



Alteraciones en la endocrinología y reproducción de vacas lecheras paridas, relacionadas a la mastitis

Huszenicza, Gy.^{1*}, Jánosi, Sz.², Kulcsár, M.¹

¹Faculty of Veterinary Science, Szent István University, H-1400 Budapest, P.O.Box 2, Hungary

²Central Veterinary Institute, H-1581 Budapest 146, P.O. Box 2, Hungary

Resumen

Recientemente algunos patógenos ambientales, incluyendo algunas cepas Gram-negativa (GN) (*E. coli* y otros), se han vuelto el microbio causante predominante en el periodo periparto de rodeos lecheros que son bien manejados. Durante las primeras semanas de la lactancia, la hiperketonemia puede predisponer a las vacas de alta producción a una mastitis por GN. En la mastitis por GN, se liberan citocinas, eicosanoides, y radicales de oxígeno, los cuales son responsables de los síntomas locales y sistémicos. La administración experimental de endotoxinas induce una cascada endocrina compleja. Durante una mastitis por GN se observan cambios similares en los niveles plasmáticos de cortisol, insulina, hormonas tiroideas, y factor de crecimiento similar a la insulina-1. Sin embargo, la leptina no es responsable de la anorexia asociada a una mastitis severa en rumiantes. Una mastitis puede posponer el comienzo de la actividad cíclica ovárica cuando ocurre entre los 15-28 días posparto (al momento esperado de la primera ovulación). En vacas que ya están ciclando, un caso severo de mastitis por GN puede inducir una luteolisis prematura o prolongar la fase folicular.

Introducción

A pesar de los esfuerzos para controlarla a nivel de rodeo durante la última década, la mastitis aun permanece como una de las enfermedades bacterianas predominantes en la vaca lechera recién parida. En el pasado, la mayoría de los casos en el periparto eran causados por patógenos contagiosos Gram-positivos (GP) (tales como *Estafilococo* (*S.*) *aureus* y *Estreptococo* (*Str.*) *agalactiae*) que sobreviven en la ubre durante el periodo seco. Debido a los programas de control de mastitis que incluyen el descarte continuo de infecciones intramamarias crónicas, y el uso general de terapia antimicrobiana en el momento de secado (Erskine, 2000), el *Str. agalactiae* casi ha desaparecido, y en los rodeos bien manejados, las pérdidas por *S. aureus* también han disminuido. Sin embargo, la proporción de patógenos ambientales como *E. coli*, otros coniformes y *estreptococos* ambientales (*Str. uberis*, *Str. dysgalactiae*) ha aumentado simultáneamente, y también algunos patógenos menores (tales como *estafilococos* coagulasa negativos) han tenido un incremento en su importancia (Myllys et al., 1998; Erskine, 2000). Durante las

primeras semanas de la lactancia, las bacterias GN pueden ser el patógeno predominante de la mastitis en rodeos que producen leche con bajos (<150,000 - 250,000 / ml) conteos de células somáticas, (Beauudeau et al., 2002; Peeler et al., 2002) principalmente en los meses de primavera y verano (Zerocelli and Piccinini, 2002).

Los casos clínicos de mastitis por GN, cargan al huésped por algunas horas con endotoxinas provenientes de los lipopolisacáridos (LPS) de la pared celular de estas bacterias. Las consecuencias más severas de este encuentro con LPS se ven en la fase calostrual (cuando la capacidad del epitelio de la ubre para neutralizar estos LPS es mínima; Sandholm et al., 1995), y/o en vacas que padecen lipidosis hepática (cuando se ve alterada la detoxificación de las toxinas; Anderson et al., 1996).

Predisposición Metabólica para la mastitis posparto

La incidencia y el resultado de una mastitis, especialmente las causadas por patógenos GN, varían según el momento de la lactancia. Los síntomas clínicos más severos (que ponen en peligro la vida del animal) se encuentran en los primeros días posparto (Pyörälä and Pyörälä, 1998; Menzies et al., 2000). Leucocitos polimorfos nucleares son los elementos celulares más importantes del mecanismo de autodefensa contra los microbios. Los cambios metabólicos peri y posparto, en especial el aumento de niveles plasmáticos de ácidos grasos no-esterificados (NEFA) y βOH-butilato (BHB) impiden su migración y actividad fagocítica, y por lo tanto aumentan la susceptibilidad de la glándula mamaria a los patógenos que causan mastitis (Sartorelli et al., 1999 and 2000; Suriyasathaporn et al., 1999 and 2000; Zerbe et al., 2000). Los días 1-3 posparto, los niveles elevados de BHB (≥1.00 mmol/l) predisponen la vaca a mastitis por las próximas 4 semanas. Este valor de pronóstico de BHB es significativo solo para mastitis por GN y en casos causados por patógenos ambientales GP, pero no para *S. aureus* (odds ratio: 5.333, 3.600 and 1.333, respectivamente) (Jánosi et al., 2003). Se vieron casos experimentales de mastitis por *E. coli* más severos en vacas con cetosis que en vacas sin cetosis. (Kremer et al., 1993). Los mismos factores también predisponen a la vaca para que padezca retención de placenta y/o complicaciones bacterianas de la involución uterina (Kimura et al., 2002; Jánosi et al., 2003).

Aspectos endocrinos en la patogénesis de la mastitis posparto

La administración intramamaria de endotoxinas o infección experimental con patógenos GN inducen una intensa liberación de citocinas [tales como interleucinas (ILs), factor neurótico tumoral- α (TNF α) y otros], eicosanoides [como la prostaglandina F2a (PGF2a) luteolítica] y radicales de oxígeno (óxido nítrico y otros) en la ubre (Giri et al., 1984; Sandholm et al., 1995; Sordillo and Daley, 1995), los cuales son mediadores de todos los síntomas locales y sistémicos de la mastitis. Las diferencias en su producción y cinética pueden producir una gran variedad en estos signos clínicos (Hoeben et al., 2000). Aunque la membrana externa de los patógenos GP de la mastitis no contienen endotoxinas, si se encuentran muchas capas de un muco péptido (peptidoglicano) en su pared celular. De igual forma que las endotoxinas, se ha reportado que este componente de los patógenos GP posee la habilidad de inducir respuestas de pirosis y citocinas (TNF α) (Salyers and Whitt, 1994; Sordillo and Daley, 1995).

Cuando las citocinas proinflamatorias y otros productos de células inmunes activadas por LPS (principalmente macrófagos) llegan al sistema nervioso central, estos mediadores inician una reacción pirética e importantes cambios en el patrón de secreción y/o niveles séricos de numerosas hormonas. Estos cambios endocrinos y neurales mediados por citocinas juegan un rol importante en la inducción de síntomas sistémicos de la mastitis, e.g. fiebre, letargo, pérdida de apetito (anorexia) y muchos cambios catabólicos en el metabolismo de minerales, proteínas, y energía (lípidos, carbohidratos). En casos mas severos (generalmente GN), también se ven alteraciones simultáneamente en las funciones cardiovasculares, pulmonares, y gastrointestinales (hipotensión, taquicardia, a la larga disminuyendo la producción cardiaca, destreza respiratoria, diarrea), y también en los conteos de células sanguíneas y el sistema de coagulación (Cullor, 1992; Sandholm et al., 1995; Sordillo and Daley, 1995). Estas alteraciones endocrinas inducidas por citocinas o endotoxinas pueden ser dependientes de la dosis y de la especie.

La respuesta de las citocinas (TNF α and IL-1), mediada por endotoxinas, aumentan la liberación hipotalámica la hormona liberadora de corticotropina que activa el eje adeno-pituitario (Kakizaki et al., 1999). Ambas formas de desafío por endotoxinas en vacas lactantes, sea intravenoso (iv) o intramamario, son seguidas por elevaciones plasmáticas temporarias (\approx 6-8 hr) de cortisol que dependen de la dosis (Hirvonen et al., 1999; Waldron et al., 2003). Los niveles picos se ven 2-4 h después del desafío (Soliman et al., 2002; Waldron et al., 2003; Lehtolainen et al., 2003), y no se detectan diferencias significantes en la respuesta cortical inducida por endotoxinas entre vacas en lactancia temprana vs. Lactancia tardía (Lehtolainen et al., 2003). La administración experimental de TNF α

(rbTNF α) bovina recombinante purificada induce una elevación similar pero mas corta en los niveles plasmáticos de cortisol (Soliman et al., 2002).

En ratas se vieron niveles crecientes de prolactina luego de la administración endovenosa de endotoxinas (Rettori et al., 1994). En vacas se vio un aumento obvio en la producción de prolactina luego de un desafío intravenoso con LPS, pero no después del desafío intramamario, y se suponía que tendría un rol en la inmunomodulación pero no la producción Láctea de la ubre (Jackson et al., 1990). En cerdas, la administración experimental de endotoxinas era capaz de disminuir los niveles de prolactina y la producción de leche en la primera semana luego de parir, pero no después (Smith and Wagner, 1984 and 1985). En modelos hechos con ratas también existen una variedad de otros cambios en el sistema nervioso central relacionados a los LPS, muchos de los cuales son probablemente mediados por la liberación de citocinas inducido por endotoxinas, tales como niveles centrales y periféricos de catecolaminas (Song et al., 1999; Wang and White, 1999), y alteraciones en la liberación de neurotransmisores en diferentes áreas del cerebro (Mohan-Kumar et al., 1999).

Tratamientos experimentales con LPS disminuyeron los niveles plasmáticos de hormona del crecimiento (GH) en ratas (Rettori et al., 1994), mientras que en bovinos (Elsasser et al., 1995 and 1996; Nikolic et al., 2003), LPS indujo una elevación mediana a moderada en las concentraciones sanguíneas de GH, y una lenta pero marcada disminución en los niveles plasmáticos de factor de crecimiento parecido a la insulina-I (IGF-I). La desunión del eje GH-IGF-I fue acompañada por una disminución en la producción de una de las proteínas de unión del IGF-I (IGFBP-2). Un descenso simultaneo en IGF-I y una moderada elevación en los niveles plasmáticos de IGFBP-1 contrastan con el incremento en la secreción de GH sugieren que las endotoxinas también causan un estado de resistencia a la GH, el cual se exagera con una reducción simultanea en la biodisponibilidad de IGF-I (Briard et al., 2000). En un experimento mas reciente (Waldron et al., 2003) el desafío intravenoso con LPS fue incapaz de inducir un cambio en los niveles de GH e IGF-I en vacas lecheras multiparas en lactación. Pero cabe recordar que este experimento no midió la influencia de IGFBP-I sobre la biodisponibilidad de esta hormona.

La cascada endocrina inducida por las endotoxinas también involucra a las hormonas pancreáticas glucoreguladoras. Simultáneamente con la elevación de cortisol y TNF α , se reporto una significativa pero solo transitoria elevación en los niveles de insulina (Steiger et al., 1999; Waldron et al., 2003), y una clara elevación en los niveles de glucagon que depende de la dosis (Waldron et al., 2003). Luego de una hiperglicemia temporaria, una resistencia insulínica y concentración de glucosa disminuida se observaron a las 6 y 24 horas después del desafío con LPS (McMahon et al., 1998). Cambios similares en los niveles de glucosa e insulina, y también en la resistencia a insulina, también fueron inducidos por la administración endovenosa de rbTNF α (Kushibiki et al., 2000;



Soliman et al., 2002). El mecanismo exacto que induce estas alteraciones, relacionadas a LPS, sobre la función pancreática no se ha entendido totalmente: aparte de los efectos del óxido nítrico y las citocinas, una elevación temprana del cortisol plasmático y en los niveles de catecolaminas o cambios simpáticos neuroendocrinos también pueden ser implicados (Waldron et al., 2003).

Una cantidad de enfermedades infecciosas e inflamatorias (principalmente mediadas por endotoxinas) pueden estar asociadas con cambios obvios y subsecuentes en el estado de la tiroides. Este tal llamado síndrome de enfermedad eutiroidea se observa en enfermedades sistémicas no-tiroideas, y consiste en una disminución de la concentración plasmática de hormona tiroidea activa (3,3',5-triiodothyronine, T3) con una simultánea elevación de su metabolito inactivo (3,3',5'-triiodothyronine, syn.: reverse-triiodothyronine; rT3), y en casos severos, una reducción en tiroxina y en concentraciones de hormona estimuladora de tiroides (TSH). La mayoría de estos cambios son causados por una menor producción de T3, principalmente debido a una disminución extratiroidea de la activación enzimático de T4 por 5'-deiodinasa (5'D), en combinación con una velocidad de clearance de T3 (Wartofsky and Burman, 1982). TNF α y IL-1 pueden inhibir la liberación de TSH desde las células pituitarias y disminuir la actividad de 5'D tipo-I en tejidos tiroideos y hepáticos (Haastaren et al., 1994; Rettori et al., 1994; Hashimoto et al., 1995), reduciendo la producción y nivel circulante de T4 e inhibiendo la transformación de T4 a T3 (Bartalena et al., 1998; Bertók 1998). En vacas tratadas con LPS Kahl et al., (2000) reportó una actividad disminuida de 5'D en el hígado, lo cual resultó una menor relación T3/T4 y concentraciones plasmáticas decrecientes de las hormonas tiroideas.

Leptina es una proteína similar a citocinas que fue recientemente identificada producida principalmente por adipositos blancos (Houseknecht et al., 1998). En ratones y ratas, la administración experimental de endotoxinas provocó una rápida y duradera elevación en las concentraciones plasmáticas de leptina, con una primera elevación detectada a los 10 min. (Debido a una liberación provocada por LPS de hormona almacenada en vesículas pinocíticas de los adipositos), y luego una meseta de su nivel circulante duplicado de 2 a 6 h (fue la causa de los niveles significantes detectados de mRNA) (Finck et al., 1998; Mastroraldi et al., 2000). Los niveles de leptina en plasma también eran elevados en humanos sobrevivientes de sepsis aguda (Bornstein et al., 1998). En contraste a estos resultados, la infusión de LPS a cerdos resultó en ningún cambio o una disminución de mRNA de leptina en tejido adiposo (Spurlock et al., 1998; Leininger et al., 2000), y desafíos endovenosos con endotoxinas o *rb*TNF α no produjeron ninguna elevación en los niveles plasmáticos de leptina en ovinos y bovinos (Soliman et al., 2001 and 2002; Waldron et al., 2003). El nivel plasmático de leptina también permaneció incambiable en experimentos de mastitis con endotoxinas (Kulcsar et al., 2005; Fig. 1). Estos trabajos concluyen que la leptina plasmática no es responsable de la anorexia asociada a la respuesta inflamatoria inducida por infección en rumiantes.

Simultáneamente con estos cambios inducidos por endotoxinas en vacas lactantes, también se vieron cambios importantes en los niveles plasmáticos de ciertos metabolitos relacionados a la energía: la concentración de glucosa tendió a aumentar inicialmente y luego disminuir, había una tendencia a niveles aumentados de NEFA, mientras que el BHB plasmático disminuyó linealmente por dosis luego de la infusión de LPS (Waldron et al., 2003).

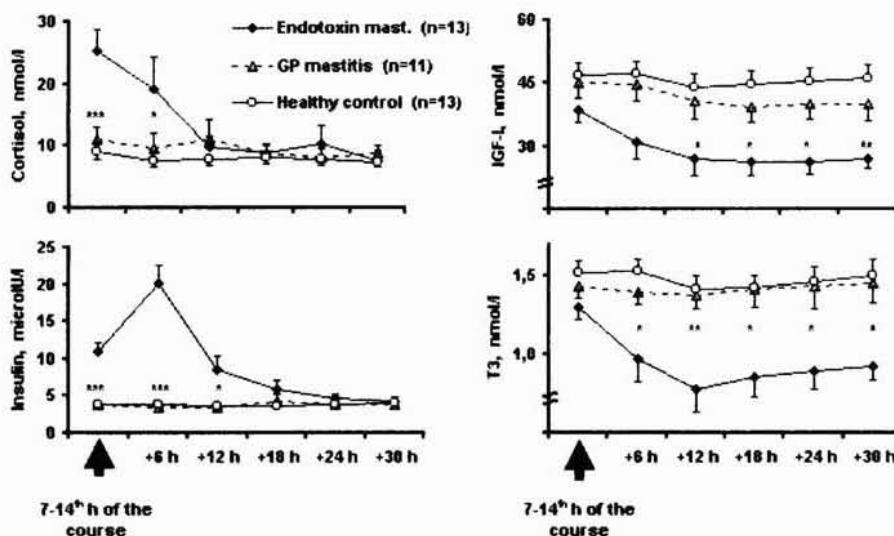


Fig. 1. Cambios en cortisol plasmático, IGF-I, insulina, y T3 (mean \pm SEM) en vacas afectadas por mastitis endotoxica, comparado a aquellas con mastitis por GP y los controles sanos (* P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001; foco de mastitis: a los días 1-14 posparto; las muestras se comenzaron a tomar de forma regular 7-14 h luego del comienzo clínico de enfermedad; data de Kulcsár et al., 2005)

Nuestro conocimiento de cambios endocrinos inducidos por endotoxinas o citocinas normalmente se basa en modelos experimentales hechos con roedores de laboratorio o rumiantes, en vez de casos naturales de mastitis, obviamente debido a la dificultad de hacer una recolección estandarizada de muestras en condiciones de campo. En una prueba (Kulcsar et al., 2004) estudiaron las alteraciones endocrinas relacionadas en vacas que presentaban mastitis en los días 0-14, 15-28, o 29-60 posparto. Todas las vacas se ordeñaban 3 veces al día con 8 h entre ordeños, y los casos nuevos de mastitis que se diagnosticaban en la mañana se incorporaban al estudio si presentaban síntomas sistémicos. Se tomaron muestras de sangre desde las 7 a las 14 h de comenzar el curso clínico y luego 5 veces más con 6 h entre tomas de muestra. En comparación con las vacas sanas, en aquellas con mastitis endotoxica por GN, los niveles de cortisol plasmático eran mayores al comienzo y luego empezaron a disminuir, la insulina se elevó temporalmente, mientras que IGF-I, T4 y T3 tenían los mismos niveles en las primeras muestras y luego disminuyeron continuamente (Fig. 2). Estos cambios endocrinos fueron más obvios en las primeras dos semanas posparto, y eran dramáticos en los casos fatales. La mastitis por GP no indujo ningún cambio endocrino significativo. El contenido de leptina permaneció invariable o mostró una leve tendencia a disminuir en las vacas mastíticas, sin importar el patógeno identificado. Concluimos que en vacas paridas, una mastitis por GN puede inducir las mismas alteraciones endocrinas que se presentaron en los ensayos experimentales (endovenoso o intramamario) con endotoxinas o *rbTNF α* , pero en casos naturales, estos cambios pueden ser más variados y rebustos.

Alteraciones en la actividad ovárica y la reproducción relacionadas a la mastitis

Estudios epidemiológicos han demostrado interrelaciones entre desordenes metabólicos asociados a un balance energético negativo (hígado graso, cetosis), la incidencia aumentada de mastitis clínica, y la subsiguiente disminución de la performance reproductiva en vacas lecheras de alta producción (Valde et al., 1997; Washburn et al., 2002). Algunos ensayos demostraron el impacto negativo de la mastitis clínica y subclínica sobre la performance reproductiva (Barker et al., 1998; Schrick et al., 2001), o revelaron anomalías en la función ovárica que eran inducidas por mastitis (Moore et al., 1991; Huszenicza et al., 1998; Hockett et al., 2000).

Se reportó que en ratas, la endotoxinas impiden la liberación de hormona luteolizante adenohipofisaria (Rettori et al., 1994). En vaquillonas ciclando que estuvieron en un desafío experimental 42 h luego de una luteolisis inducida por PGF2a (Suzuki et al., 2001), las endotoxinas disminuyeron la frecuencia de pulsos de LH por 6 h, e

incrementaron la concentración media y amplitud de pulso de LH. Las concentraciones plasmáticas de cortisol y progesterona (P4) incrementaron simultáneamente de forma transitoria, debido a la sobreproducción adrenocortical de estas hormonas. Niveles plasmáticos de 17 β -estradiol (E2) estaban disminuidos, y el pico preovulatorio de LH se pospuso (en 1 de las 6 vaquillonas tratadas), o completamente bloqueado (en 5 de los 6 animales tratados con LPS). Se demostró una interrupción similar en la elevación preovulatoria de E2 en desafíos experimentales con endotoxinas y en el patrón de secreción de LH en ovejas (Battaglia et al., 2000; Daniel et al., 2002). Se reportó que las endotoxinas absorbidas desde la cavidad uterina suprimen la formación del pico preovulatorio de LH, e induce degeneración quística de los folículos dominantes en vacas paridas (Peter et al., 1989; Lopez-Diaz and Bosu, 1992). Así que aunque no se conozcan todos los detalles de la regulación neuroendocrina, si se cree que las endotoxinas interrumpen la progresión de la fase de proestro en los rumiantes, interrumpiendo la elevación preovulatoria de E2 y por lo tanto retrasando o bloqueando el pico de LH y la subsiguiente ovulación.

La infusión intrauterina de *E. coli* acortó la fase lútea en vacas (Gilbert et al., 1990), y también se reportó que los casos clínicos de mastitis por GN reducen el intervalo entre estros (Moore et al., 1991). Ambos descubrimientos pueden estar asociados con el aumento en la liberación de LPS. Se sabe que la administración experimental de endotoxinas o su absorción desde el útero infectado liberan varios eicosanoides a través de la activación del sistema enzimático fosfolipasa A2, ciclooxigenasa-2 y 5-lipoxigenasa. Uno de estos es PGF2a, la cual es capaz de causar luteolisis prematura si se encuentra presente un cuerpo luteo sensible en el ovario, por lo tanto acortando el intervalo entre estros (Peter and Bosu, 1987; Peter et al., 1987; Giri et al., 1990; Kindahl et al., 1996). En un estudio de Giri et al. (1984) se comprobó que las prostaglandinas también pueden ser sintetizadas en la ubre del bovino: la infusión intramamaria de endotoxina de *E. coli* aumentó la concentración de PGF2a más de lo que normalmente se encuentra en leche. Sin embargo, también contrario a lo encontrado en otros trabajos publicados (Lopez-Diaz and Bosu, 1992). En otro estudio reciente también se encontró que vacas con mastitis experimental causada por *Str. uberis* respondieron con una liberación más pronunciada de 13,14-dihidro-15-keto-PGF2a (PGFM) que las vacas control no mastíticas. Así sugiriendo la posibilidad de que también exista una luteolisis prematura inducida por GP. Esta supuesta contradicción puede ser explicada por los recientes descubrimientos de Okuda et al. (2002). Estos autores demostraron que TNF α estimula la producción de PGF2a del endometrio bovino, no solo en la fase folicular pero también en la fase lútea media y tardía, sugiriendo que TNF α es un factor en la iniciación de luteolisis en bovinos. Se puede esperar una aumentada liberación de citocinas incluyendo TNF α en las mastitis por GP y GN (Salyers and Whitt, 1994; Sandholm et al.,



1995; Sordillo and Daley, 1995). Por lo tanto la cantidad de TNFa puede ser suficiente para desencadenar una liberación luteolítica de PGF2a en el endometrio en casos severos de mastitis.

Se ha hipotetizado que la elevación en temperatura corporal y nivel de cortisol relacionada a la mastitis también impiden el desarrollo embrionario temprano, y/o el curso de la preñez en el primer trimestre (Oliver et al., 2000).

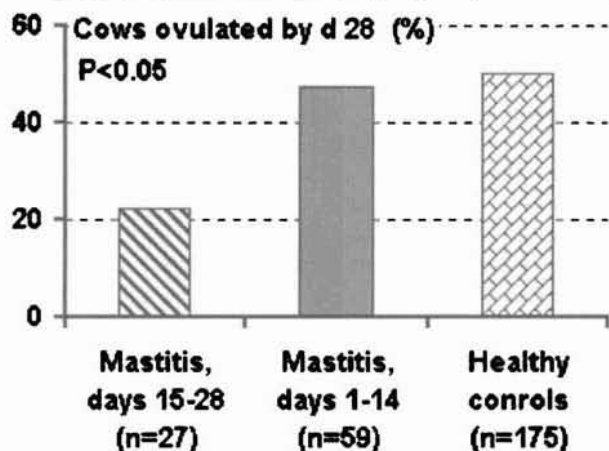


Fig. 2. Porcentaje de vacas ovulando el día 28 y aquellas afectadas con mastitis entre los días 14 y 28 comparado a vacas mastíticas entre los días 1 y 14 y las vacas control sanas (data de Huszenicza et al., 2005).

Recientemente se estudio la incidencia de anomalías ováricas inducidas por mastitis en una prueba a campo (Huszenicza et al., 2005). A los 1-3 días posparto, vacas paridad mas de 2 veces (n=335) no afectadas con mastitis crónica recurrente y produciendo bajos conteos de células somáticas (<400,000 / ml) individuales fueron incluidas en el estudio. Luego se recolectaron muestras de leche 3 veces por semana por 95-100 días para el análisis de P4. Su utilizaron perfiles individuales de P4 para monitorear la ciclicidad ovárica. Cuando se diagnosticaba mastitis en los primeros 80 días pp, se registraban y calificaban los síntomas clínicos, y se tomaban muestras estériles de leche para identificar el patógeno. Dependiente del patógeno identificado, las vacas se colocaban en uno de los sub grupos afectados por bacterias GP o mastitis endotoxica. Las vacas que tenían cualquier tipo de mastitis entre los días 15 y 28 (n=27) mostraron una demora en la aparición de la ciclicidad ovárica y el estro se pospuso en comparación a las vacas afectadas durante los primeros 14 días pp (n=59) y controles (n=175) (38.6±2.3 vs. 33.4±2.1 and 32.0±1.0 días, respectivamente para el comienzo de ciclicidad ovárica y 90.7±2.5 vs. 80.2±2.8 y 83.9±2.1 días, respectivamente para el estro; ambos P<0.05).

El porcentaje de vacas que ovulaban el día 28 era menor en aquellas afectadas por mastitis entre los días 14 y 28 comparado a las vacas en los días 1 a 14 y los con-

troles. (Fig. 2). Se observó un número significativamente más alto de luteolisis prematura en las mastitis endotoxicas comparado a las mastitis por GP y en vacas sanas (46.7 vs. 8.3 and 2.0 %, respectively; P<0.001). Si la mastitis ocurría durante la fase folicular, la duración de este segmento del ciclo era alargado en la mastitis endotoxica comparado a las mastitis por GP y en vacas sanas 10.8±0.9 vs. 7.9±0.1 and 7.2±0.1 días, respectively; P<0.001). Los resultados indican que la mastitis puede afectar el recomienzo de la actividad ovárica en vacas lecheras pp cuando ocurre entre los días 15 y 28 pp, e.g. al momento esperado de la primera ovulación. La mastitis también puede impedir la reproducción en vacas que están ciclando: este efecto puede ser la consecuencia de una luteolisis prematura o una fase folicular prolongada. Mastitis por GN (endotoxica) tuvo un efecto más severo sobre la actividad ovárica comparado a la mastitis por GP. Sin embargo, los perfiles individuales de P4 no pudieron detectar ninguna alteración inducida por mastitis sobre el índice de preñez o el intervalo de parición-concepción. Por lo tanto creemos que cuando las vacas en este estudio fueron inseminadas alrededor del día 50 pp o mas, el efecto de mastitis sobre la actividad ovárica y performance reproductivo era insignificante o que su influencia fue enmascarada por otros factores no especificados.

Referencias

- Andersen, P.H., Jarlov, N., Hesselholt, M., Bek, L., 1996. Studies on in vivo endotoxin plasma disappearance times in cattle. *J. Vet. Med. A* 43, 93-101.
- Barker, A.R., Schrick, F.N., Lewis, M.J., Dowlen, H.H., Oliver, S.P., 1998. Influence of clinical mastitis during early lactation on reproductive performance of Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 81, 1285-1290.
- Bartalena, L.F., Bogazzi, F., Brogioni, S., Grasso, L., Martino, E., 1998. Role of cytokines in the pathogenesis of the euthyroid sick syndrome. *Eur. J. Endocrinol.* 138, 603-614.
- Battaglia, D.F., Krasa, H.B., Padmanabhan, V., Viguie, C., Karsch, F.J., 2000. Endocrine alterations that underline endotoxin-induced disruption of the follicular phase in ewes. *Biol. Reprod.* 62, 45-53.
- Beaudeau, F., Fourichon, C., Seegers, H., Bareille, N., 2002. Risk of clinical mastitis in dairy herds with a high proportion of low individual milk somatic cell count. *Prev. Vet. Med.* 53, 43-54.
- Bertók, L., 1998. Endotoxin and endocrine system. *Domest. Anim. Endocrinol.* 15, 305-308.
- Bornstein, S.R., Licinio, J., Tauchnitz, R., Engelman, R., Negrao, A.B., Gold, P., Chrousos, G.P., 1998. Lipopolysaccharide-induced changes in monoamines in specific areas of the brain: blockade by interleukin-1 receptor antagonists. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83, 280-283.
- Briard, N., Dadoun, F., Pommier, G., Sauze, N., Lebouc, Y., Oliver, C., Dutour, A., 2000. IGF-I / IGFbPs



- system response to endotoxin challenge in sheep. *J. Endocrinol.* 164, 361-369.
- Butler, W.R., 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 449-457.
- Cullor, J.S., 1992. Shock attributable to bacteraemia and endotoxaemia in cattle: clinical and experimental findings. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 200, 1894-1902.
- Daniel, J.A., Whitlock, B.K., Wagner, C.G., Sartin, J.L., 2002. Regulation of the growth hormone and luteinizing hormone response to endotoxin in sheep. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23, 361-370.
- Elsasser, T.H., Caperna, T.J., Rumsey, T.S., 1995. Endotoxin administration decreases plasma insulin-like growth factor (IGF)-1 and IGF-binding protein-2 in Angus x Hereford steers independent of changes in nutritional intake. *J. Endocrinol.* 144, 109-117.
- Elsasser, T.H., Richards, M., Collier, R., Hartnell, G.F., 1996. Physiological responses to repeat endotoxin challenge are selectively affected by recombinant bovine somatotropin administration to calves. *Domest. Anim. Endocrinol.* 13, 91-103.
- Erskine, R., 2000. Mastitis control in dairy herds. In: Radostits, O.M. (ed.): *Herd health - Food animal production medicine.* WB Saunders Company, Philadelphia, PA, 397-433.
- Finck, B.N., Kelley, K.W., Dantzer, R., Johnson, R.W., 1998. Lipopolysaccharide-induced changes in monoamines in specific areas of the brain: blockade by interleukin-1 receptor antagonists. *Endocrinology* 139, 2278-2283.
- Gilbert, R.O., Bosu, W.T.K., Peter, A.T., 1990. The effect of *Escherichia coli* endotoxin on luteal function on Holstein heifers. *Theriogenology* 33, 645-651.
- Giri, S.N., Chen, Z., Carrol, E.J., 1984. Role of prostaglandins in pathogenesis of bovine mastitis induced by *Escherichia coli* endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 45, 586-591.
- Giri, S.N., Emau, P., Cullor, J.S., Stabenfeldt, G.H., Bruss, M.L., Bondurant, R.H., Osburn, B. L., 1990. Effects of endotoxin infusion on circulating levels of eicosanoids, progesterone, cortisol, glucose and lactic acid and abortion in pregnant cows. *Vet. Microbiol.* 21, 211-231.
- Haastaren, van G.A.C., Meer, van der M.J.M., Hermus, A.R.M.M., Linkels, E., Klootwijk, W., Kaptein, E., Toor, van H., Sweep, C.G.J., Visser, T.J., Greef, de W.J., 1994. Different effects of continuous infusion of IL-1 and IL-6 on the hypothalamic-hypophyseal-thyroid axis. *Endocrinology* 135, 1336-1345.
- Hashimoto, H., Igarashi, N., Miyawaki, T., Sato, T., 1995. Effects of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 on type-I iodothyronine 5'-deiodination in rat thyroid cell line, FRTL-5. *J. Interferon Cytokine Res.* 15, 367-375.
- Hirvonen, J., Pyörälä, S., Huszenicza, Gy., Kulcsár, M., Eklund, K., Saloniemi, H., 1999. Acute phase response in experimentally induced *Escherichia coli* mastitis of dairy cows. *Acta Vet. Scand.* 40, 35-46.
- Hockett, M.E., Hopkins, F.M., Lewis, M.J., Saxton, A.M., Dowlen, H.H., Oliver, S.P., Schrick F.N., 2000. Endocrine profiles of dairy cows following experimentally induced clinical mastitis during early lactation. *Anim. Reprod. Sci.* 58, 241-251.
- Hoeben, D., Burvenich, C., Trevisi, E., Bertoni, G., Hamann, J., Bruckmaier, R.M., Blum J.W., 2000. Role of endotoxin and TNF- α in the pathogenesis of experimentally induced coliform mastitis in periparturient cows. *J. Dairy Res.* 67, 503-514.
- Houseknecht, K.L., Baile, C.A., Matteri, R.L., Spurlock, M.E., 1998. The biology of leptin: a review. *J. Anim. Sci.* 76, 1405-1420.
- Huszenicza, Gy., Jánosi, Sz., Kulcsár, M., Kóródi, P., Dieleman, S. J., Bartyik, J., Ribiczei-Szabó, P., 1998. Gram negative mastitis in early lactation may interfere with ovarian and certain endocrine functions and metabolism in dairy cows. *Reprod. Domest. Anim.* 33, 147-153.
- Huszenicza Gy., Jánosi Sz., Kulcsár M., Kóródi P., Reiczigel J., Kátai L., Peters A.R, De Rensis, F., 2005: Effects of clinical mastitis on ovarian function in postpartum dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.*, 40. 199-204.
- Jackson, J.A., Shuster, D.E., Silvia, W.J., Harmon, R.J., 1990. Physiological responses to intramammary or intravenous treatment with endotoxin in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73, 627-632.
- Jánosi, Sz., Kulcsár, M., Kóródi, P., Kátai, L., Reiczigel, J., Dieleman, S.J, Nikolic, J.A., Sályi, G., Ribiczei-Szabó, P., Huszenicza, Gy., 2003. The energy imbalance related predisposition for mastitis in group-fed high-producing postpartum dairy cows. *Acta Vet. Hung.* 51, 409-424.
- Kahl, S., Elsasser, T.H., Blum, J.W., 2000. Effect of endotoxin challenge on hepatic 5'-deiodinase activity in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 18, 133-143.
- Kakizaki, Y., Watanobe, H., Kohsaka, A., Suda, T., 1999. Temporal profiles of interleukin-1-beta, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in the plasma and hypothalamic paraventricular nucleus after intravenous or intraperitoneal administration of lipopolysaccharide in the rat: estimation by push-pull perfusion. *Endocr. J.* 46, 487-496.
- Kimura, K., Goff, J.P., Kehrl, E., Jr., Reinhardt, T.A., 2002. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85, 544-550.
- Kindahl, H., Odensvik, K., Bekana, M., Kask, K., 1996. Prostaglandin release as a mediator between infections and impaired reproductive performance. *Reprod. Domest. Anim.* 31, 441-444.
- Kremer, W.D.J., Burvenich, C., Noordhuizen-Stassen, E.N., Grommers, F.J., Schukken, Y.H., Heeringa, R., Brand, A., 1993. Severity of experimental *Escherichia coli* mastitis in ketonaemic, and nonketonaemic dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 3428-3436.
- Kulcsár M., Jánosi Sz., Lehtolainen T., Kátai L., Delavaud C., Balogh O., Chilliard Y., Pyörälä S., Rudas P., Huszenicza Gy., 2005. Feeding-unrelated factors influencing the plasma leptin level in ruminants. *Domest. Anim. Endocrin.*, 29. 214-226.
- Kushibiki, S., Hodate, K., Ueda, Y., Shingu, H., Mori,



- Y., Itoh, T., Yokomizo, Y., 2000. Administration of recombinant bovine tumor necrosis factor- α affects intermediary metabolism and insulin and growth hormone secretion in dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 78, 2164-2171.
- Leininger, M.T., Portocarrero, C.P., Schinckel, A.P., Spurlock, M.E., Bidwell, C.A., Nielsen, K.L., Houseknecht, K.L., 2000. Physiological response to acute endotoxaemia in swine: effect of genotype on energy metabolism and leptin. *Domest. Anim. Endocrinol.* 18, 71-82.
- Lehtolainen, T., Suominen, S., Kutila, T., Pyörälä, S., 2003. Effect of intramammary *Escherichia coli* endotoxin in early- vs late-lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86, 2327-2333.
- Lopez-Diaz, M.C., Bosu, W.T.K., 1992. A review and update of cystic ovarian degeneration in ruminants. *Theriogenology* 37, 1163-1183.
- Mastronaldi, C.A., Yu, W.H., Rettori, V., McCann, J., 2000. Lipopolysaccharide-induced leptin release is not mediated by nitric oxide, but is blocked by dexamethasone. *Neuroimmunomodulation* 8, 91-97.
- McMahon, C.D., Elsasser, T.H., Gunter, D.R., Sanders, L.G., Steele, B.P., Sartin, L., 1998. Estradiol/progesterone implants increase food intake, reduce hyperglycemia and increase insulin resistance in endotoxic steers. *J. Endocrinology* 159, 469-478.
- Menzies, F.D., McBride, S.H., McDowell, W.J., McCoy, M.A., McConnell, W., Bell, C., 2000. Clinical and laboratory findings in cases of toxic mastitis in cows in Northern Ireland. *Vet. Rec.* 147, 123-128.
- Mohan-Kumar, S.M., Mohan-Kumar, P.S., Quadri, S.K., 1999. Lipopolysaccharide-induced changes in monoamines in specific areas of the brain: blockade by interleukin-1 receptor antagonist. *Brain Res.* 824, 232-237.
- Moore, D.A., Cullor, J.S., Bondurant, R.H., Sicho, W.M., 1991. Preliminary field evidence for the association of clinical mastitis with altered interestrus intervals in dairy cattle. *Theriogenology* 36, 257-265.
- Myllys, V., Asplund, K., Brofeldt, E., Hirvelä-Koski, V., Honkanen-Buzalski, T., Junntila, J., Kulkas, L., Myllykangas, O., Niskanen, M., Saloniemi, H., Sandholm, M., Saranpää, T., 1998. Bovine mastitis in Finland in 1985 and 1995 - changes in prevalence and antimicrobial resistance. *Acta Vet. Scand.* 39, 119-126.
- Nikolic, J.A., Kulcsár, M., Kátai, L., Nedic, O., Jánosi, Sz., Huszenicza, Gy., 2003. Periparturient endocrine and metabolic changes in healthy cows and in those affected by various forms of mastitis. *J. Vet. Med. A* 50, 22-29.
- Okuda, K., Miyamoto, Y., Skarzynski, D.J., 2002. Regulation of endometrial prostaglandin F_{2a} synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. *Domest. Anim. Endocr.* 23, 255-264.
- Oliver, S.P., Schrick, F.N., Hockett, M.E., Dowlen, H.H., 2000. Clinical and subclinical mastitis during early lactation impairs reproductive performance of dairy cows. *Proc. of National Mastitis Council, Inc Regional Meeting (Cleveland, Ohio, 24 Aug, 2000)*, pp 34-51.
- Peeler, E.J., Green, M.J., Fitzpatrick, J.L., Green, L.E., 2002. Study of clinical mastitis in British dairy herds with bulk milk somatic cell counts less than 150,000 cells/ml. *Vet. Rec.* 151, 170-176.
- Peter, A.T., Bosu, W.T.K., 1987. Effects of intrauterine infections on the function of the corpora lutea formed after first postpartum ovulations in dairy cows. *Theriogenology* 27, 593-609.
- Peter, A.T., Bosu, W.T.K., DeDecker, R.J., 1989. Suppression of preovulatory LH surges in heifers after intrauterine infusions of *Escherichia coli* endotoxin. *Amer. J. Vet. Res.* 50, 368-373.
- Peter, A.T., Bosu, W.T.K., Luke, C.W., 1987. Plasma endotoxin and concentration of stable metabolites of prostacyclin, thromboxane A₂ and prostaglandin E₂ in postpartum dairy cows. *Prostaglandins* 34, 15-28.
- Pyörälä, S., E. Pyörälä., 1998. Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989-1995). *J. Am. Vet. Med. Ass.* 212, 407-412.
- Rettori, V., Dees, W.L., Hiney, J.K., Lyson, K., McCann, J., 1994. An interleukin-1- α -like neuronal system in the preoptic-hypothalamic region and its induction by bacterial lipopolysaccharide in concentrations which alter pituitary hormone release. *Neuroimmunomodulation*, 1, 251-258.
- Salyers, A.A., Whitt, D.D., 1994. Bacterial pathogenesis - a molecular approach. ASM Press, Washington, DC.
- Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L., Pyörälä, S., 1995. The bovine udder and mastitis. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki, Finland.
- Sartorelli, P., Paltrinieri, S., Agnes, F., 1999. Non-specific immunity and ketone bodies I. In vitro studies on chemotaxis and phagocytosis of ovine neutrophils. *J. Vet. Med. A* 46, 613-619.
- Sartorelli, P., Paltrinieri, S., Comazi, S., 2000. Non-specific immunity and ketone bodies II. In vitro studies on adherence and superoxide anion production in ovine neutrophils. *J. Vet. Med. A* 47, 1-8.
- Schrick, F.N., Hockett, M.E., Saxton, A.M., Lewis, M.J., Dowlen, H.H., Oliver, S.P., 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J. Dairy Sci.* 84, 1407-1412.
- Smith, B.B., Wagner, W.C., 1984. Suppression of prolactin in pigs by *Escherichia coli* endotoxin. *Science* 224, 605-609.
- Smith, B.B., Wagner, W.C., 1985. Effect of *Escherichia coli* endotoxin and thyrotropin-releasing hormone on prolactin in lactating sows. *Am. J. Vet. Res.* 46, 175-182.
- Soliman, M., Abdelhardy, S., Fattouh, I., Ishioka, K., Kitamura, H., Kimura, K., Saito, M., 2001. No alterations in serum leptin levels during acute endotoxaemia in sheep. *J. Vet. Med. Sci.* 63, 1143-1145.
- Soliman, M., Ishioka, K., Kimura, K., Kushibiki, S., Saito, M., 2002. Plasma leptin responses to lipopolysaccharide and tumor necrosis factor- α in cows. *Jpn. J. Vet. Res.* 50, 107-114.
- Song, D.K., Im, Y.B., Jung, J.S., Suh, H.W., Huh,



S.O., Park, S.W., Wie, M.B., Kim, Y.H., 1999. Differential involvement of central and peripheral norepinephrine in the central lipopolysaccharide-induced interleukin-6 responses in mice. *J. Neurochem.* 72, 1625-1633.

Sordillo, L., Daley, M., 1995. Role of cytokines in the prevention and treatment of bovine mastitis. In: Myers, M.J., Murtaugh, M.P. (eds): *Cytokines in animal health and disease*. Marcel Dekker Publ., New York, pp. 389-419.

Spurlock, M.E., Ranalletta, M.A., Cornelius, S.G., Frank, G.R., Willis, G.M., Ji, S., Grant, A.L., Bidwell, C.A., 1998. Leptin expression in porcine adipose tissue is not increased by endotoxin but is reduced by growth hormone. *J. Interferon Cytokine Res.* 18, 1051-1058.

Steiger, M., Senn, M., Altreuther, G., Werling, D., Sutter, F., Kreuzer, M., Langhans, W., 1999. Effect of prolonged low-dose lipopolysaccharide infusion on feed intake and metabolism in heifers. *J. Anim. Sci.* 77, 2523-2532.

Suriyasathaporn, W., Daemen, A.J.J.M., Noordhuizen-Stassen, E.N., Dieleman, S.J., Nielen, M., Schukken, Y.H., 1999. Beta-hydroxybutyrate levels in peripheral blood, and ketone bodies supplemented in culture media affect the in vitro chemotaxis of bovine leukocytes. *Vet Immunol. Immunopathol.* 68, 177-186.

Suriyasathaporn, W., Heuer, C., Noordhuizen-Stassen, E., Schukken, Y.H., 2000. Hyperketonaemia and the impairment of udder defense: a review. *Vet. Res.* 31, 397-412.

Suzuki, C., Yoshioka, K., Iwamura, S., Hirose, H., 2001. Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the prooestrus phase in Holstein heifers. *Domest. Anim. Endocrinol.* 20, 267-278.

Valde, J.P., Hird, D.W., Thormond, M.C., Osteras, O., 1997. Comparison of ketosis, clinical mastitis, somatic cell count, and reproductive performance between free stall and tie stall barns in Norwegian dairy herds with automatic feeding. *Acta Vet. Scand.* 38, 181-192.

Waldron, M.R., Nishida, T., Nonnecke, B.J., Overton, T.R., 2003. Effect of lipopolysaccharide on indices of peripheral and hepatic metabolism in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 86, 3447-3459.

Wang, Y.S., White, T.D., 1999. The bacterial endotoxin lipopolysaccharide causes rapid inappropriate excitation in rat cortex. *J. Neurochem.* 72, 652-660.

Wartofsky, L., Burman, K.D., 1982. Alterations in thyroid function in patients with systemic illnesses: the "euthyroid sick syndrome". *Endocr. Rev.* 3, 164-217.

Washburn, S.P., White, S.L., Green, J.T., Jr., Benson, G.A., 2002. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. *J. Dairy Sci.* 85, 105-111.

Zerbe, H., Schneider, N., Leibold, W., Wensing, T., Kruij, T.A.M., Schuberth, H.J., 2000. Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophil granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. *Theriogenology* 54, 771-786.

Zerocelli, A., Piccinini, R., 2002. Intramammary infections: epidemiology and diagnosis. In: Kaske, M., Scholz, H., Höltershinken, M. (eds.): *Recent developments and perspectives in bovine medicine. Keynote lectures of the XXII World Buiatrics Congress (18-23 August, 2002, Hannover, Germany)*. pp. 346-359.