotálamo-hipofisario, luego de lo cual se pueden utilizar combinaciones hormonales que desencadenan la secuencia de eventos necesarios para lograr una ovulación (GnRH, E2, PG, etc.) (Cavestany, 2009).

Generalmente los tratamientos para anestro se realizan en vacas que están en lo que denominamos anestro tipo II y III (conocidos también como "anestro superficial"), o sea que existe en el ovario un crecimiento folicular que no alcanza el tamaño ovulatorio, dado que animales en anestro tipo I (o "anestro profundo") o sea sin crecimiento folicular por lo menos detectable a la ultrasonografía, están generalmente en un BEN que tienen poca chances de respuestas a estos tratamientos (Cavestany, 2009).

Reanudación de la ciclicidad ovárica posparto

Al momento del parto, las concentraciones de P4 y E2 disminuyen a sus niveles basales. Esto permite la casi inmediata reanudación de los aumentos en las concentraciones de FSH. El primero de estos aumentos estimula el primer crecimiento de onda folicular posparto que generalmente produce un folículo dominante a los 7 a 10 días postparto. El destino del folículo dominante de la primera onda folicular depende de su capacidad de secretar E2 para inducir un aumento de gonadotrofinas. La capacidad de secretar E2 es dependiente de la frecuencia en los pulsos de LH durante la fase de dominancia de la onda folicular, el tamaño del folículo dominante y la disponibilidad de la IGF-I. Por lo tanto, el factor más importante para la ovulación del folículo dominante durante el período posparto es la frecuencia en los pulsos de LH (Crowe 2008).

Por lo general, la primera ovulación es silenciosa (estro no conductual) y es seguida por un ciclo corto, usualmente de una sola onda. La primera fase luteal es reducida en el tiempo debido a la liberación prematura de PG, presuntamente derivada del aumento del E2 producido por la formación del folículo dominante ovulatorio en el día 5-8 del ciclo, induciendo prematuramente receptores para el E2 y la oxitocina uterina. La prematura regresión del cuerpo lúteo los días 8-10 del ciclo con la segunda ovulación (de éste folículo dominante postovulatorio) ocurre aproximadamente los días 9-11 después de la primera ovulación. La segunda ovulación generalmente se asocia con la expresión del estro y la duración normal de la fase luteal (Crowe, 2008).

La concentración de P4 es el factor más importante que afecta la frecuencia de pulsos de LH en el ciclo de los animales. Generalmente las vacas Holando en lactación tienden a tener menores concentraciones de P4 durante el ciclo que otros rodeos. Esta baja concentración de P4 tiende a permitir un sutil aumento en los pulsos de las frecuencias de LH y permite el crecimiento prolongado de cada folículo dominante en lugar de una rápida atresia como ocurre durante el ciclo estral (Crowe, 2008).

Las tres fases del período posparto

La primera fase del período posparto es la recuperación del eje hipotálamo-hipofisario de los efectos anteriores de la gestación y la reanudación en la secreción de FSH y liberación pulsátil de LH. El mecanismo por el cual se produce el aumento de LH (feedback positivo al E2) también debe ser restablecido. La primer fase es relativamente corta, las vacas tienen una pulsatilidad de LH normal 1-2 semanas después del parto y recuperan el mecanismo de liberación de LH poco tiempo después. Existen varios factores que afectan la reanudación de la pulsatilidad de LH (los mas notables son el amamantamiento y el balance energético) y el impacto de ésta es relativo a su intensidad. La falta de liberación de GnRH da lugar a la falta de liberación de LH y una falla en los procesos reproductivos (Lucy, 2003).

La segunda fase en este proceso es la involución uterina, la cual es rápida y se completa 30-40 días posparto. El tiempo de la involución uterina coincide con la recuperación completa de la fertilidad en la vaca posparto (Lucy, 2003).

La tercera etapa corresponde al reinicio de la actividad ovárica posparto. El crecimiento folicular continúa durante la gestación pero el diámetro del folículo dominante es menos de lo que sería en vacas ciclando debido a una disminución en la pulsatilidad de LH en la preñez tardía (asociada con altas concentraciones de esteroides durante la preñez). El desarrollo folicular comienza enseguida del parto con un incremento importante en los niveles de FSH, una onda folicular y el desarrollo de un folículo dominante. El primer folículo dominante después del parto está sujeto a 3 destinos: (i) ovulación, (ii) atresia (seguida de la emergencia de una nueva onda), (iii) formación de quiste. El componente principal de éste proceso es la secreción de LH durante el postparto temprano. La baja pulsatilidad de LH está asociada con el recambio folicular y el anestro; pulsaciones de LH moderadas se asocian con la ovulación; y la extrema pulsatilidad de LH con la falta del pico de LH se asocia con el desarrollo de ovarios quísticos (Lucy, 2003).

Mecanismos que controlan el crecimiento folicular en el posparto

El crecimiento folicular luego del parto es controlado por una combinación de LH y FSH. Los mecanismos esenciales que controlan el crecimiento folicular son similares si la vaca está o no ciclando. El control del crecimiento folicular de LH y FSH depende de las concentraciones de sus receptores respectivos y también de la funcionalidad del sistema de los segundos mensajeros que determinan en última instancia la respuesta celular (Lucy, 2003).

Los cambios en las hormonas metabólicas en el posparto, son dinámicos y reflejan el cambio del estatus metabólico del animal. Las concentraciones en sangre del factor insulínico de crecimiento (IGF-I), la insulina y la leptina disminuyen enseguida del parto. Las concentraciones de insulina e IGF-I aumentan normalmente después del parto, mientras que la concentración de leptina permanece baja en las vacas en lactación. Las concentraciones en sangre de IGF-I, insulina y leptina son altas en vacas con balance energético positivo. Vacas en balance energético negativo y las seleccionadas para producción de leche tienen menores concentraciones en sangre de insulina y de IGF-I. Las hormonas endocrinas mencionadas anteriormente, que son metabólicamente controladas pueden influir en la secreción de LH y FSH. El control hormonal (endocrino) surge de los tejidos que responden al estatus metabólico o nutricional del animal (p.e. insulina por el páncreas; IGF-I por el hígado; leptina por el tejido adiposo). Es lógico que estas señales periféricas actúen sobre el hipotálamo para transmitir información metabólicamente importante para los tejidos. Una variedad de metabolitos (glucosa y ácidos grasos) y otras hormonas actúan también como mensajeros a nivel sanguíneo (Lucy, 2003).

Los mismos metabolitos y hormonas que influyen la secreción de GnRH y en último lugar la secreción de LH y FSH podrían actuar directamente en el ovario influenciando la sensibilidad del mismo a la LH y FSH.

La duración del anestro posparto depende del amamantamiento (ganado de carne), condición corporal (ganado de carne y lechero) y la magnitud del balance energético negativo (un factor primario en el posparto de las vacas lecheras). La vaca lechera no experimenta los estímulos del amamantamiento, pero sí un período de balance energético negativo en el posparto temprano. La energía requerida para el mantenimiento y la producción de leche exceden la energía consumida. El resultado

del balance energético negativo esta asociado con el descenso de la pulsatilidad de LH (Lucy, 2003).

Las vacas posparto comenzarán a ciclar una vez que la pulsatilidad de LH alcance su nivel crítico. El aumento en la pulsatilidad de LH estimula la maduración del folículo. El folículo dominante produce estradiol el cual alcanza su umbral en cantidades necesarias para provocar el aumento de LH. La vaca tendrá después aumentos en la LH y ovulaciones mientras que los mecanismos de liberación de LH (feedback positivo de estradiol) esté establecido (Lucy, 2003).

Principios de la sincronización

Las intervenciones hormonales han sido usadas para aumentar la probabilidad en la detección de celos y la inseminación, y para aumentar la tasa de preñez en el ganado lechero bajo una variedad de sistemas de manejo. Las hormonas usadas para el control del ciclo estral son idénticas farmacológicamente (o análogos de) las hormonas reproductivas. El primer método que se usó para la sincronización (desarrollado en 1960) fue el bloqueo de la ovulación administrando P4 exógena. El posterior descubrimiento de la PG, llevó a un nuevo método de sincronización en los años '70. La P4 exógena y PG, fueron más tarde combinadas para mejorar los resultados de ambos métodos. Un mayor conocimiento de la dinámica folicular en los años '90, reveló que el folículo dominante era el agente causante de la baja fertilidad (Lucy y col., 2004).

Los protocolos de sincronización de celo que se utilizan en bovinos se dividen en cuatro grandes categorías:

- (1) protocolos que regulan la vida del CL (PG y sus análogos).
- (2) protocolos que regulan las ondas foliculares (GnRH y sus análogos y E2).
- (3) protocolos que crean una fase luteal artificial (P4 y progestágenos).
- (4) combinaciones de estos protocolos

Ovsynch fue el primer protocolo desarrollado para sincronizar la ovulación satisfactoriamente para permitir una inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en vacas en lactación (Fernández y col. 2007). El uso de este protocolo mejora la

eficiencia reproductiva al eliminar los errores asociados a la detección de celo ya que las vacas sincronizadas con el Ovsynch son inseminadas a tiempo fijo y no requiere detección de celo. El mismo consta de la aplicación de GnRH en el día 0, PG en el día 7, otra GnRH en el día 9 e IATF. El agregado de la segunda GnRH tiene el propósito de sincronizar la ovulación (Lucy y col., 2004).

Cuando se comienza el programa Ovsynch durante el metaestro, puede que el folículo dominante no responda al tratamiento inicial con GnRH y comience a sufrir atresia al momento aproximado en que se inyecta la PG. En los días 13 a 17, el folículo dominante de la segunda onda puede no ovular en respuesta al primer tratamiento con GnRH y ante la ausencia de la ovulación, la PG endógena podría causar luteolisis y ovulación temprana del folículo dominante (en relación a la IATF) causando por lo tanto infertilidad (Fernández y col., 2007).

En la variante HeatSynch el método consiste en una inyección de GnRH. seguida a los 7 días por una inyección de PG y una inyección de E2 24 horas después de la PG. Los tratamientos a base de E2 durante el diestro tardío y el proestro (bajos niveles de P4) inducirán el pico preovulatorio de LH y FSH.

Suplementación con progestágenos

Existen varios métodos de administración de P4 en esquemas de tratamientos de anestro. Los primeros en utilizarse comercialmente fueron formas de P4 natural o progestágenos administrados por vía oral (acetato de melengestrol, MGA), los que deben ser administrados diariamente por un período muy prolongado de días que resulta en baja calidad del oocito que ovula luego del tratamiento. Posteriormente surgieron implantes auriculares que liberaban progestágenos de una manera lenta, cuyo principal problema era una mayor dificultad en la inserción y retiro de los mismos. Luego surgieron los dispositivos intravaginales, siendo el primero de ellos desarrollado en EEUU denominado PRID (progesterone releasing intravaginal device), luego el desarrollado en Nueva Zelanda y conocido comercialmente como CIDR (contolled internal drug release). Quizás el método más nuevo desarrollado es una solución oleosa que contiene P4 sintética con la misma molécula que la P4 natural, la cual es liberada lentamente a la circulación logrando niveles plasmáticos de progesterona de 1 ng/mL por uno 5 días (Cavestany, 2009)

Combinación de progestágenos y GnRH

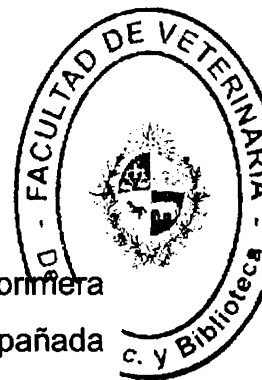
Alternativamente, los progestágenos pueden ser usados conjuntamente con tratamientos con GnRH y PG para asegurar una fuente de P4, prevenir ovulaciones prematuras y activar la respuesta cíclica en vacas en anestro. En esencia la suplementación con P4 por 7 días y la PG al día 7, sincronizan el desarrollo folicular. La inyección de GnRH el día 11 induce la ovulación (Cavestany, 2009).

CIDR es un una herramienta muy difundida en el uso de la sincronización en vacas lecheras. El dispositivo se puede insertar en el momento de la primera inyección de GnRH y retirarlo cuando se inyecta la PG, como parte del protocolo Ovsynch. Esto evita la expresión de estro antes de la inyección anulatoria de GnRH en vacas que regresan su CL durante los primeros 7 días del protocolo y puede inducir la actividad cíclica en vacas anovulatorias que son tratadas (Moore y Thatcher, 2006).

Eficiencia reproductiva

En los últimos 40 años las vacas lecheras de alta producción han disminuido su performance reproductiva mientras que aumentaron su producción lechera. La intensidad de selección genética para las altas producciones ha reducido la fertilidad, debido principalmente a un aumento en las condiciones clínicas, baja expresión del estro, oocitos/embriones defectuosos e infecciones uterinas (Dobson y col., 2007).

La eficiencia financiera y el bienestar animal, dependen en gran parte de la correcta alimentación de la vaca. En cuanto a la alimentación, existe un componente para el mantenimiento de la condición corporal y otros requerimientos, según la cantidad de leche producida. Por ejemplo, cada día, una vaca Holando adulta de 666 kg de peso vivo requiere 60 MJ para mantenimiento más 5 MJ por litro de leche producida. Sin importar la raza o tamaño de la vaca, la eficiencia financiera depende de la cantidad de leche que puede producir la vaca por Kilogramo requerido para mantenimiento (Dobson y col., 2007).



Producción de leche

La fertilidad del ganado (expresada en términos de tasa de preñez a la primera inseminación) ha disminuido en los últimos 50 años (Royal y col, 2000) acompañada por un rápido aumento de la producción de leche, por lo que, las correlaciones genéticas entre fertilidad y producción son generalmente desfavorables. Las vacas de alto mérito genético para la producción de leche movilizan más reservas corporales en la lactación temprana que las vacas de mérito genético promedio. Por lo tanto, hay una correlación negativa entre la producción de leche y la condición corporal en la lactación temprana (Dobson y col., 2007).

Condiciones clínicas

Algunas enfermedades infecciosas tienen efecto indirecto debido al compromiso del sistema inmune en las vacas de alta producción o incluso efectos directos sobre las tasas de preñez.

Sin embargo, son de mayor incidencia las enfermedades de "manejo/producción" como la baja nutrición (baja o pérdida de condición corporal), hipocalcemia, mastitis y laminitis.

La prevención de las condiciones clínicas anteriormente mencionadas se puede llevar a cabo a través de la implementación de buenas prácticas de manejo lo cual será beneficioso tanto financieramente como para el bienestar del animal (Dobson y col., 2007).

Expresión del comportamiento estral y reinicio de la actividad ovárica

La preñez significa un alto riesgo para el animal, debido a que en las últimas etapas de la misma, el feto representa una alta demanda para la madre (principalmente nutricional). Por lo tanto, siguiendo el instinto de supervivencia, los animales optarán por no mostrar signos de estro evitando así la concepción. De hecho, una alta incidencia de ovulaciones silenciosas (con ausencia de estro) en vacas Holando, han sido asociadas con incrementos en los niveles de producción de leche.

En cuanto al reinicio de la ciclicidad ovárica se ha demostrado que tanto los agentes estresantes agudos como crónicos (incluidas algunas de las enfermedades de la reproducción citadas anteriormente) están asociados a interacciones entre el eje hipotálamo-hipófisis-glándula adrenal y el eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Por ejemplo, los agentes estresantes agudos, reducen la secreción de GnRH y por lo tanto, la frecuencia en los pulsos de LH, provocando disminuciones en la producción folicular de E2, así como retrasando y reduciendo la magnitud del pico de LH (Dobson y col., 2007).

Calidad del oocito y el embrión

La performance reproductiva no depende de un solo factor sino de varios. Incluso en los animales que presentan comportamiento y signos de estro y los que fueron inseminados, la fertilidad puede estar comprometida (Dobson y col, 2007).

El crecimiento de los folículos destinados a la ovulación incluye varias etapas críticas que pueden ser interrumpidas por alteraciones fisiológicas o ambientales provocando el desarrollo de oocitos defectuosos, y subsecuentemente, una mala calidad embrionaria. Los agentes estresantes agudos durante las etapas tempranas del desarrollo del folículo antral en las vacas de alta producción, reduce la producción de esteroides en el folículo preovulatorio varias semanas después, y la calidad del oocito mejora lenta y gradualmente hacia el final del periodo más frío en los países templados (Roth y col., 2001 a,b).

Infecciones uterinas

Con el aumento de la producción de leche ha habido un incremento en la incidencia de cuerpo lúteo persistente. Este aumento a su vez está asociado con una alta incidencia de las infecciones uterinas y mayores intervalos posparto.

La infección del útero se asocia también a una alteración en los mecanismos de control del ciclo ovárico, resultando en subfertilidad. Por lo tanto las enfermedades uterinas no solamente causan patologías en el endometrio perturbando la fertilidad, sino que también interfieren con la función endocrina tanto del útero como del ovario (Dobson y col., 2007).

Medidas de la performance reproductiva

Porcentaje de detección de celos (%DC) corresponde a las vacas servidas en 21 días dividido las vacas ofrecidas, por 100.

Porcentaje de concepción (%C) representa las vacas preñadas dividido las servidas por 100.

Porcentaje de preñez (%P) se calcula como el porcentaje de detección de celos por el porcentaje de concepción, el mismo se calcula en períodos determinados de tiempo.

Preñez general o total se desprende de las vacas preñadas dividido las vacas ofrecidas por 100. Se calcula a fin de año o a fin del período de servicios.

Servicios por concepción es el número total de servicios dados dividido el número total de concepciones.

Días abiertos o intervalo parto-concepción es el intervalo entre el parto y la fecha del servicio fértil (Cavestany, 2000).

OBJETIVOS

Los objetivos de nuestro trabajo fueron los siguientes:

- a. Evaluar la duración y magnitud de los niveles de P4 en sangre luego de la administración parenteral de 200 y 400 mg de P4 y la inserción de un CIDR en vacas en anestro.
- b. Comparar la dinámica folicular en vacas Holando sincronizadas con una combinación de GnRH, P4, PG y GnRH (Ovsynch modificado), con P4 de diferentes fuentes y/o dosis (intravaginal y subcutánea).

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo consistió en un ensayo de inducción de celos, basado en un protocolo Ovsynch, en el cual se usó GnRH, prostaglandina (PG) y progesterona (P4) (Ovsynch modificado) realizado en el tambo experimental de INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay, entre el 8 y 17 de febrero de 2010.

Se utilizaron 24 vacas Holando en anestro, entre 1 y 5 lactancias, $506,1 \pm 13,2$ (media \pm EEM) kg de peso vivo y $2,6 \pm 0,1$ de condición corporal (Escala de 1 a 5 de Edmonson y col., 1989). El promedio de días posparto fue de $248,3 \pm 11,5$ y la producción de leche de $14,2 \pm 0,5$ de L/día.

El ensayo constó de tres grupos de 8 vacas cada uno, para los cuales se utilizaron diferentes fuentes de P4.

El día 0 se realizó evaluación de condición corporal y ultrasonografía para evaluación de la actividad ovárica, para lo cual se utilizó un ecógrafo Aloka 500 (Aloka Co. Ltd., Tokio, Japón) con un transductor lineal rectal de modo B, de tiempo real, con una frecuencia de 5 MHz.

Conjuntamente se administró 2 cc de Buserelina (GnRH, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) a todas las vacas y se colocó el CIDR (1,3 g de progesterona natural micronizada, Universal Lab, Montevideo, Uruguay) en el primer grupo. Al segundo grupo se le administró 200 mg de P4 vía subcutánea (MAD-4, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) y al tercero 400 mg de P4 vía subcutánea (MAD-4, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina).

Se sangraron los animales previo al inicio del tratamiento (hora 0), a las 4, 8 y 12 horas posteriores y luego diariamente durante 8 días. Las muestras se obtuvieron en tubos heparinizados y al vacío mediante punción yugular en todos los casos. Las mismas fueron centrifugadas dentro de los 30 minutos de obtenidas a 300 RPM durante 15 minutos. El plasma fue obtenido utilizando pipetas Pasteur y almacenado en crioviales, con el número de identificación de cada animal, a -20 °C hasta su análisis. La determinación de progesterona plasmática fue realizada por radioinmunoanálisis (RIA) con un Kit comercial (Coat-a-Count, Siemens, EEUU), por la Dra. Ana Meikle, en el Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria. Los coeficientes de variación intra e inter ensayo fueron 6% y 11% y la sensibilidad del ensayo de 0,1 nmol/L⁻¹.

Esquema de sangrados:

	DIA 0				DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 5	DIA 6	DIA 7	DIA 8
Muestra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Hora	0	4	8	12								

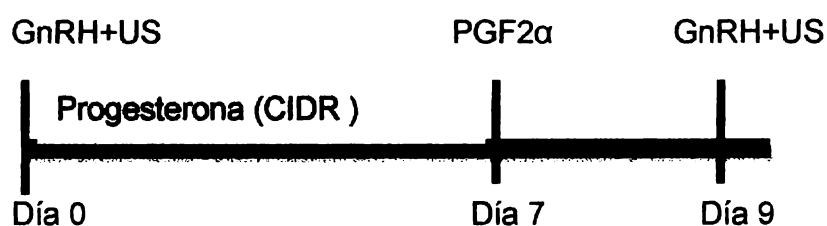
Figura 1. Esquema de sangrados realizados en las vacas en anestro

El día 7 del ensayo se procedió a la administración de 2 cc de Cloprostenol (PG) (Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina), retiro del CIDR y realización de ultrasonografía.

El día 9 se administró una segunda dosis de Buserelina (GnRH, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) y se realizó ultrasonografía.

Esquema del protocolo de sincronización

Tratamiento 1: Ovsynch + P4 (CIDR):



Tratamientos 2 y 3: Ovsynch + P4 parenteral (MAD 200 y MAD 400):



Figura 2. Protocolo de sincronización para tratamiento 1 (CIDR) y tratamiento 2 y 3 (MAD 200 Y 400)

Abreviaturas:

US: ultrasonografía

CIDR: progesterona natural micronizada. Dosis: 1,3 g intravaginal

GnRH: buserelina. Dosis: 2cc intramuscular

PG: Cloprostenol. Dosis: 2cc intramuscular

MAD-4: Progesterona. Dosis: 200 y/o 400 mg subcutánea

Análisis estadístico

Para el análisis de variables continuas con varias mediciones en el experimento (niveles de progesterona y diámetro folicular) se utilizó un modelo mixto (PROC MIXED, SAS). El modelo incluyó como efecto aleatorio a la vaca. La estructura de covarianza utilizada fue AR (1) las medidas repetidas se realizaron sobre cada vaca.

RESULTADOS

Perfiles de progesterona en sangre en las primeras 48 horas

Al iniciar el tratamiento (hora 0) los valores de P4 en sangre eran similares para todos los grupos. Dentro de las 48 horas, se observó que las vacas a las cuales se les introdujo el CIDR mantuvieron valores de P4 en sangre relativamente constantes y similares a los basales (1ng/mL). Estos valores oscilaron entre 0,85 ng/mL (muestra 0 h) y 1,62 (muestra a las 48 h). Por otro lado, los animales a los cuales se les administró P4 inyectable tuvieron un comportamiento diferente, presentando variaciones significativas ($P < 0,05$) con respecto al CIDR y entre sí. Ambos grupos presentaron su pico máximo de P4 en sangre a las 8 horas. El grupo al cual se le inyectó 200 mg de P4 alcanzó un valor máximo de 9,6 ng/mL, mientras que al que se le administraron 400 mg el valor fue de 16,35 ng/mL, descendiendo a las 48 horas a valores de 0,69 ng/mL y 1,86 ng/mL respectivamente, llegando en el caso del primer grupo, a valores aún por debajo de los alcanzados por el CIDR.

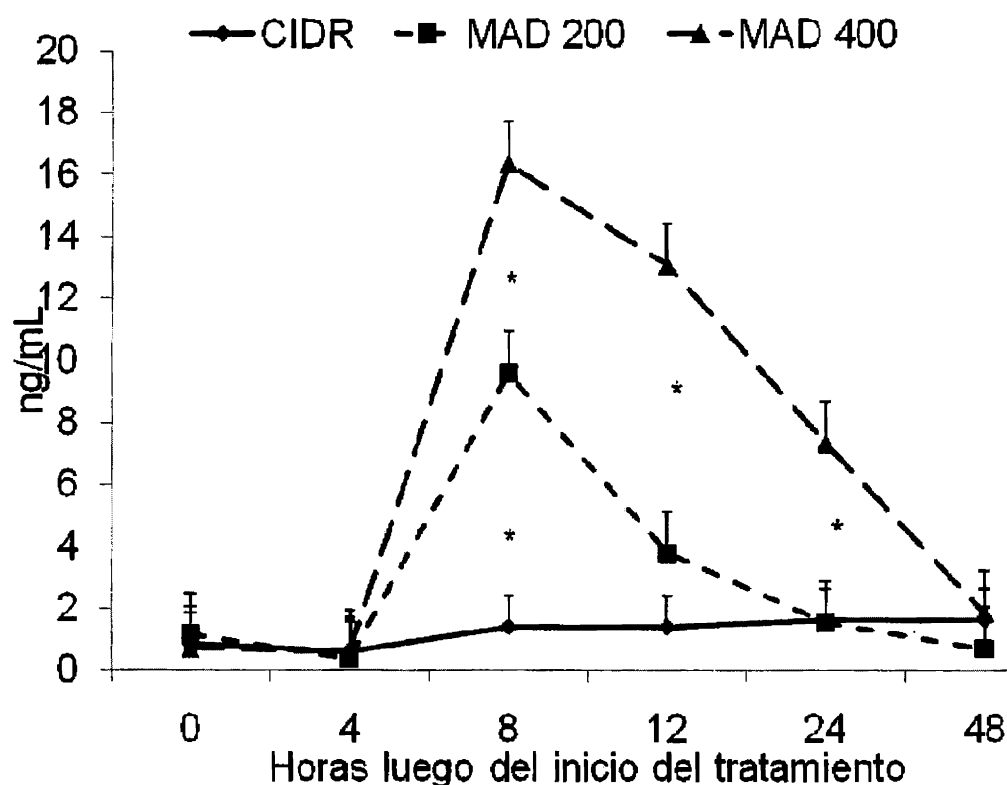


Figura 3. Perfiles de P4 plasmática por hora en los tres tratamientos (* = $P < 0,05$)

Perfiles de progesterona en sangre por día

En el análisis de las muestras de P4 por día, el comportamiento durante el día 0 y 2 fue analizado previamente, presentando las mayores variaciones los animales a los cuales se les administró P4 inyectable. A partir del día 2 los valores de P4 inyectable siguieron descendiendo, mientras que los del CIDR comenzaron a aumentar alcanzando su valor máximo el día 4 (1,65 ng/ml).

Entre los días 3 y 7, los valores de P4 de los 3 grupos, se mantuvieron sin grandes variaciones, encontrándose los valores de las muestras de los animales con CIDR por encima de los valores obtenidos con las P4 inyectables. Al día 8 se observa un segundo pico para los valores de P4 inyectable, mientras que los del CIDR comienzan a descender. El pico para los valores de 200 mg de P4 fue de 2,07 ng/mL, superando los valores del CIDR de 1,22 ng/mL y el de 400 mg de P4 fue de 0,91 ng/mL, no alcanzando en este caso los valores del CIDR.

El día 9, mientras que los valores de P4 200 mg se mantienen constantes (2,07 ng/mL), se aprecia un descenso de los valores del CIDR y P4 400 mg, llegando en el caso del CIDR a su mínimo valor de 0,23 ng/mL.

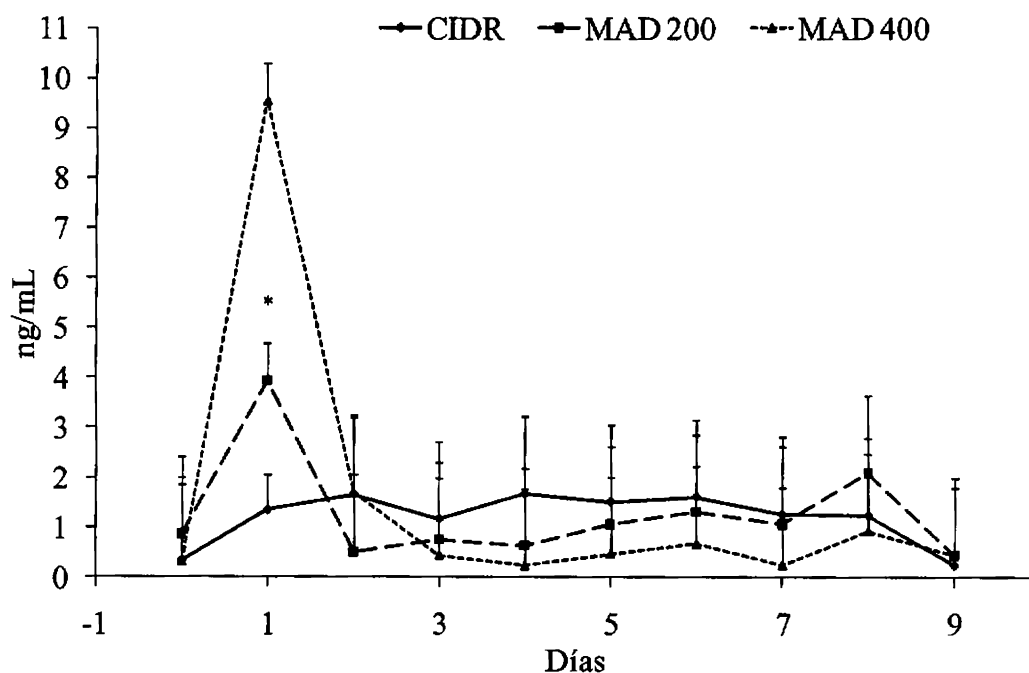


Figura 4. Niveles de P4 plasmático por día en los tres tratamientos (* = $P < 0,05$)

Dinámica Folicular

En el día 0 del ensayo, se refleja el estado ovárico al inicio del tratamiento. Al administrar GnRH, los folículos con un diámetro mayor a 10 mm estaban activos y respondieron a éste estímulo, mientras que los demás se atresiaron. Debido a esto, los folículos encontrados en el día de iniciado el ensayo corresponden a una onda, mientras que los del día 7 y 9 corresponden a la onda siguiente, la cual se inició el día en que se administró la GnRH.

La Figura 5 muestra los resultados de la ultrasonografía ovárica realizada en las vacas al inicio del ensayo (día 0) y a los 7 y 9 días. En la misma se observó que en los animales a los cuales se les colocó el CIDR, tuvieron un crecimiento del folículo mayor que los animales a los cuales se les administró P4 subcutánea. Comparando solamente los resultados del diámetro folicular de las diferentes dosis de P4, los animales que presentaron mayor variación fueron los de las P4 400 mg, provocando una disminución en el tamaño folicular, a diferencia de lo que ocurrió con el CIDR, en el cual éste aumentó. En cuanto a la P4 200 mg, también se observa una disminución en el diámetro folicular, pero menor variación que la P4 400 mg.

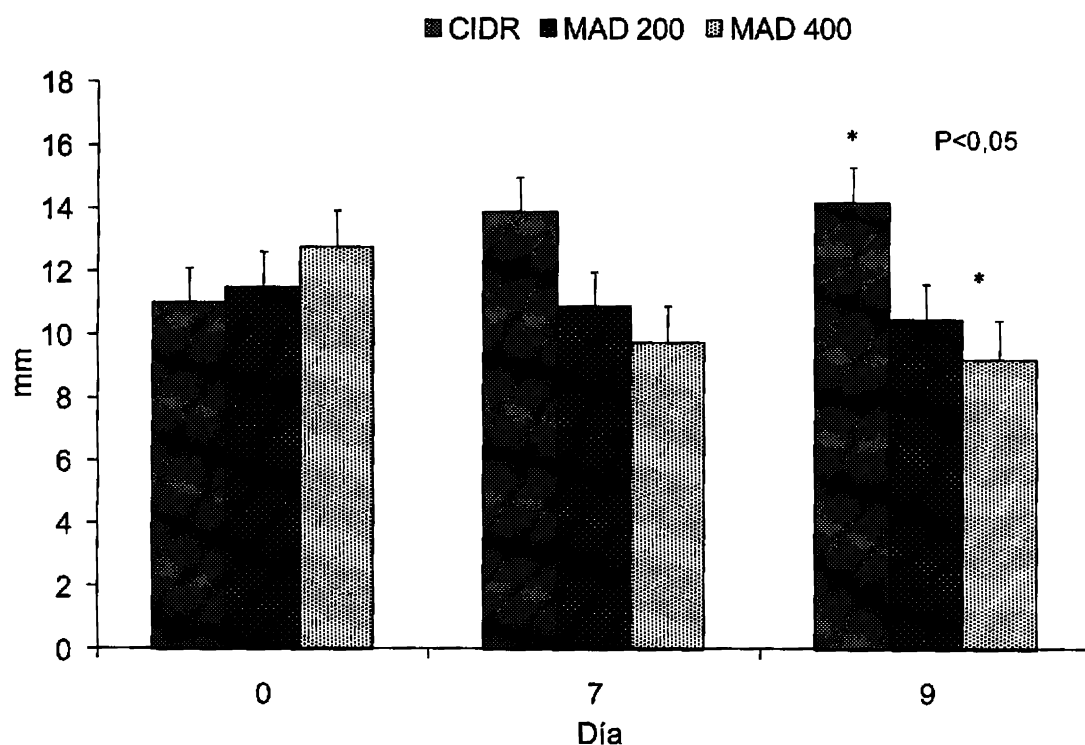


Figura 5. Promedio del diámetro folicular en la ultrasonografía realizada en los días 0, 7 y 9 del ensayo

En la figura 6 se muestran los resultados de la dinámica folicular con las diferentes fuentes de P4, en los días 7 y 9, correspondientes a la evolución del diámetro folicular de la nueva onda folicular. Si bien no existen diferencias entre días, sí se observan diferencias entre los tratamientos.

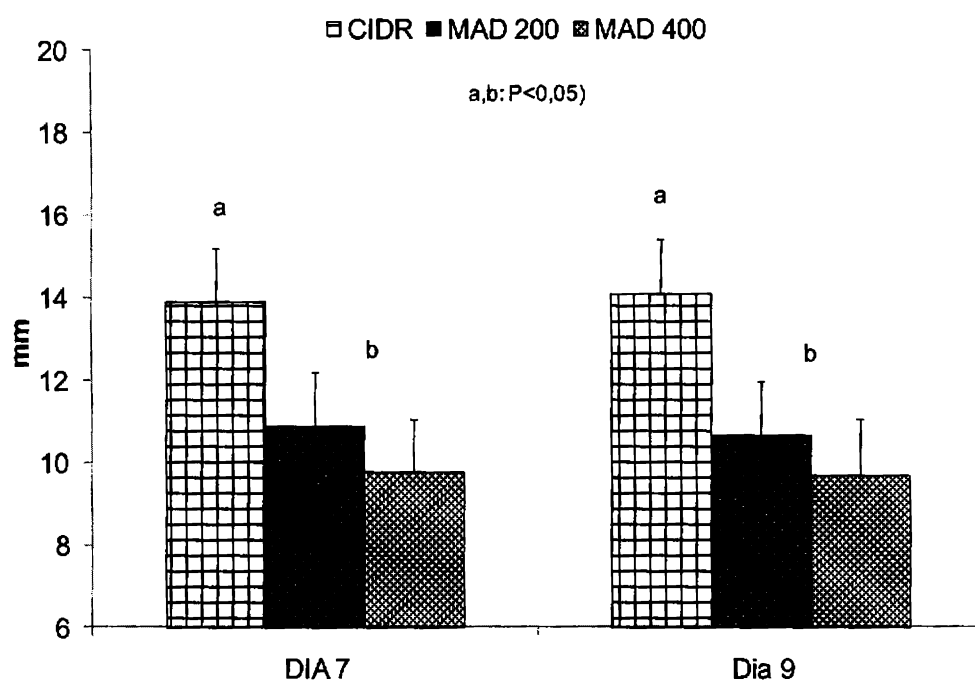


Figura 6. Promedio del diámetro folicular a la ultrasonografía realizada en los días 7 y 9 del ensayo (evolución de la nueva onda folicular)

En el tratamiento con CIDR no hubo un crecimiento tan notorio del folículo como sería esperable, pero el crecimiento fue significativamente mayor que con MAD 200 y 400 ($P < 0,05$). En el día 7 el diámetro del folículo fue de 13,9 mm, mientras que el día 9 fue de 14,1 mm, por lo que el crecimiento máximo alcanzado fue menor a los compatibles con una adecuada fertilidad para vacas de leche.

Respecto a las fuentes de P4 parenteral, los diámetros foliculares alcanzados fueron menores que con el dispositivo intravaginal, y dentro de las P4 inyectables, con MAD 400 los diámetros (9,8 mm y 9,7 mm) fueron menores que con MAD 200 (10,9 mm y 10,6 mm) para los días 7 y 9 respectivamente, no existiendo diferencias significativas entre éstas.

DISCUSIÓN



En el presente ensayo se evaluó la concentración de los niveles de P4 en sangre y la dinámica folicular en vacas, comparando el uso de P4 intravaginal y subcutánea.

Las vacas del ensayo se encontraban en un "anestro superficial" o anestro tipo según la clasificación de Peter y col. (2009) que fue descrita anteriormente.

Los resultados mostraron que la concentración de P4 parenteral alcanzó niveles por debajo de los basales luego del día 1 (MAD 200) y día 2 (MAD 400), no siendo suficientes para el "primming" necesario para activar el eje hipotálamo-hipofisario que desencadene la secuencia de eventos para facilitar la ovulación en las vacas en anestro (Macmillan y col., 2003). Estos resultados difieren de los obtenidos en un estudio realizado en vacas Holando ciclando y ovariectomizadas, en el cual los valores de P4 (400 mg) en plasma de las vacas ciclando, disminuyeron por debajo del valor basal en el día 5 del tratamiento (Cavestany y col., 2008). Esto puede explicar los resultados de nuestro ensayo, en el cual las vacas utilizadas estaban en situación de anestro, por lo que no presentaron cuerpo lúteo a la ultrasonografía, asumiendo que los niveles de P4 detectados correspondieron a la P4 exógena administrada. Por otro lado, las vacas ovariectomizadas del ensayo citado anteriormente, presentaron niveles plasmáticos de P4 que declinaron a menos de 1 ng/mL a las 52 h de la administración parenteral de la misma (Cavestany y col., 2008), lo que coincide con nuestros resultados debido a que éstas tampoco presentaban cuerpo lúteo.

En otro estudio, realizado en vaquillonas Holando, sometidas a un protocolo Ovsynch, se evaluó la respuesta a la P4 inyectable medido a través del porcentaje de preñez y la fertilidad por medio del diagnóstico de gestación por ultrasonografía. En éste se comparó un protocolo Ovsynch con otro igual mas 400 mg de P4 inyectable, en el cual se obtuvieron porcentajes de preñez significativamente más bajos en los animales tratados con el protocolo Ovsynch+P4. En otro ensayo, realizado en el mismo experimento, se comparó el porcentaje de preñez también en vaquillonas, donde se utilizaron protocolos Ovsynch y Ovsynch+P4, en dosis de 200 mg y 300 mg. En el mismo se obtuvieron porcentajes de preñez bajos para la P4 300 mg (31,4%), medios para las que no se les administró P4 (41,7%) y un porcentaje de preñez de 50 % para las tratadas con 200 mg de P4. A su vez, los animales que recibieron la mayor dosis de P4 fueron los que tuvieron la menor fertilidad (31,4%).

De este estudio se concluyó que dosis menores de P4, aplicadas a vaquillonas en un protocolo Ovsynch/IATF, parecen resultar en mejor fertilidad (Cavestany, 2007). Estos datos no pueden ser comparados con nuestro experimento debido a que no realizamos mediciones de eficiencia reproductiva.

Los niveles de P4 alcanzados con el CIDR, se mantuvieron por encima de los basales hasta el día de la extracción del dispositivo (día 7), debido a que éste actúa como un depósito de P4 natural, la cual es liberada y absorbida por la mucosa vaginal, hasta el día en que es retirado, momento en el cual la P4 en sangre cae en menos de 6 horas (Pfizer, 2011). Estos resultados coinciden con los obtenidos en un ensayo donde se evaluaron los niveles de P4 en plasma en vacas lecheras, tratadas por 5 días con CIDR, las cuales se encontraban en un anestro posparto de 3 semanas. En éste trabajo se encontró que, en las muestras de sangre obtenidas previo a la inserción del CIDR, no se detectó P4. Las concentraciones aumentaron rápidamente después de la inserción del dispositivo, alcanzando un valor de 2,8 ng/mL a los 45 minutos, llegando a su pico máximo el día 1 (4,0 ng/mL). El día 4 comenzó a disminuir, no existiendo diferencias en los días 4 y 5, retornando los valores basales el día 5, 4 h luego de retirado el dispositivo (Nation y col., 2000). En nuestro ensayo, los valores de P4 luego de la inserción del dispositivo intravaginal, se mantuvieron cercanos a los valores basales durante las primeras 48 h, para comenzar a aumentar y llegar a su valor máximo el día 4 (1,6 ng/mL). Luego, comenzó a descender llegando a valores por debajo del basal (0,2 ng/mL) el día 8, un día después de retirado el CIDR.

En otro ensayo realizado por McDougall y col. (2004) donde se evaluó el efecto de la P4 exógena en vacas en anestro posparto, y en el cual se utilizaron dispositivos intravaginales liberadores de P4 de diferentes dosis, se encontró también que los aumentos en las dosis de P4 están asociados a un aumento en las concentraciones de P4 plasmática durante el tiempo de inserción del dispositivo, alcanzando los valores máximos el día 1 del tratamiento. Sin embargo, incluso la dosis más alta de P4 usada en ese ensayo no alcanzó las concentraciones de P4 logradas en la fase luteal de las vacas ciclando.

Las vacas en anestro posparto son comúnmente tratadas con P4, las cuales en ausencia de P4 endógena, resultan en concentraciones plasmáticas similares a aquellas asociadas con folículos "persistentes" en vacas ciclando. Sin embargo, el

efecto de concentraciones subluteales de P4 en la dinámica folicular y en la tasa de concepción en vacas en anestro es poco clara (McDougall y col., 2004).

El aumento en las concentraciones de P4 fue asociado con un retraso en la emergencia del folículo dominante de la segunda onda. Las ondas foliculares emergen seguidas de un aumento en la concentración de FSH. Esta a su vez, es controlada por el estradiol y la inhibina mientras la P4 inhibe la frecuencia de los pulsos de LH. Sin embargo, la remoción completa de LH por inhibición de la inmunidad pasiva inhibe el desarrollo folicular estimulado por la FSH. Por lo tanto, en las vacas en anestro posparto, la concentración inicial de la P4 exógena podría haber sido suficiente para reducir la frecuencia en los pulsos de LH hasta el punto de inhibir también el estímulo de la FSH para la emergencia de la onda folicular. El crecimiento subsecuente del folículo dominante de la segunda onda, sugiere que la frecuencia de los pulsos de LH vuelve a los niveles suficientes para ayudar al crecimiento del folículo dominante durante el período dependiente de LH (McDougall y col., 2004).

En cuanto a la dinámica folicular, en los días 7 y 9 se observaron diferencias importantes. Esto se debe a que el día de iniciado el ensayo, cuando se administró GnRH, los folículos de más de 10 mm ovularon y los de menor tamaño se atresiaron, iniciando una nueva onda folicular que comenzó 2 a 3 días luego de la administración de la gonadotropina, por lo que los folículos encontrados el día 7 y 9 del ensayo se corresponden con una nueva onda folicular. Esto se puede observar en la figura 6, donde con el CIDR, se obtuvieron diámetros foliculares mayores que con las P4 parenterales. Esto podría estar explicado por las altas concentraciones en plasma alcanzados por estas últimas luego de su administración. Como no existen estudios previos para comparar los resultados, podemos pensar que valores muy altos de P4 afectarían el diámetro folicular de la siguiente onda. Aparentemente cuando los valores de P4 en plasma alcancen los 9,6 mg/mL (valor máximo alcanzado por MAD 200), y para valores mayores, el comportamiento en la dinámica folicular sería el de alterar la regulación hormonal del ciclo estral, afectando los diámetros foliculares de las ondas subsiguientes, retrasando el crecimiento de esos folículos.

Con el CIDR, los resultados fueron similares a los obtenidos por estudios previos, donde se logró un desarrollo folicular mayor. El día 7, momento en que se retira la

fuelle de P4, se encontró un folículo cuyo diámetro fue superior al alcanzado por las P4 parenterales el que, al día 9, era algo mayor aún. Sin embargo, a pesar de que el diámetro folicular que logró el CIDR fue mayor (14 mm vs 10 mm), es bajo para los alcanzados por otros ensayos que usaron el dispositivo. Normalmente, al remover la fuente de P4, el diámetro folicular se dispara, que no fue lo que pasó en nuestro ensayo, donde el diámetro creció menos de 1 mm entre el día 7 y el 9. Esto podría estar explicado por el tipo de vacas que utilizamos, las cuales se encontraban en una situación de anestro posparto de más de 200 días. Por lo que, si bien la eficiencia reproductiva de las vacas en anestro luego de los tratamientos hormonales puede llegar a igualar la eficiencia lograda por rodeos con altas tasas de detección de celos, la respuesta a cualquier tratamiento dependerá de los factores que influyen el anestro (p.e. condición corporal, edad e intervalo posparto). Para mejorar la respuesta a los tratamientos hormonales es condición necesaria recordar los factores que provocan un período posparto prolongado (Rhodes y col., 2003).

En una revisión realizada por Lucy, (2003) se menciona que la mala calidad de los oocitos y el pobre desarrollo embrionario temprano puede reflejar una pérdida del estado de desarrollo folicular en el bovino después del parto. El bajo desarrollo folicular está ligado a factores que relacionan la nutrición con la reproducción. A su vez se menciona que los folículos dominantes más pequeños, dan lugar a cuerpos lúteos más pequeños, lo que estaría relacionado directamente a la tasa de preñez, ya que las concentraciones de P4 en plasma serán menores. Esto explicaría nuestros resultados, donde a pesar de que en nuestro ensayo las vacas no presentaban cuerpo lúteo, la P4 exógena administrada actuó como tal, por lo que, al existir bajas concentraciones de ésta en plasma, los folículos tuvieron un pobre desarrollo. Es de suponer que si en nuestro ensayo se hubiera continuado el protocolo Ovsynch y se hubieran realizado inseminaciones a tiempo fijo, los porcentajes de preñez en las vacas con CIDR habrían sido mayores que en las vacas a las que se les administró P4 parenteral, dado que las concentraciones de P4 en las últimas fue menor y esto influye directamente en la fertilidad.

CONCLUSIONES

El uso del CIDR en los protocolos de sincronización de celos para vacas en anestro, demostró, en nuestras condiciones experimentales, ser la fuente de P4 de elección, dado que los resultados obtenidos, en relación a los niveles plasmáticos y a la dinámica folicular, fueron más favorables que con la P4 parenteral. En nuestro ensayo, los niveles de P4 parenteral se mantuvieron altos solamente en las primeras 48 h luego de su administración, para luego decaer a niveles por debajo de los basales, mientras que los niveles de P4 plasmática en los animales con CIDR se mantuvieron por encima de los basales hasta el día en que se retiró el dispositivo. Esto tuvo una consecuencia directa en la dinámica folicular ya que los animales con CIDR presentaron un crecimiento folicular similar a los descritos en un ciclo estral, llegando en el último día a un folículo de tamaño preovulatorio (14 mm), mientras que los animales a los que se les administró P4 parenteral, no tuvieron un crecimiento folicular necesario para la ovulación, debido a que los niveles tan altos de P4 alcanzados en las primeras 48 h posiblemente fue la causante de éste efecto negativo en el crecimiento, lo que implicaría al final, una menor eficiencia reproductiva en el rodeo para los protocolos con P4 parenteral.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adams, GP, Jaiswal, R., Singh, J., Malhi, P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 69:72-80.
2. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H. (1991). Reproducción y obstetricia en veterinaria. 6º ed. Madrid, McGraw-Hill Interamericana 702 p.
3. Bao, B., Garverick, HA. (1998). Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *Journal of Animal Science* 76:1903-1921.
4. Bo, G., Caccia, M. (2000). Dinámica folicular ovárica en ganado bovino. En Ungerfield, R. Reproducción en los animales domésticos. Montevideo. Melibea. Tomo 1. p 55-68.
5. Butler, WR. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 60-61:449-457.
6. Cavestany, D. (2010). Inducción de celos e inseminación artificial en vacas de leche en anestro, una nueva aproximación a un viejo problema. Disponible en: <http://www.allignanihnos.com.ar/novedades/Anestro.pdf>. Fecha de consulta: 5/07/2011.
7. Cavestany, D. (2009). Factores que afectan el reinicio de la actividad ovárica postparto en vacas Holstein de alta producción. XIV Congreso Latinoamericano de Buiatría. Lima, Perú. [CD-ROM]
8. Cavestany, D., Fernández, D., Salazar, E., Sánchez, A., Leyton, L., Crespi, D. (2008). Evaluación de una progesterona inyectable de liberación lenta en el programa Ovsynch en vaquillonas Holando. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría. 12-14 junio. Paysandú, p.179-180.
9. Cavestany, D. (2004). Manejo reproductivo y sincronización de celos en vacas de leche ciclando y en anestro. Disponible en http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/le/ad/2004/ad_361.pdf. Fecha de consulta: 6/07/2011.

10. Crowe, MA. (2008). Review article: Resumption of ovarian cyclicity in postpartum beef and dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals* 43 (Suppl.5):20-28.
11. Dobson, H., Smith, RF., Royal, MD., Knight, CH., Sheldon, IM. (2007). The high-producing dairy cow and its reproductive performance. *Reproduction in Domestic Animals* 42 (Suppl.2): 17-23.
12. Edmonson AJ, Lean J, Weaver LD, Farver T, Webster G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72:68-78.
13. Fernández, D., Salazar, E. (2007). Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona y evaluación de diferentes protocolos de sincronización de celos en vaquillonas de la raza Holando. Montevideo, Facultad de Veterinaria. Tesis de grado 52 p.
14. Ginther, OJ, Beg, MA, Donadeu, FX. Bergfelt, DR. (2003). Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Animal Reproduction Science* 78:239-257.
15. Hafez ESE y Hafez B. (2002). Reproducción e inseminación artificial en animales. 7a ed, México, McGraw-Hill Interamericana 519 p.
16. Hunter, MG, Robinson, RS, Mann, GE, Webb, R. (2004). Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Animal Reproduction Science* 82-83:461-477.
17. Lucy, MC. (2007). Fertility in high-producing dairy cows: reasons for decline and corrective strategies for sustainable improvement. *Journal of Reproduction and Fertility (Suppl.)* 46:237-254.
18. Lucy, MC, Mc Dougall, S, Nation, DP. (2004). The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. *Animal Reproduction Science* 82-83:495-512.

19. Lucy, MC. (2003). Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reproduction (Suppl)* 61:415-427.
20. Lucy, MC, Savio, JD, Badinga, L, De La Sota, RL, Thatcher, WW. (1992). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *Journal of Animal Science* 70:3615-3626.
21. Macmillan, KL, Segwagwe, BVE, Pino, SC. (2003). Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. *Animal Reproduction Science* 78:327-344.
22. McDougall, S, Compton, CWR, Annis FM. (2004). Effect of exogenous progesterone and oestradiol on plasma progesterone concentrations and follicle wave dynamics in anovulatory anoestrous post-partum dairy cattle. *Animal Reproduction Science* 84:303-314.
23. Moore, K, Thatcher, WW. (2008). Major advances associated with reproduction in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 89:1254-1266.
24. Mwaanga, ES, Janowsky, T. (2000). Review article. Anoestrus in dairy cows: Causes prevalence and clinical forms *Reproduction in Domestic Animals* 35:193-200.
25. Nation, DP, Burke, CR, Parton, G, Stevenson, R, Macmillan, KL. (2000). Hormonal and ovarian responses to a 5-day progesterone treatments in anoestrous dairy cows in the third week post-partum. *Animal Reproduction Science* 63:15-25.
26. Opsomer, G, Gröhn, YT, Hertl, J, Coryn, M, Deluyker, H, DKruif, A. (2000). Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology* 53:841-857
27. Peter, AT, Levine, H, Drost, M, Bergfelt, DR. (2009a). Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. *Theriogenology* 71:1343-1357.
28. Peter, AT, Vos, PLAM, Ambrose, DJ. (2009b). Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology* 71:1333-1342.

29. Rhodes, FM, McDougall, S, Burke, CR, Verkerk, GA., Macmillan, KL. (2003). Invited review: Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. *Journal of Dairy Science* 86:1876-1894.
30. Roberts, SJ. (1979). *Obstetricia Veterinaria y Patología de la Reproducción*. 2ª. ed. Buenos Aires. Hemisferio Sur 1021 p.
31. Roth, Z, Meidan, R, Shaham-Albalancy, A, Braw-Tal, R, Wolfenson, D. (2001a). Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-sized and preovulatory bovine follicles. *Reproduction* 121:745-751.
32. Roth, Z, Arav, A, Bor, A, Zeron, Y, Braw-Tal, R, Walfenson, D. (2001b). Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows. *Reproduction* 122:737-744.
33. Royal, MD., Darwash, AO, Flint, APF, Webb, R, Woolliams, JA, Lamming, GE. (2000). Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional endocrine parameters of fertility. *Animal Science* 70:487-501.
34. Senger, PL. (2003). *Reproductive Cyclicity-Terminology and Basic Concepts*. En: Senger, PL. *Pathways to pregnancy and parturition*. 2ª ed.. Current Conceptions. Washington, USA pp 145-163
35. Wiltbank, MC, Gümen, A, Sartori, R. (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57:21-52.

