

Perfiles metabólicos y endócrinos, parámetros productivos y reproductivos en vacas de leche en condiciones pastoriles

Meikle, A.¹; Cavestany, D.^{1,3}; Blanc, J.¹; Krall, E.¹; Uriarte, G.⁴; Rodríguez-Iraozqui, M.; Rupprechter, G.¹; Ferraris, A.¹; Chilibroste, P.²

RESUMEN

En este estudio se investigó el efecto del número de lactancia y la condición corporal al parto sobre la condición corporal (BCS) y peso vivo, los perfiles metabólicos y endócrinos y los parámetros reproductivos y productivos en 42 vacas Holando (21 primíparas y 21 multíparas) entre los 2 meses previos hasta los 3 meses posteriores al parto. La condición corporal y el peso vivo se determinaron cada 15 días. Se tomaron muestras de sangre 2 veces por semana durante el preparto y 3 veces por semana luego del parto. Se determinaron los niveles plasmáticos de proteínas totales, albúmina, urea, ácidos grasos no esterificados (NEFA), β -hydroxybutyrato (BHB), colesterol, aspartato amino transferasa, calcio, fósforo y magnesio cada 10 días durante el período experimental. Las hormonas insulina, factor de crecimiento tipo insulínico I (IGF-I), leptina, tiroxina y 3,3',5 triiodotiroinina se determinaron cada 10 días desde un mes antes hasta dos meses luego del parto. La progesterona se determinó tres veces por semana luego del parto. Los animales fueron clasificados de acuerdo a la categoría (primíparas vs multíparas) y condición corporal al parto (<3 ó ≥ 3 , escala 1-5). Las vacas primíparas produjeron menos leche. Esta categoría también tuvo menores niveles de proteínas totales, albúmina, calcio y magnesio. Las vacas primíparas presentaron mayores aumentos de NEFA y muestras con valores de BHB indicativos de cetosis subclínica durante este período. Esto fue consistente con una menor condición corporal reflejando un balance energético negativo más severo. Las vacas multíparas presentaron mayores niveles de hormonas tiroideas e IGF-I, mientras vacas

con ≥ 3 BCS al parto presentaron mayores concentraciones de leptina y de IGF-I. Los niveles hormonales se encontraron disminuidos durante la primera semana posparto. Los patrones de IGF-I y leptina durante el posparto difirieron de acuerdo a la categoría y a la condición corporal: las vacas primíparas y las vacas con mayor condición corporal al parto presentaron una caída más abrupta de ambas hormonas. Mientras que las hormonas tiroideas y el IGF-I mostraron un aumento desde aproximadamente el Día 30, la leptina se mantuvo baja durante el período experimental. El reinicio a la ciclicidad ovárica se retrasó en vacas primíparas y esto fue consistente con intervalos parto primer servicio y parto concepción más largos. Las vacas multíparas que reiniciaron la ciclicidad ovárica antes comenzaron a recuperar los niveles de IGF-I antes, pero lo mismo no ocurrió con la leptina. Estos hallazgos sugieren que la leptina tiene un rol permisivo sobre el reinicio de la ciclicidad ovárica mientras que el IGF-I podría ser el mediador del efecto del balance energético negativo sobre la eficiencia reproductiva.

Los resultados de este estudio demuestran que los perfiles metabólicos son una buena herramienta para determinar el balance energético que está evidenciado además por la evolución del estado corporal. Los animales en peor estado corporal presentaron un peor desempeño reproductivo demostrando que la eficiencia reproductiva en la vaca lechera está íntimamente asociada al metabolismo del animal. Se discuten las señales bioquímicas y endócrinas que pueden influenciar el eje reproductivo respecto al balance energético en la vaca lechera bajo condiciones de pastoreo.

INTRODUCCIÓN

La selección genética por producción de leche durante las últimas décadas ha sido asociada con una disminución en la eficiencia reproductiva a nivel mundial (Lucy, 2001). El reinicio de la ciclicidad ovárica luego del parto está íntimamente asociada con el balance energético durante este período; el tiempo del comienzo del balance energético positivo se correlaciona de forma positiva con el tiempo de la primera ovulación (Butler y col. 1981). El balance energético no sólo es

el factor más crítico que afecta la eficiencia reproductiva sino que además afecta la salud animal y la producción de leche.

La transición del estado preñada no lactante al no preñado lactante es un cambio dramático para la vaca, la cual debe adaptar su metabolismo durante las primeras semanas posparto a las fuertes exigencias que le demanda la producción y al cambio de régimen alimenticio acorde con su nuevo nivel de requerimientos (Drackley, 1999). Durante este período la vaca está en balance energético negati-

vo, ya que la cantidad de energía requerida para mantener la producción de leche supera la de la ingesta y la vaca debe movilizar nutrientes de las reservas corporales (Chilliard, 1999), y esto es visible en la pérdida de condición corporal (Bauman y Currie, 1980). La severidad del balance energético negativo para cada vaca dependerá del potencial genético de producción, de las reservas corporales, y de la ingesta de materia seca (Ingvarsen y Andersen, 2000). De estos factores se sugirió que el más importante en

¹Facultad de Veterinary ²Facultad de Agronomía, Universidad del Uruguay.

³Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, ⁴DILAVE Miguel C. Rubino, Ministerio de Agricultura, Uruguay.

determinar la magnitud del balance energético negativo es la ingesta (Ingvartsen y Andersen, 2000). Las variaciones en la ingesta, biotransformación y excreción durante este período pueden ser monitoreados por la concentración de algunos metabolitos en sangre. Al presente no hay un solo metabolito que pueda medirse que refleje directamente los cambios en el metabolismo o requerimientos nutricionales, por lo tanto se debe utilizar una combinación de éstos.

La gran movilización grasa que ocurre en el pre y posparto temprano se acompaña de una pronunciada elevación de ácidos grasos no esterificados (NEFA). Este aumento de NEFA puede ser seguido de una producción aumentada de β -hidroxi-butilato (BHB) el cual refleja la importante lipólisis y déficit energético. Simultáneamente hay un acumulo de triacilglicéridos en el hígado, lo que provoca diferentes disfunciones que se reflejan en la bioquímica sanguínea (hipocolesterolemia, hipoalbuminemia, aumento de enzimas hepáticas). Los valores de albúmina y urea son buenos indicadores del nivel proteico de la alimentación (Mans-ton y col. 1975). Vacas con dietas pobres en proteína compensan en parte el déficit a través de la movilización de sus reservas corporales y la disminución de la eliminación renal de urea, lo que se refleja en pérdidas de peso, condición corporal y disminución de la producción láctea (Wittwer y col. 1983). Por otro lado, el consumo diario de proteína está correlacionado positivamente con el consumo de materia seca que gradualmente se incrementa durante el posparto. El exceso de proteína en la dieta produce elevadas concentraciones de urea en sangre y se ha propuesto que esto afecta la eficiencia reproductiva, debido al costo energético adicional de la desintoxicación de amonio (Elrod y Butler, 1993). Sin embargo, Barton y col. (1996) reportaron que no hay efecto de un exceso de proteínas sobre el porcentaje de preñez. Además de grasas, carbohidratos y proteínas, la vaca lechera tiene altos requerimientos de minerales durante el posparto. Debido a la importancia de estos en las enfermedades metabólicas en el periparto, es que sus niveles séricos se determinan frecuentemente con los metabolitos anteriormente descritos. Los

antecedentes expuestos anteriormente se basan en sistemas de explotación de estabulación o semi-estabulación, muy diferentes de las condiciones de los sistemas productivos basados en pastura.

Los mecanismos fisiológicos de señales que informan al eje hipotálamo-hipófisis-ovárico del estado de balance energético del animal son complejos y confusos. Muchos estudios han propuesto señales metabólicas tales como metabolitos sanguíneos (NEFA, glucosa) y hormonas metabólicas (insulina, leptina y el eje somatotrófico: hormona del crecimiento y la familia de factores de crecimiento tipo insulínico) que se ven afectados por alteraciones en el metabolismo energético (Chilliard y col., 1998, Huszenicza y col. 2001). Las vacas en balance energético negativo tienen niveles de hormonas tiroideas más bajos que facilitan que los tejidos periféricos adapten su metabolismo energético local a esta nueva condición catabólica (Pethes y col. 1985; Capuco y col. 2001). Se ha reportado un rol de estas hormonas en la regulación de la esteroidogénesis (Spicer 2001), pero los datos concernientes a la función ovárica *in vivo* son limitados y controvertidos (Huszenicza y col. 2002). Beam y Butler (1999) han reportado que la relación insulina/hormona del crecimiento (y su mediador el factor de crecimiento similar a la insulina tipo I, IGF-I) y el día del nadir de balance energético influyen en el crecimiento folicular. Vacas con folículos dominantes ovulatorios y secretores activos de estradiol presentan mayores niveles circulantes de IGF-I en las primeras dos semanas posparto (Beam y Butler, 1997, 1998). Otros estudios apoyan la hipótesis de que los niveles circulantes de IGF-I en el periparto son buenos indicadores de la capacidad del retorno a la ciclicidad ovárica (Spicer y col. 1990, 1991; Roberts y col. 1997).

Recientemente, la investigación sobre la regulación del consumo y metabolismo energético se ha centrado en el rol de la leptina. Esta hormona proteica identificada a fines de los '90 en varias especies mamíferas, es secretada principalmente por el tejido adiposo y es uno de los principales agentes comunicando información sobre el nivel de almacenamiento de energía periférica a regiones cerebrales que controlan el comportamiento de

alimentación, metabolismo y función endócrina para mantener la homeostasis (Chilliard y col. 1998). En rumiantes, como en otras especies, las concentraciones de leptina varían con cambios en el peso corporal y el porcentaje de depósitos grasos (Delavalud y col. 2002). Las vacas lecheras frecuentemente pierden más del 60 % de su grasa corporal durante la lactación temprana (Tamminga y col. 1997; Chilliard 1999), y se ha demostrado que la concentración de leptina disminuye un poco antes del parto (Kadokawa y col. 2000, Block y col. 2001, Liefers y col. 2003). Hay menos acuerdo en los perfiles de leptina luego del parto: aumentan (Kadokawa y col. 2000), no varían (Huszenicza y col. 2001), disminuyen (Block y col. 2001, Holtenius y col. 2003) o aumentan transitoriamente (Liefers y col. 2003). La reducción posparto de leptina fue debida al balance energético negativo ya que los niveles se mantuvieron altos en vacas que no fueron ordeñadas luego del parto (Block y col. 2001). Hay escasos datos reportados sobre la interrelación entre los niveles circulantes de leptina y el reinicio de la ciclicidad ovárica posparto en vaca lechera (Kadokawa y col. 2000, Huszenicza y col. 2001). El intervalo parto primera ovulación se correlacionó con el nadir de leptina pero no se correlacionó con los niveles de leptina preparto o con los valores pre y postovulatorios (Kadokawa y col. 2000). Liefers y col. (2003) encontraron que a pesar de que no existió una relación entre leptina y la primer actividad luteal posparto, las concentraciones de leptina más altas se asociaron con intervalos más cortos al primer estro observado. Todos estos estudios además de haber sido realizados en sistemas de estabulación, presentan panoramas parciales de la fisiología de la lactancia de la vaca lechera.

A pesar de que los mecanismos fisiológicos que sufre la vaca lechera para poder adaptarse a los requerimientos de lactación deberían ser básicamente similares en los diferentes sistemas productivos, las demandas energéticas debidas al pastoreo pueden modificar las grandes transformaciones que ocurren en este período. Más aún, la ingesta de materia seca en estos sistemas productivos es usualmente más baja que los sistemas confi-

nados y puede ser insuficiente para sostener la alta producción de leche que puede obtenerse con el potencial genético existente. La finalidad de este trabajo fue contribuir al conocimiento de la fisiología metabólica y endócrina de la vaca lechera en transición y de la interacción nutrición-producción-reproducción bajo condiciones de pastoreo controlado. Específicamente los objetivos planteados fueron 1) caracterizar los perfiles metabólicos y endócrinos de la vaca en transición bajo condiciones pastoriles y sus interacciones con índices reproductivos y productivos. 2) estudiar el efecto de la categoría (primíparas vs múltiparas) y condición corporal al parto (<3 ó ≥3) sobre los perfiles metabólicos y endócrinos y parámetros productivos y reproductivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

El diseño experimental se realizó en la estación experimental Mario A. Cassinoni de la Facultad de Agronomía, Ruta 3, km 368, Paysandú de febrero a junio de 2001. Se seleccionaron 43 vacas Holando: 22 múltiparas de 2 a 5 lactaciones y 21 primíparas, período de parición marzo-mayo. Sólo animales con partos y pospartos normales fueron considerados para el estudio, por lo que una vaca múltipara que presentó mastitis aproximadamente a los 20 días posparto fue excluida de análisis posteriores. La alimentación preparto consistió en pastoreo sobre praderas de leguminosas y gramíneas. Tres semanas antes del parto se les ofreció una dieta que consistió en una mezcla de 12 kg de silo de maíz y 4 kg de concentrado comercial (14 % proteína cruda (CP), 1.7 energía neta de lactación (ENL) que eran dados una vez al día y fardos de moha ad libitum. Luego del parto las vacas tuvieron acceso a pastoreo en franja de praderas de leguminosas y gramíneas, 15 kg (base fresca) de silo de maíz (33 % materia seca (DM), 6.8 % CP) y 6 kg DM de un concentrado comercial (17 % CP, 1.7 ENL). La disponibilidad de la pastura (1650 ± 230 kg DM) fue estimada con un método comparativo de producción adaptado de Haydock y Shaw (1975), y se calculó una disponibilidad de 15 a 18 kg de DM por vaca por día en ajustes semanales del tamaño

de las franjas de pastoreo diarias. Las vacas tuvieron acceso al pastoreo entre el ordeño de la mañana y el de la tarde, el silo de maíz fue suministrado luego del ordeño de la tarde y el concentrado distribuido entre ambos ordeños equitativamente. Los animales se ordeñaron 2 veces por día y se realizaron controles de producción cada 15 días. La medición de la condición corporal (BCS) se realizó cada 15 días por el mismo observador desde 2 meses antes del parto hasta el tercer mes de lactancia, utilizando una escala de 5 puntos (1=emaciada, 5=obesa, Edmonson y col. 1989). El manejo reproductivo fue el convencional, los celos fueron detectados por observación visual dos veces al día, inseminando los animales a las 12 horas posteriores a la detección de celo (período de espera voluntario = 50 días). El diagnóstico de gestación se realizó por palpación rectal a partir de los 45 días de la inseminación. Para las determinaciones de hormonas y metabolitos se tomaron muestras de sangre por venopunción de la yugular en tubos heparinizados dos veces por semana a partir de los dos meses antes del parto al parto y tres veces por semana desde el parto hasta el tercer mes de lactancia. Las muestras se centrifugaron y el plasma se almacenó a -20° C. La eficiencia reproductiva se estudió a través de los siguientes parámetros: días a la primera ovulación, intervalo parto primer servicio y intervalo parto-concepción.

Determinación de los metabolitos

Todas las determinaciones de los metabolitos en las muestras de plasma cada 10 días se realizaron utilizando un equipo automático (Vitalab Spectra 2). Se determinaron proteínas séricas, albúmina, urea, colesterol, calcio, magnesio, fósforo y aspartato amino transferasa utilizando kits comerciales Weiner Lab (Rosario, Argentina). La bioquímica sanguínea fue analizada de acuerdo a las siguientes metodologías: proteínas totales: reacción de Biuret; albúmina: verde Bromocresol; urea: ureasa UV, colesterol: CHOD-PAP, calcio: o-cresolphtaleina; magnesio: azul xylydyl -EGTA, fósforo: fosfomolibdato UV, gamma-glutamyl-transferasa (GGT): Szasz (37°C), y aspartato amino transferasa (ASAT): IFCC optimizado (37°C). Las globulinas fue-

ron estimadas como la diferencia entre las proteínas totales menos la albúmina, asumiendo que esto incluye las proteínas de la coagulación y que estas son constantes. Todas las muestras se analizaron en dos ensayos. Los controles de calidad utilizados fueron Lyotrol N y P y controles internos del Laboratorio Miguel C. Rubino (DILAVE, Uruguay). Los coeficientes de variación intraensayo (CV) fueron ≤3.7 % para todos los parámetros y el CV interensayo fue ≤9.6 %. Estos CV son más bajos que el error máximo tolerable de acuerdo con los criterios de Tonks (Tonks, 1963) y el de Aspen (Cotlove *et al.*, 1970).

Las determinaciones de βhidroxibutirato (BHB) y ácidos grasos no esterificados (NEFA) fueron determinados utilizando kits comerciales (D-3-Hydroxybutyrate kit, Kat. #RB 1007 y NEFA kit, Kat. #FA 115, Randox Laboratories Ltd, Ardmore, UK). Los CV intraensayo para BHB y NEFA fueron ≤5.5 % y ≤4.5 % y los CV interensayos fueron ≤7.3 % y ≤9.7 %, respectivamente.

Determinación de las hormonas

La progesterona fue determinada 3 veces por semana en todas las muestras de plasma desde el parto (Día 0) hasta los tres meses postparto. Las concentraciones de todas las otras hormonas fueron determinadas cada 10 días desde un mes antes hasta 2 meses después del parto.

La progesterona fue determinada por un kit commercial (Coat-a-count, DPC Diagnostic Products Co, Los Angeles, CA, USA). Los CV intra e interensayo fueron 6 % y 11 %. La sensibilidad fue de 0.1 nmol/L.

La determinación de Tiroxina (T4) y 3,3',5-tri-iodotironina (T3) fue realizada por un kit de tubos recubiertos ¹²⁵I-Spec RIA (Instituto de Isótopos Co., Ltd. Budapest, Hungría). La sensibilidad fue de 0.5 nmol/L (T4) y 0.19 nmol/L (T3). Los CV intra ensayos fueron 6.4 - 8.1 % para T4 y 6.0 - 8.3 % para T3. Los CV interensayos fueron ≤5.8 % y ≤6.5 % respectivamente.

La insulina fue determinada por un kit en fase sólida (CIS Bio International Ltd, Gif-Sur-Yvette, France). La sensibilidad del ensayo fue de 1.08 μIU/ml. Los CV intraensayo estuvieron entre 5.5 - 8.4 %, mientras que el interensayo fue de 8.8 %.

El factor de crecimiento tipo insulínico I se determinó como fue descrito previamente (Nikolic y col. 1996). Se utilizó IGF-I humano (ICN Biomedicals Inc., Aurora, USA) marcado con ^{125}I como trazador y anticuerpos policlonales de conejo contra IGF-I (Biogenesis, Poole, UK). Como standard se utilizó IGF-I humano recombinante (0.063 - 6.25 ng/tubo). Los CV de variación intraensayo e interensayo fueron menores al 6% y el 12% respectivamente.

Las concentraciones de leptina fueron modificadas a partir del ^{125}I -RIA específico ovino, homólogo, y de doble anticuerpo descrita por Delavaud y col. (2000) que fue validado para la especie bovina (Delavaud y col. 2002). La sensibilidad del ensayo fue de 0.49 ng/ml. Los CV intra e interensayo fueron 12% y 10%, respectivamente.

Análisis estadístico

La producción de leche, peso vivo, estado corporal, concentraciones de hormonas y metabolitos se estudiaron como medidas repetidas sobre la unidad experimental mediante el procedimiento Proc Mixed de SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA 2000). El modelo estadístico incluyó los efectos de número lactancia (primíparas=L1 o múltiparas=L2), condición corporal al parto (ECP escala 1-5: <3 ó ≥ 3), días posparto (funciones lineales y cuadráticas) e interacciones entre éstos. Se definió una estructura de covarianza auto regresiva de primer orden y vaca dentro de categoría y condición corporal al parto como efecto fijo (aleatorio ζ). Funciones cuadráticas fueron calculadas para cada variable y las diferencias entre los parámetros fueron analizadas con la opción estimate. Los días posparto fueron categorizados en intervalos de 10 días durante el periodo experimental (día 0=día del parto). Para estudiar los parámetros reproductivos se utilizó un modelo de regresión lineal y efectos fijos como categoría y condición corporal al parto. La diferencia entre grupos fue analizada por los test de Tukey-Kramer ($p<0.05$). El reinicio de la ciclicidad ovárica se definió como el día en el cual la concentración de progesterona en dos muestras consecutivas fue mayor a > 0.5 ng/ml o cuando la muestra fue mayor de >1 ng/ml.

Si no se detectó una concentración luteal de P4 durante el período estudiado, se tomó arbitrariamente el ultimo día de muestreo como el día de reinicio a la ciclicidad ovárica para ese animal. Se calcularon los coeficientes de correlación para estudiar relaciones entre variables (Proc Corr, SAS). Para estudiar que variables determinan el reinicio de la ciclicidad ovárica se utilizó un análisis de regresión utilizando la opción Backward (SAS) donde se incluyen todas las variables independientes y se eliminan secuencialmente las variables con $P > 0.10$ para determinar aquellas con valores de $P < 0.10$ (Proc Reg, SAS). Las variables independientes seleccionadas por el procedimiento fueron categoría, condición corporal al parto, peso vivo, condición corporal, producción de leche, proteínas totales, albúmina, urea, NEFA, BHB, colesterol, aspartato aminotransferasa, calcio, fósforo, magnesio, insulina, T3, T4, IGF-I y leptina. La última observación antes del reinicio de la ciclicidad ovárica para cada vaca fue incluida en el estudio. Las relaciones entre leptina y condición corporal pre y posparto en vacas <3 ó ≥ 3 fueron estudiadas mediante análisis de regresión simple.

RESULTADOS

Producción de leche

Las vacas primíparas produjeron menos leche que las múltiparas durante el período experimental (Tukey-Kramer,

$P<0.001$, Figura 1). La producción de leche fue afectada por los días posparto pero no hubo un efecto de la condición corporal al parto o categoría o una interacción entre ellas (Cuadro 1). La producción de leche se correlacionó negativamente con la condición corporal ($r=-.35$, $P<0.05$) y con los niveles de NEFA ($r=-.24$, $P<0.05$) y estuvo correlacionada positivamente con las proteínas y la albúmina ($r=.26$, $P<0.01$ y $r=.35$, $P<0.001$, respectivamente).

Peso corporal y condición corporal

La categoría y la condición corporal al parto afectaron la evolución del peso corporal; se encontraron diferencias en la caída de pesos (primíparas: -1.7 kg/día vs múltiparas: -1.3 kg/día) pero no con la recuperación (Cuadro 2). Se demostró una fuerte correlación entre el peso vivo y la condición corporal ($r=0.75$, $P < 0.001$). La evolución de la condición corporal se muestra en la Figura 2. Las vacas con condición corporal al parto de <3 tuvieron menor condición corporal durante el período experimental, mientras que las vaquillonas con ≥ 3 al parto tendieron a perder más condición corporal.

Las primíparas presentaron una caída más abrupta en la caída de BCS que las múltiparas pero también lo recuperaron más rápido (Cuadro 2). La BCS estuvo correlacionada negativamente con los NEFA ($r=-.35$, $P<0.001$) y el colesterol ($r=-.46$, $P<0.001$).

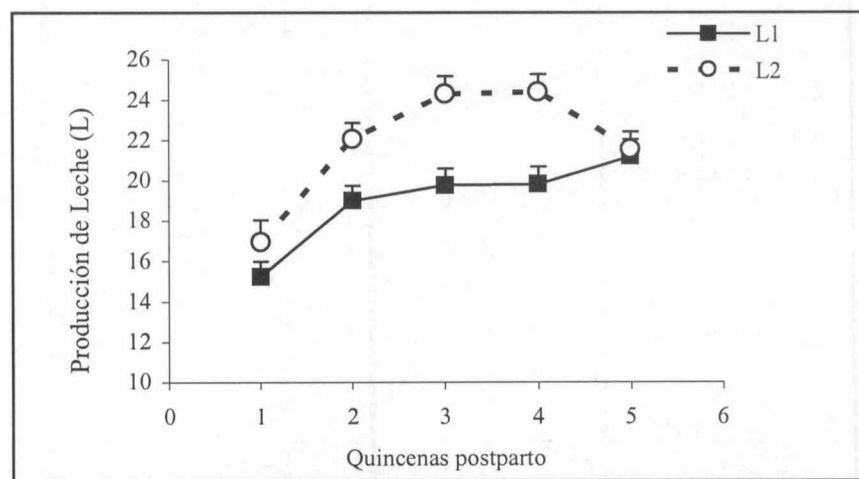


Figura 1. Producción de leche (promedio \pm SEM) de vacas primíparas (L1) y múltiparas (L2).

Cuadro 1. Significancia de los efectos fijos para cada variable. Los efectos fijos fueron categoría (C), condición corporal al parto (P), días posparto (funciones lineal, (DPP) y cuadrática DPP2) e interacciones. Se presentan sólo variables con diferencias significativas.

| Variable | C | P | DPP ^a | DPP ² | P*C | DPP*C | DPP*P | DPP ² *C | DPP ² *P |
|-------------------|------|------|------------------|------------------|------|-------|-------|---------------------|---------------------|
| BCS | 0.07 | *** | *** | *** | 0.11 | *** | 0.11 | | 0.08 |
| Peso vivo | *** | * | *** | *** | | * | 0.10 | | |
| Leche | | | *** | *** | | | | | |
| NEFA | 0.11 | | *** | *** | | *** | | ** | |
| BHB | | | * | * | | 0.07 | | 0.08 | |
| Colesterol | | | *** | *** | | *** | | | |
| Proteínas | ** | | *** | *** | | 0.10 | | | |
| Albumina | *** | 0.15 | *** | *** | | *** | | * | |
| Globulinas | * | | *** | *** | | *** | | | |
| Urea | | 0.14 | *** | *** | | * | | | 0.10 |
| ASAT ^b | | | *** | *** | | | | | |
| Calcio | *** | | *** | NS | | *** | | | |
| Fósforo | | | *** | ** | 0.10 | | | 0.15 | |
| Magnesio | 0.09 | | *** | *** | | * | | | |
| Insulina | | | * | *** | | | | 0.09 | |
| T4 | 0.10 | | *** | *** | | | | | |
| T3 | * | | *** | *** | | | | | |
| IGF-I | *** | * | *** | *** | | ** | ** | *** | 0.09 |
| Leptina | 0.13 | ** | *** | *** | | 0.07 | 0.07 | | |

BCS= condición corporal; NEFA= ácidos grasos no esterificados; BHB= -hidroxibutirato; ASAT = aspartato aminotransferasa; T4= Tiroxina; T3=3,3',5-tri-iodotironina; IGF-I= factor de crecimiento tipo insulínico I *= $P < 0.05$; **= $P < 0.01$; ***= $P < 0.001$

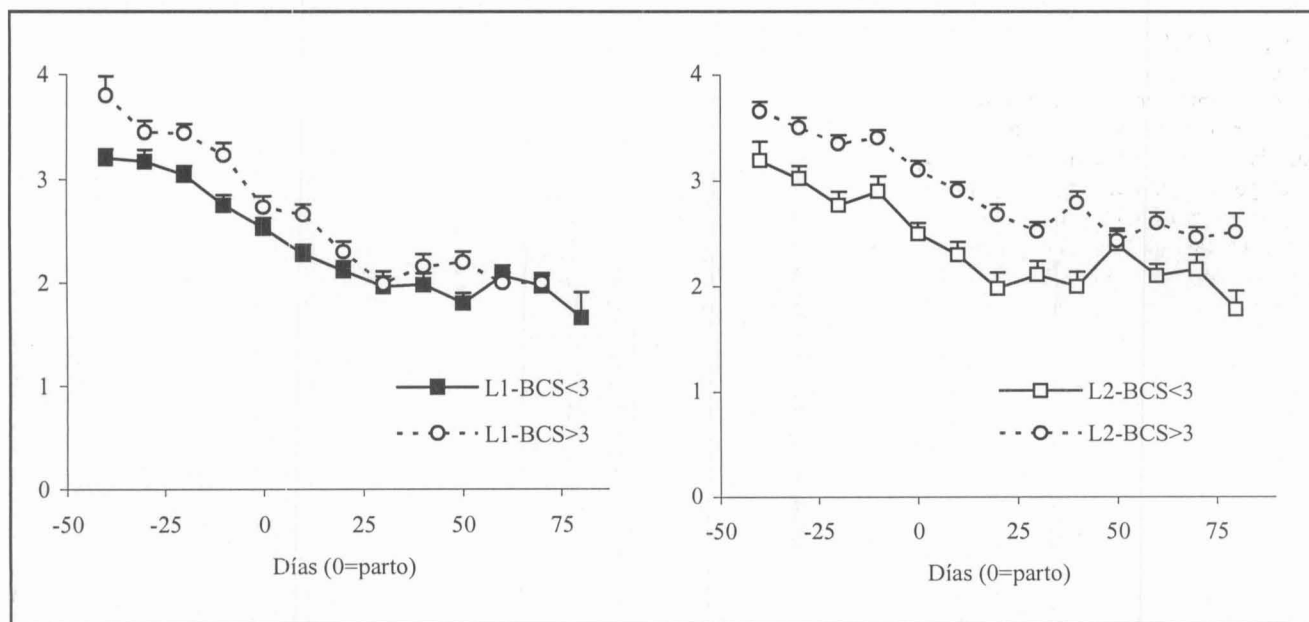


Figura 2. Evolución de la condición corporal (promedio±SEM, escala 1-5) en vacas primíparas (L1) o múltiparas (L2) con condición corporal (BCS) al parto de <3 ó ≥3.

Ácidos grasos no esterificados, β -hidroxibutirato y colesterol

Las concentraciones de NEFA comenzaron a aumentar antes del parto; las vacas primíparas presentaron su pico máximo el día 20 posparto, y las vacas multíparas el día 14 posparto, para luego disminuir. Las curvas de NEFA difirieron de acuerdo a la categoría durante el período posparto; el aumento fue mayor en pri-

míparas y se mantuvo por un período más largo (Cuadro II). Las concentraciones de BHB fueron bajas al parto, aumentaron rápidamente en la semana posparto para disminuir luego (Figura 3 panel izquierdo).

Cuando valores de BHB >1 mM fueron considerados (vacas con niveles subnormales de acuerdo con Whitaker y col., 1999) las vacas primíparas presentaron

mayor número de muestras con estos valores. Los niveles de NEFA y BHB estuvieron altamente correlacionados ($r=0.53$, $P<0.001$). La concentración de colesterol aumentó durante el período posparto en ambas categorías, a pesar de que las vacas multíparas presentaron mayores niveles de colesterol alrededor del día 60 (Figura 3 panel derecho, Cuadros 1 y 2).

Cuadro 2. Estimadores de las funciones en vacas primíparas y multíparas. Se presentan sólo variables con diferencias significativas de acuerdo a la categoría.

| Variable | Vacas primíparas | | | Vacas multíparas | | |
|------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|
| | Intercepto | DPP | DPP ² | Intercepto | DPP | DPP ² |
| BCS | 2.61 ^a | -0.01861 ^a | 0.00013 ^a | 2.75 ^b | -0.01284 ^b | 0.00008 ^b |
| Peso vivo | 521 ^a | -1.6933 ^a | 0.009153 | 583 ^b | -1.3286 ^b | 0.005954 |
| NEFA | 0.4197 | 0.003901 ^a | -0.00010 ^a | 0.3863 | 0.001728 ^b | -0.00006 ^b |
| Colesterol | 2.6350 | 0.01362 ^a | 0.000235 | 2.6486 | 0.02325 ^b | 0.000285 |
| Albumina | 32.5 | 0.04770 ^a | -0.00043 ^a | 34.3 | 0.08794 ^b | -0.00085 ^b |
| Urea | 3.7884 | -0.00142 ^a | 0.000313 | 4.1414 | -0.01241 ^b | 0.000201 |
| Calcio | 1.9638 | 0.001662 ^a | 0.000011 | 2.0638 | 0.003744 ^b | -0.00001 |
| Magnesio | 0.8632 | 0.000856 ^a | -0.00004 | 0.9101 | 0.003180 ^b | -0.00006 |
| IGF-I | 29.3 ^a | -0.30 ^a | 0.0068 ^a | 34.8 ^b | -0.19 ^b | 0.0043 ^b |
| Leptina | 6.4 ^a | -0.05 ^x | 0.000766 | 6.9 ^b | -0.04 ^y | 0.000637 |

Los valores con diferentes superscriptos dentro de los mismos estimadores (intercepto, DPP y DPP²) difieren $P<0.05$; x vs y difieren $P=0.066$.

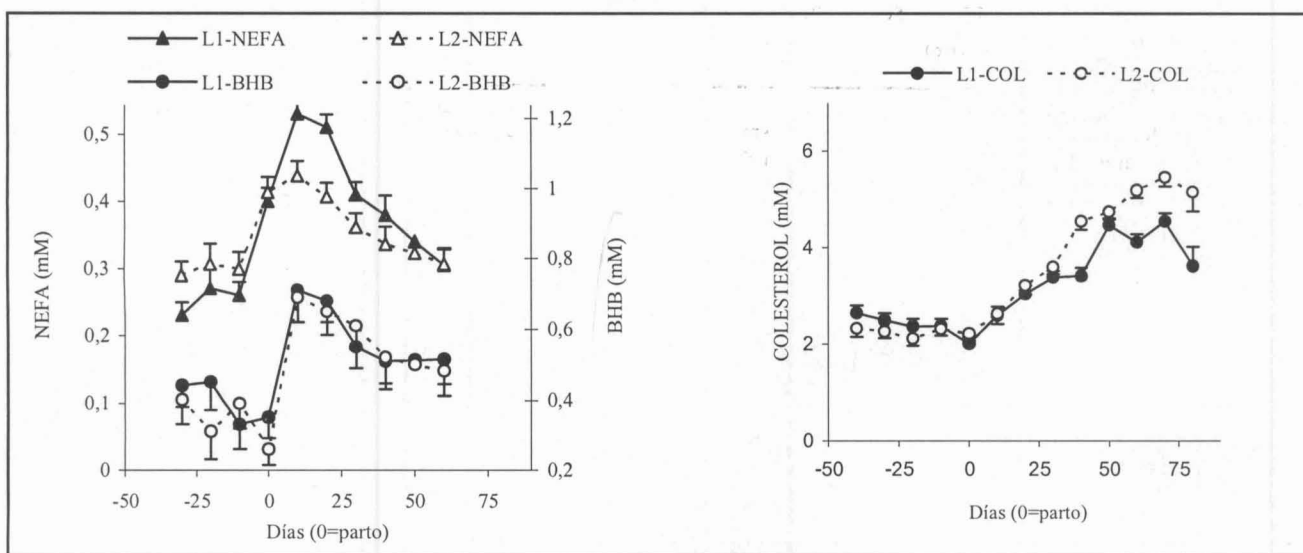


Figura 3. Niveles (promedio \pm SEM) de ácidos grasos no esterificados (NEFA), β -hidroxibutirato (BHB) y colesterol (Col) en vacas primíparas (L1) y multíparas (L2).

Proteínas totales, albúmina, globulinas y urea

Las vacas múltiparas presentaron mayores niveles de proteínas totales, albúmina y globulinas (Figura 4 panel izquierdo) que las vacas primíparas, pero no hubo un efecto de la BCS al parto. La disminución de las concentraciones de globulinas alrededor del parto se reflejó en el patrón de proteínas y fue coincidente con un aumento en la concentración de albúmina. Los niveles séricos de urea disminuyeron el último mes de gestación y aumentaron luego del parto.

Aspartato amino transferasa

Las concentraciones de aspartato aminotransferasa (ASAT) estuvieron en valores normales, excepto en algunas muestras aisladas que también tuvieron altos niveles de gamma-glutamilttransferasa (datos no mostrados). Los patrones de ASAT mostraron un aumento del Día -10 al Día 25 para mantenerse estables hasta el día 60 (Figura 5). Las concentraciones de ASAT se correlacionaron negativamente con la condición corporal ($r=-.29$, $P<0.01$) y presentaron una correlación positiva con el colesterol ($r=.39$, $P<0.001$).

Calcio, Fósforo y Magnesio

Las vacas primíparas tuvieron menores niveles de calcio y magnesio (Figura 6). Menores niveles de calcio se encontraron 20 días antes del parto pero aumentaron hacia el parto y se mantuvieron estables durante el período posparto. Alrededor del Día 60 posparto, se observó una concentración disminuida de magnesio en vacas primíparas. Los niveles de fósforo durante el posparto duplicaron los niveles encontrados durante el preparto (Figura 6).

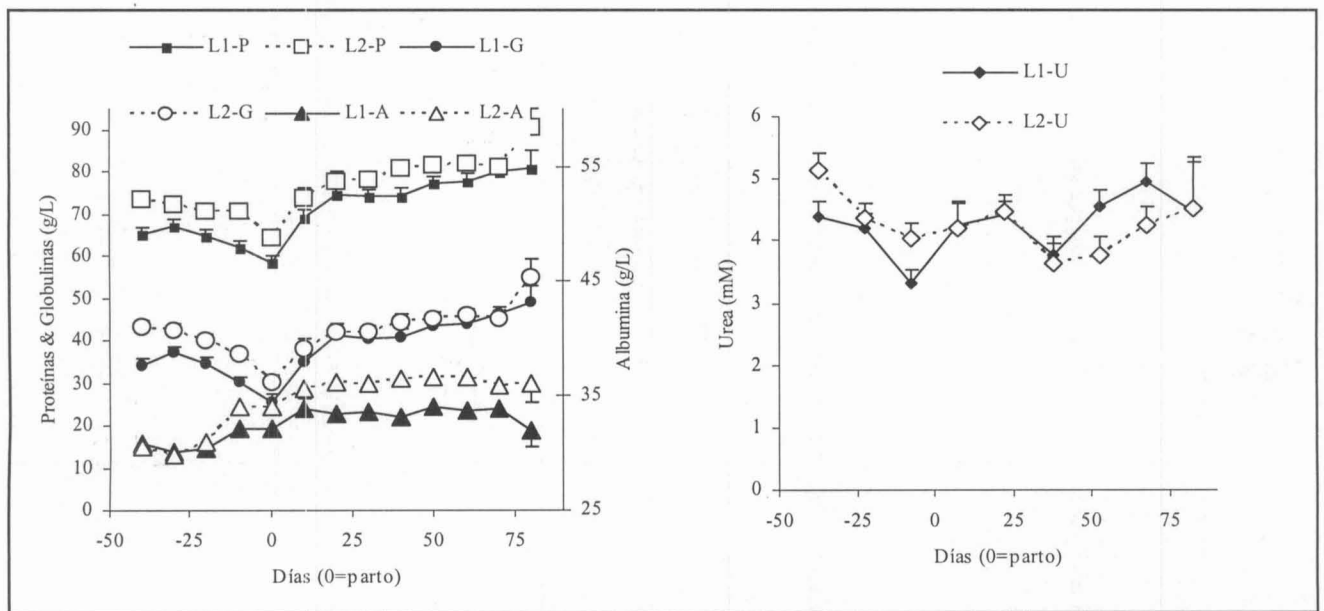


Figura 4. Niveles (promedio±SEM) de Proteínas plasmáticas totales (P), Globulinas (G) y Albúmina (A) y Urea (U) en vacas primíparas (L1, n=21) y múltiparas (L2, n=21).

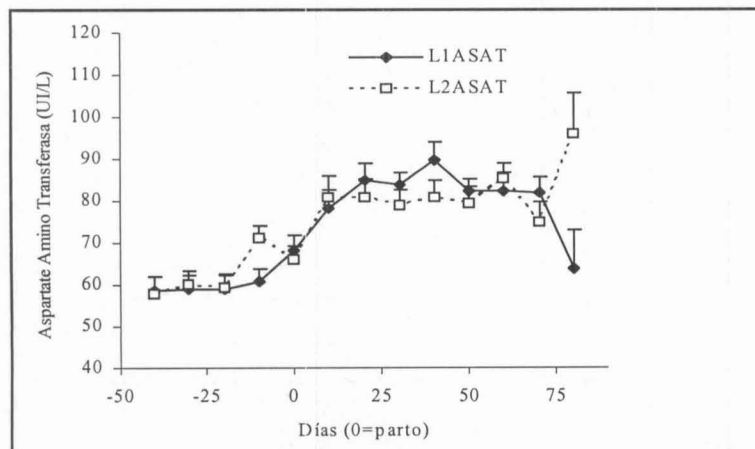


Figura 5. Niveles (promedio±SEM) de aspartato amino transferasa (ASAT) en vacas primíparas (L1) y múltiparas (L2).

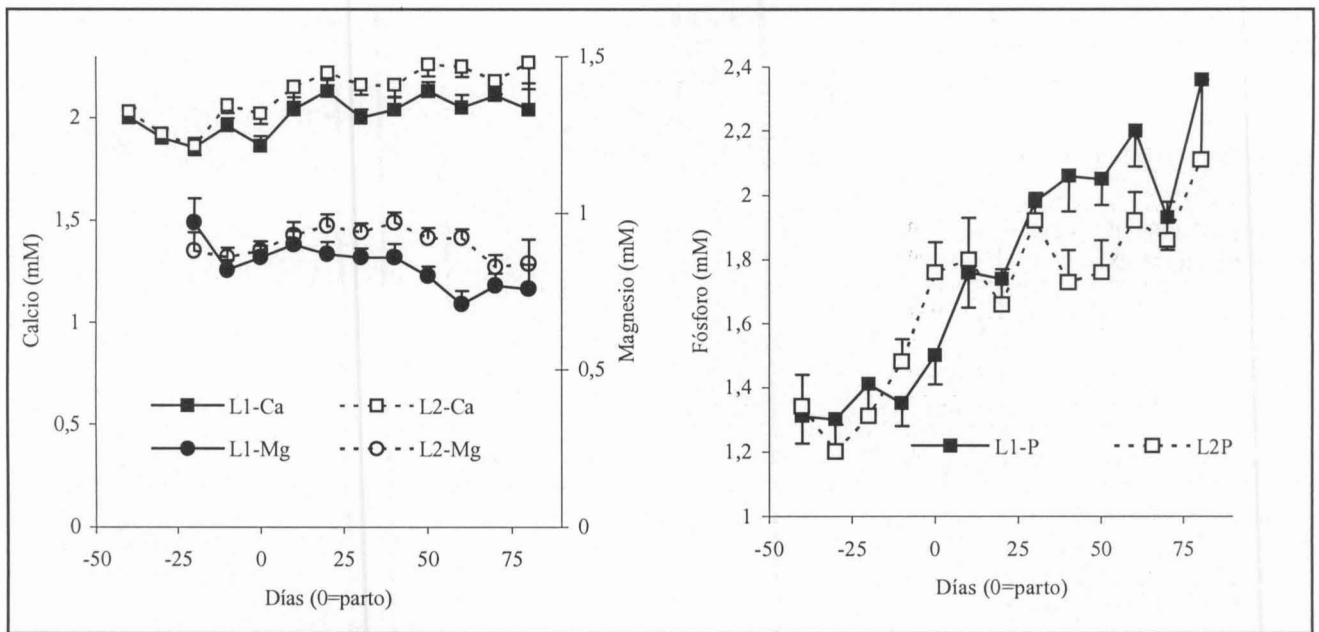


Figura 6. Niveles (promedio±SEM) de calcio (Ca), Magnesio (Mg), Fósforo (P) en vacas primíparas (L1) y múltiparas (L2).

Insulina

Las concentraciones de insulina de un mes antes hasta dos meses después del parto se muestran en la Figura 7. Las concentraciones difirieron respecto a los días posparto, se encontraron concentraciones disminuidas alrededor del parto que se recuperaron pronto. No hubo efecto de la categoría ni la condición corporal al parto sobre las concentraciones de insulina (Cuadro 1).

Hormonas tiroideas

Las vacas múltiparas presentaron mayores concentraciones de T3 (nM) que las vacas primíparas (1.36 ± 0.03 vs. 1.23 ± 0.03 , $P < 0.001$), y las concentraciones de T4 (nM) tendieron a ser diferentes (43 ± 1.8 vs 39.4 ± 1.7 , $P < 0.1$). Ambas hormonas fueron afectadas por días posparto (Tabla I) pero no hubo otro efecto y se observaron curvas paralelas en ambas categorías (Figura 7). Las hor-

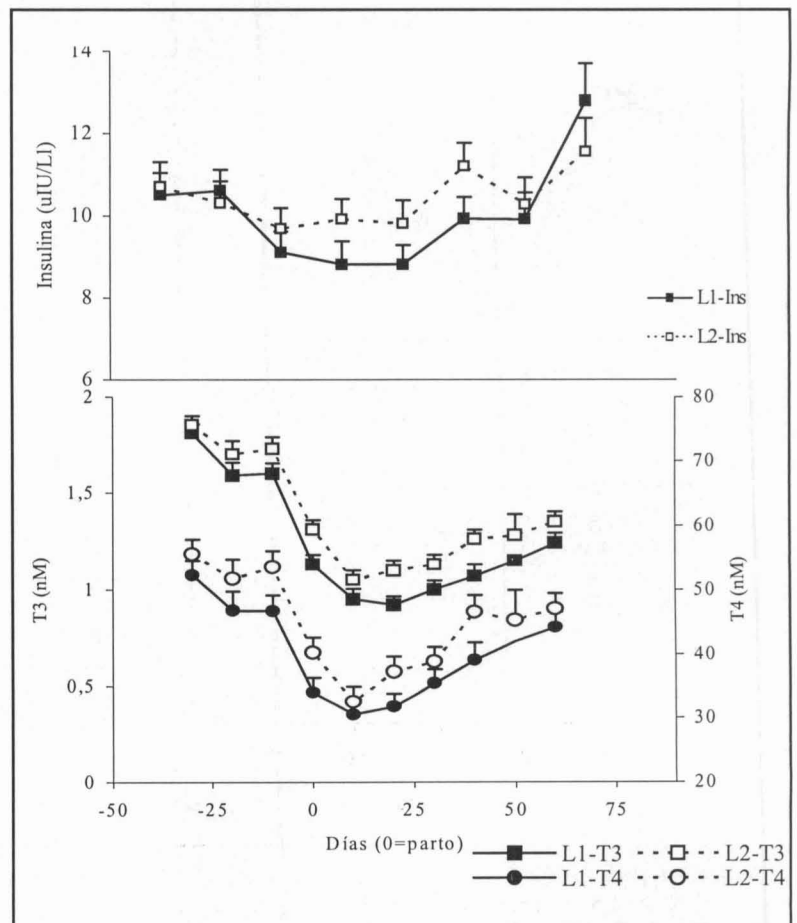


Figura 7. Niveles (promedio±SEM) de Insulina (Ins) y tiroxina (T4) y 3,3',5 triiodothyronina (T3) en vacas primíparas (L1, n=21) y múltiparas (L2, n=21).

monas tiroideas no recuperaron sus niveles preparto, a los dos meses posparto llegaron al 70 % de sus concentraciones del Día -30.

Factor de crecimiento tipo insulínico -I

Las concentraciones de IGF-I fueron afectadas por la categoría y la condición corporal al parto; las vacas primíparas y vacas con una BCS <3 tuvieron menores niveles de IGF-I (Figura 8). Las curvas de IGF-I difirieron de acuerdo con la categoría (Cuadro 2); las vacas primíparas tuvieron una caída más abrupta que las multíparas, se mantuvieron bajas por más días y tendieron a recuperarse más rápido (Figura 8).

Las concentraciones más bajas fueron encontradas alrededor del día 22 postparto (concentración primíparas manecieron mayor tiempo disminuidos en vacas pri-

míparas (Figura 8). Hubo una interacción entre condición corporal al parto y días posparto (Tabla I): en las vacas con BCS al parto de ≥ 3 IGF-I cayó más abruptamente y se recuperó más rápido que las vacas < 3 BCS.

Leptina

La BCS al parto afectó los niveles de leptina (Cuadro 1) las concentraciones fueron más altas en vacas con alta condición corporal. Las concentraciones de leptina de las vacas primíparas tendieron a presentar una caída más abrupta que las vacas multíparas, $P=0.066$ (Figura 8, Cuadro 2). Un patrón similar se observó en vacas con BCS al parto de ≥ 3 frente a las de < 3 BCS ($P=0.073$). Las concentraciones de leptina en vacas primíparas y multíparas permanecieron bajas durante todo el período.

Los análisis de regresión entre la leptina y la BCS antes y luego del parto en las vacas con baja y alta condición corporal se muestran en la Figura 9. Mientras que la secreción de leptina estuvo consistentemente relacionada a la BCS durante todo el período experimental en vacas con BCS al parto de ≥ 3 , en vacas con < 3 BCS la leptina se relacionó con la BCS sólo antes del parto.

Correlaciones entre hormonas y metabolitos

Las hormonas tiroideas, IGF-I y leptina estuvieron correlacionadas con la condición corporal, la leptina presentó en nivel de correlación más alto ($r=0.8$, $P<0.001$). La producción de leche se asoció con T3 ($r=0.22$, $P<0.05$) y con una más alta significación con IGF-I ($r=0.26$, $P<0.01$). Todas las hormonas se correlacionaron negativamente con los NEFA y

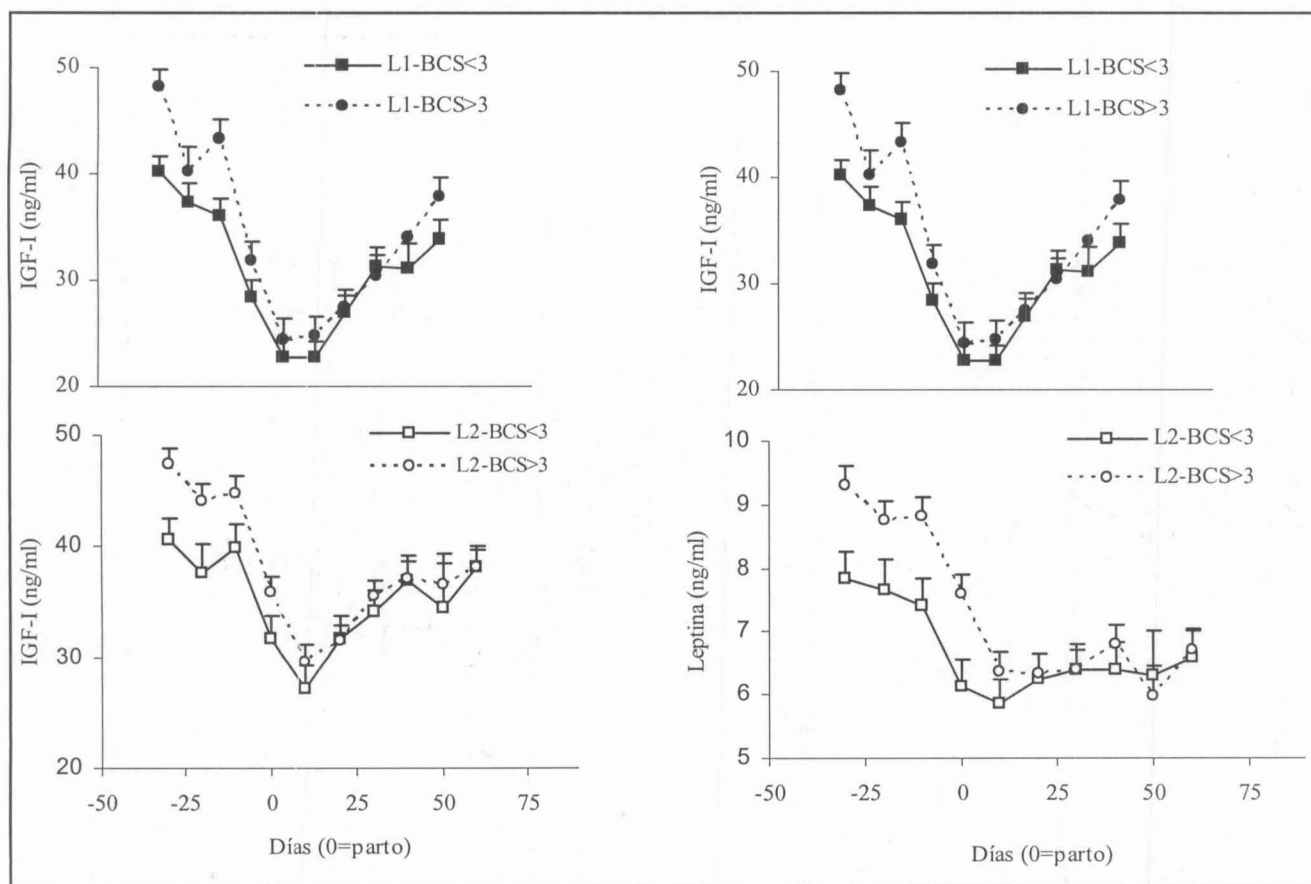


Figura 8. Niveles (promedio \pm SEM) de factor de crecimiento tipo insulínico I (IGF-I, panel izquierdo) y leptina (panel derecho) en vacas primíparas (L1) y multíparas (L2) vacas con condición corporal (BCS) al parto de < 3 ó ≥ 3 .

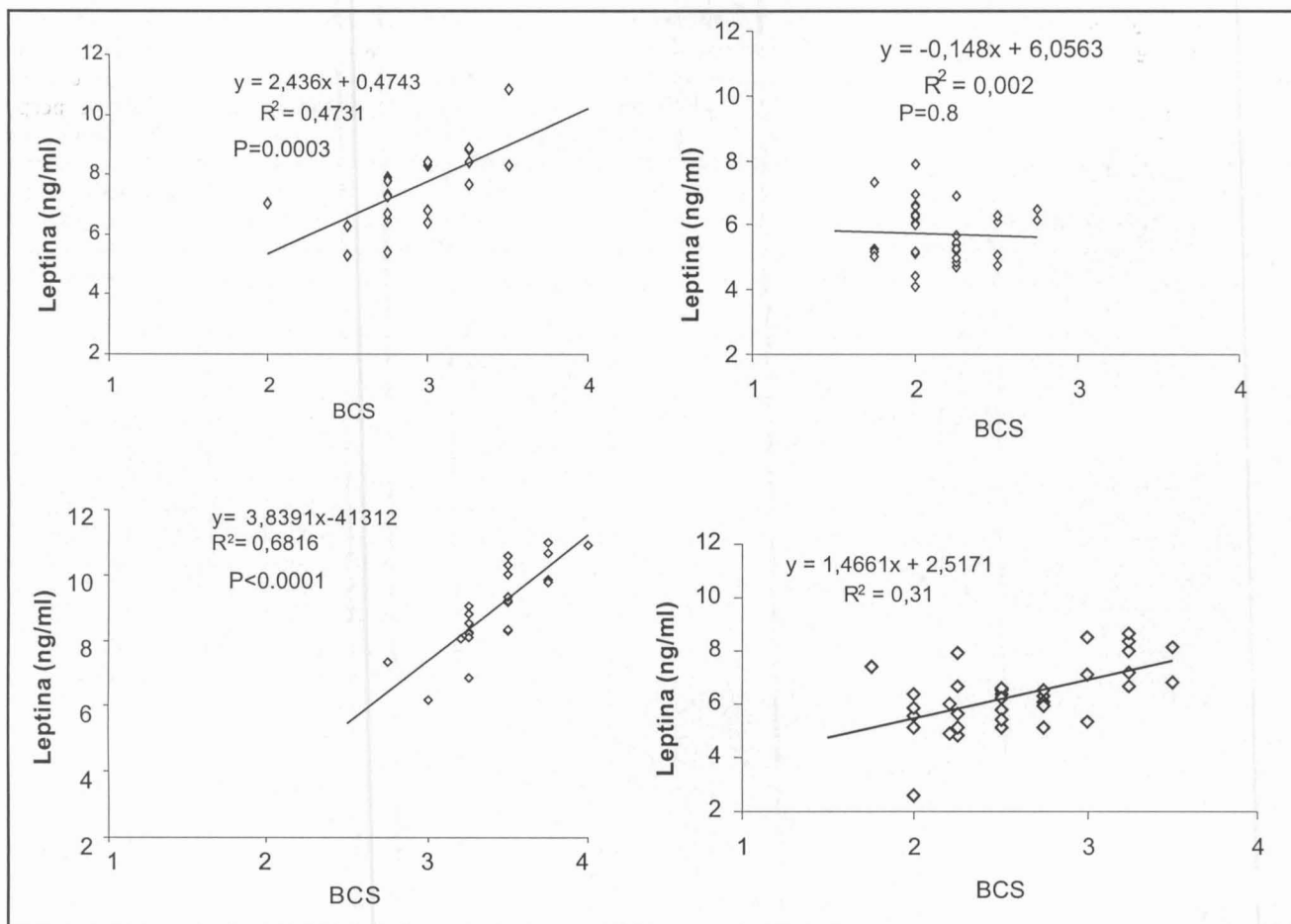


Figura 9. Relaciones entre los niveles plasmáticos de leptina y la condición corporal (BCS) en vacas lecheras con BCS al parto de <3 (paneles superiores) o BCS=3 (paneles inferiores) antes (paneles izquierdos) o después (paneles derechos) del parto.

BHB, siendo la IGF-I quien presentó el coeficiente de correlación más alto ($r = -0.7$ $P < 0.001$ y $r = -0.38$ $P < 0.001$ respectivamente). Todas las hormonas se correlacionaron entre sí; las que presentaron un coeficiente de correlación más alto fueron: T3 vs T4 ($r = 0.83$, $P < 0.001$) e IGF-I vs. leptina ($r = 0.7$ $P < 0.001$).

Parámetros reproductivos

Hubo un efecto de la categoría sobre el reinicio de la actividad ovárica y los intervalos parto-primer servicio y parto-concepción. La interacción entre BCS al parto y categoría fue significativa sólo para el reinicio de la ciclicidad ovárica

(Cuadro 3). El anestro posparto fue más largo en vacas primíparas que múltiparas 45 vs 21 días ($P < 0.0001$). Las vacas primíparas con BCS baja al parto presentaron intervalos parto-primer ovulación más largo que las primíparas con mejor BCS, pero esto no se observó para las vacas múltiparas.

Cuadro 3. Días (promedio \pm SEM) a la primera ovulación, intervalos parto primer servicio y parto concepción en vacas primíparas (L1) o múltiparas (L2) con condición corporal (BCS) al parto de <3 ó ≥ 3 .

| Categoría/BCS al parto | Primera ovulación | Parto -1 ^{er} servicio | Parto -concepción |
|---------------------------|-----------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| L 1 / BCS < 3 (n=12) | 52.8 ^a \pm 4.8 | 139.0 ^d \pm 11.8 | 143.0 ^{gh} \pm 13.0 |
| L 1 / BCS ≥ 3 (n= 9) | 37.4 ^b \pm 5.6 | 122.2 ^{de} \pm 12.8 | 149.4 ^g \pm 12.2 |
| L 2 / BCS < 3 (n= 8) | 19.0 ^c \pm 6.3 | 99.9 ^{ef} \pm 13.7 | 114.1 ^{hi} \pm 13.0 |
| L 2 / BCS ≥ 3 (n=13) | 23.0 ^e \pm 4.5 | 93.4 ^f \pm 10.0 | 104.0 ⁱ \pm 10.0 |

Valores con diferentes letras dentro de la misma columna difieren $P < 0.05$ excepto e vs f $P = 0.085$ y g vs h $P = 0.058$.

Globalmente, el intervalo parto a primer servicio fue de 131 y 97 días para vacas primíparas y múltíparas respectivamente ($P < 0.01$). Los intervalos parto-concepción fueron de 146 y 109 días para primíparas y múltíparas respectivamente ($P < 0.01$). Un hallazgo interesante fue que vacas múltíparas con baja condición al parto reiniciaron su ciclicidad ovárica antes que las vacas primíparas con mejor condición al parto (Cuadro 3). Esto se reflejó en el intervalo parto-concepción. La tasa de preñez al final de la estación reproductiva fue diferente en vacas primíparas y múltíparas (39% vs 85%, $P < 0.01$).

La condición corporal al parto, la condición durante el período experimental, insulina, leptina, BHB y las proteínas totales (todas con $P < 0.05$) y urea y T3 (con $P < 0.08$) fueron asociadas con el reinicio de la ciclicidad ovárica (análisis de regresión, $R^2 = 0.78$, $P = 0.0001$).

DISCUSIÓN

Las vacas lecheras se encuentran normalmente en balance energético negativo durante el período posparto temprano, ya que la cantidad de energía consumida es menor a la necesitada para la producción de leche (Chilliard, 1999). Esta es la situación de las vacas de este estudio, donde a pesar de que no medimos el balance energético, la condición corporal disminuyó desde los 30 días antes del parto y esta tendencia fue más abrupta durante las primeras 4 semanas luego del parto. Resultados similares fueron reportados en vacas lecheras sobre pastoreo controlado (Cavestany y col., 2001). Las vacas primíparas tuvieron menor BCS que las múltíparas, y esto es consistente con un mayor desequilibrio en los perfiles metabólicos en la categoría primíparas (ver abajo). Esto puede deberse a las necesidades aumentadas para el crecimiento en animales jóvenes simultáneamente con las demandas de la lactación y una menor capacidad de ingesta como fue descrito previamente (Remond y col., 1991). Las vacas con mejor condición corporal al parto (≥ 3) perdieron más condición en el primer mes de lactación, y los valores de BCS no se recuperaron a los niveles iniciales preparto durante el período experimental.

El aumento de NEFA antes del parto es el resultado de la disminución de la ingesta de material seca en este período y de los cambios hormonales que estimulan la movilización de NEFA del tejido adiposo para proveer energía para el parto y la lactogénesis (Vazquez-Añon y col., 1994; Grum y col. 1996). Los altos niveles de NEFA en primíparas indican que esta categoría movilizó más ácidos grasos de cadena larga del tejido adiposo que las múltíparas (Belyea y col. 1975). Esto es consistente con la pérdida más abrupta en la condición corporal en primíparas. Los niveles de NEFA durante el posparto se mantuvieron más altos por más tiempo que el reportado por otros (Holtenius y col. 2003), probablemente debido a un período de balance energético negativo más largo. Los niveles de BHB también reflejan la necesidad energética de los animales al comienzo de la lactancia como fue descrito previamente (Invgarten y Andersen, 2000, Moorby y col. 2000, Vazquez-Añon, 1994). No hubo un efecto de la categoría sobre las concentraciones de BHB, sin embargo las vacas primíparas presentaron mayor número de muestras por encima de 1 mM sugiriendo que esta categoría sufrió cetosis subclínica (Whitaker, 1999). Los bajos niveles de colesterol alrededor del parto pueden relacionarse con movilización grasa debido a la deficiencia de energía (Ghergariu y col., 1984). Por otro lado, un aumento de colesterol refleja un aumento en la ingesta lipídica (Belyea y col. 1975). Ambas posibilidades pueden estar presentes en este estudio.

Aunque las concentraciones de proteínas totales y la albúmina se mantuvieron dentro de los rangos normales para la especie (Kaneko, 1989), las vacas primíparas presentaron menores niveles lo que refleja un peor balance energético en esta categoría. La disminución simultánea en proteínas, globulinas y urea en los días antes del parto se asocia con una disminución en la ingesta descrita durante este período (Bauchart, 1993) y puede estar asociada al secuestro de globulinas por la ubre como mencionado por Kehrlí y col. (1989), al aumentar la producción de calostro. El aumento de los compuestos nitrogenados durante el período posparto puede relacionarse a la ingesta de material seca que aumenta luego

de este período (Manston y col. 1975). Se ha descrito que las concentraciones de albúmina son más altas durante el período preparto que durante el posparto (Whitaker y col. 1999) y que hay una disminución fisiológica de este metabolito antes del parto (Huzenzica y col. 2001). En nuestro estudio se registró un aumento en las concentraciones de albúmina aprox. 20 días antes del parto y no conocemos reportes similares a este hallazgo. El aumento de albúmina podría amortiguar la disminución de las globulinas y así mantener la presión oncótica plasmática. Los patrones de urea fueron diferentes para ambas categorías y no tenemos una explicación obvia para este hecho. Ruegg y col. (1992), Kappel y col. (1984) y Shaffer y col. (1981) obtuvieron las mismas diferencias no explicables entre primíparas y múltíparas. Por otro lado, Cisse y col. (1991) no encontraron diferencias de acuerdo a la categoría en las semanas 14 y 20 posparto, pero su experimento no se diseñó para observar diferencias durante el período posparto. La mayoría de los valores se encontraron dentro del rango de referencia, incluso teniendo en cuenta que las muestras fueron colectadas luego de la ingesta y por lo tanto podrían resultar en niveles más altos de este metabolito (Gustafsson y Palmquist, 1993). Los niveles de urea varían en relación con la nutrición: varían de acuerdo con el contenido proteico, la degradabilidad de la proteína, el nitrógeno no proteico y la energía de la dieta (Park y col., 2002). Como las muestras fueron tomadas luego de la ingesta de concentrados, se pueden esperar mayores variaciones individuales.

Se ha reportado que la patología hígado graso cursa con un aumento de la actividad de la enzima aspartato amino transferasa, conjuntamente con niveles aumentados de colesterol (Ropstad y col. 1989, Cornelius 1989). Hemos encontrado una correlación positiva entre esta enzima y el colesterol que apoyaría esta hipótesis. Además el aumento encontrado durante el posparto, posterior al aumento de los NEFA, sugiere un leve grado de disfunción hepática. Por otro lado, los niveles de esta enzima no fueron suficientemente altos como para confirmar la presencia de esta patología.

Las concentraciones de calcio, fósforo y magnesio mostraron mayores variaciones en vacas primíparas que en multíparas sugiriendo un mayor desequilibrio mineral en esta categoría. Se encontraron niveles más bajos de Mg la semana anterior al parto y a los 60 días posparto. Se han reportado que estos niveles más bajos alrededor del parto son frecuentes y se acompañan con niveles disminuidos de Ca (Capen y Rosol, 1989). En nuestro estudio los niveles de Ca aumentaron 10 días previos al parto, y este aumento se asoció con niveles aumentados de albúmina, ambos fuertemente correlacionados. Esto puede deberse al hecho de que una fracción del pool total de Ca esta unida a esta proteína por lo tanto depende parcialmente de su concentración (Goff 2000). No encontramos una explicación obvia para la disminución de Mg encontrada aproximadamente a los 60 días posparto. El aumento en las concentraciones de fósforo observado durante el posparto podría reflejar la resorción de calcio y fósforo del hueso para alcanzar las demandas de la producción láctea; el control hormonal estricto en las concentraciones sanguíneas del calcio resulta en el mantenimiento del mismo en rangos muy ajustados que se observan en este trabajo.

Los estudios que han investigado las señales metabólicas potenciales para el eje reproductivo se han concentrado principalmente en los metabolitos sanguíneos y las hormonas metabólicas que se saben fluctúan durante estados alterados del metabolismo energético. Se encontraron concentraciones de insulina disminuidas alrededor del parto de acuerdo con reportes previos (Holtenius y col. 2003). La insulina juega un rol central en el control homeostático y su concentración está relacionada positivamente con la ingesta de energía (Chilliard y col. 1998). La disminución es consistente con la reducción de la ingesta que caracteriza este período (Bertics y col. 1992). Tanto insulina como IGF-I estimulan el crecimiento folicular (Spicer y col. 1993), sin embargo en este estudio la insulina no parecería estar relacionada al reinicio de la ciclicidad ovárica, las concentraciones de insulina se recuperaron totalmente al día 30 posparto en ambas categorías y mientras que las vacas multíparas ovularon

antes de este período, las primíparas lo hicieron después.

Se encontraron niveles de hormonas tiroideas bajas alrededor del parto como descrito previamente (Heyden y col. 1993, Pethes y col. 1985). Eppinga y col. (1999) encontraron bajas concentraciones de hormonas tiroideas incluso luego de que los niveles de BHB y NEFA retornaron a las concentraciones normales; en este estudio la disminución de BHB y NEFA fue simultánea con los aumentos de T3 y T4. Las hormonas tiroideas - T3 siendo la más activa y potente- participan no solo en la termorregulación y homeostasis energética y proteica, sino que se han asociado con una eficiencia reproductiva baja en la vaca posparto (Huszenicza y col. 2002). En este estudio se encontraron concentraciones de T3 más bajas en primíparas en desacuerdo con Cisse y col. (1991) quienes sugirieron que las altas concentraciones de T3 en la primera lactancia podrían deberse a la menor producción de leche en esta categoría ya que las hormonas tiroideas son excretadas por la glándula mamaria. Por otro lado, un nivel menor T3 se asoció a un peor balance energético (Blum y col. 1983), que parecería ser el caso del presente estudio ya que las vacas primíparas presentaron comparativamente una mayor pérdida de condición corporal y una condición metabólica general más desbalanceada. Esto podría explicar la discrepancia aparente con el estudio de Cissé y col. (1991), en donde vaquillonas y vacas tuvieron balances energéticos similares.

Las concentraciones de IGF-I fueron afectadas por la categoría ya que las primíparas presentaron menores concentraciones. Esto contrasta con los hallazgos de Wathes y col. (2003) en los cuales las concentraciones de IGF-I fueron más altas en animales jóvenes. Como se sugirió que los bajos niveles de insulina e IGF-I son las señales metabólicas que retrasan la ovulación (Beam and Butler, 1999) y que las concentraciones de IGF-I fueron más altas en vacas primíparas, Taylor y col. (2003) sugirieron que en esta categoría -que todavía esta creciendo- las concentraciones de insulina serían las limitantes para la eficiencia reproductiva (en la vacas adulta IGF-I determinaría los parámetros reproductivos). Nuestros

resultados no apoyan esta hipótesis ya que las vacas primíparas presentaron concentraciones de IGF-I más bajas, valores similares de insulina y presentaron la ovulación más tarde respecto a las multíparas. Las vacas con mejor BCS al parto tuvieron concentraciones de IGF-I más altas y mejor eficiencia reproductiva de acuerdo con Roberts y col. (1997) que encontró que las concentraciones de IGF-I en el periparto eran buenos indicadores de la capacidad de comenzar la ciclicidad posparto en vacas con dietas con poca energía

Como se reportó previamente en rumiantes adultos no preñados y no lactantes (Chilliard y col. 1998, Delavaud y col. 2000, 2002) el contenido de leptina en este estudio fue un buen indicador de grasa corporal en vacas lecheras durante el periparto. De forma contraria, Holtenius y col. (2003) no encontraron relación entre las concentraciones de leptina y la condición corporal luego del parto y sugirieron que la leptina no está relacionada a la condición corporal en vacas posparto durante el postparto. En este estudio sólo vacas con baja condición corporal no mantuvieron una relación entre BCS y leptina, por lo que puede ser que se requiera de un mínimo de condición corporal para que la síntesis de leptina se correlacione con la condición. Por otro lado, las diferencias encontradas en vacas con alta condición corporal al parto y lo descrito por Holtenius y col. (2003) pueden deberse a los diferentes sistemas productivos y/o genética; por otro lado en nuestro estudio la determinación de leptina fue más frecuente y utilizando más animales. Las concentraciones de leptina comenzaron a disminuir 20 días previos al parto en concordancia con otros estudios (Kadokawa y col. 2000, Block y col. 2001, Liefers y col. 2003). Por otro lado, en el presente estudio, las concentraciones de leptina permanecieron bajas hasta los dos meses luego del parto y esto no esta de acuerdo con los reportes de aumento alrededor del día 10 posparto (Kadokawa y col. 2000), concentraciones estables hasta la semana 5 posparto (Huszenicza y col. 2001), o con el aumento transitorio a la semana 2 (Liefers y col. 2003), pero si son consistentes con las bajas concentraciones encontradas por Block

y col. (2001) y Holtenius y col. (2003). Estos reportes contradictorios podrían deberse a los diferentes sistemas de producción; se necesitan más estudios que clarifiquen el patrón de leptina durante el posparto.

El reinicio de la ciclicidad ovárica se retrasó en vacas primíparas y en primíparas con baja BCS al parto respecto a primíparas con alta BCS al parto, lo que se reflejó en intervalos parto-primer servicio y parto-concepción más largos. La duración del anestro se asoció con la pérdida de condición -que indica balances energéticos negativos severos- y fue mayor en in primíparas que en multíparas como ha sido reportado previamente (Butler y Smith 1989). Estos autores demostraron que cuanto antes las vacas recuperen su balance energético, antes van a comenzar a ciclar y a preñarse. Es interesante resaltar que las vacas multíparas con baja BCS al parto (< 3) reiniciaron su actividad cíclica antes que las vacas primíparas con alta BCS al parto (≥ 3) y esto puede deberse a los patrones de las señales endócrinas (ver abajo) o al balance energético negativo debido a la baja ingesta, a la curva de lactación ascendente y/o a los requerimientos energéticos para continuar el desarrollo en las vaquillonas. Todos estos parámetros se relacionan con una alta movilización de grasa (Verité y Chilliard, 1992), pérdida de condición (Rémond y col. 1991) y altos niveles de NEFA plasmáticos (Cissé y col. 1991) que fueron observados en las primíparas vs multíparas a pesar de que produjeron menos leche. En este estudio la categoría fue un efecto más importante sobre la eficiencia reproductiva que la condición corporal al parto; y debe tomarse en cuenta que estos animales se encontraban en condiciones pastoriles donde el efecto de dominancia por la disponibilidad de comida está presente (Grant y Albright, 2001).

La mayoría de los reportes - en sistemas de estabulación- coinciden en destacar la incidencia del factor tipo insulínico I (IGF-I) y la leptina como las señales endócrinas que informan al eje reproductivo respecto del balance energético y/o del nivel de reservas corporales (Roberts y col. 1997; Spicer 2001). En este estudio, las vacas primíparas presentaron

menores concentraciones de IGF-I y las vacas con BCS < 3 a parto tuvieron menos IGF-I y leptina, y estos animales también presentaron peores índices reproductivos. De forma similar, se encontró una relación negativa entre IGF-I durante el posparto y el intervalo de reinicio de la ciclicidad ovárica (Butler 2000). Los datos respecto leptina y eficiencia reproductiva son confusos. Las vacas con concentraciones de leptina más bajas presentaron un reinicio a la ciclicidad ovárica más tardío (Kadokawa y col. 2000, Huszenicza y col. 2001). Los datos presentados en este estudio no apoyan la teoría de que las concentraciones de leptina activan el eje hipotálamo-hipófisis-ovárico, ya que a diferencia de las otras hormonas, la leptina permaneció baja hasta el día 60 posparto. Por otro lado, no solo la concentración de la hormona y la sensibilidad del tejido a la misma (receptores) son importantes para el eje reproductivo, sino también la dinámica endócrina (por ejemplo, la caída de leptina -como la de IGF-I- fue más abrupta en vacas primíparas) puede ser leída por el sistema endócrino como una señal diferente.

Como ha sido reportado previamente (Bocquier y col. 1998; Clarke y Henry y col. 1999), nuestros resultados sugieren que la leptina tiene un rol permisivo sobre el eje reproductivo y consecuente reinicio a la actividad cíclica cuando aumenta por arriba de un nivel crítico en la vaca lechera posparto. Esto permitiría que vacas que están en mejor condición al parto tener niveles de leptina más altos en la lactación temprana y reiniciar su actividad reproductiva antes. Nuestros resultados sugieren que los niveles de IGF-I están más relacionados a la actividad ovárica. Las vacas multíparas comenzaron a recuperar los niveles de IGF-I antes que las primíparas y también reiniciaron su actividad reproductiva antes.

CONCLUSIONES

En este estudio se demostró que las vacas primíparas presentaron un perfil metabólico y endócrino más desbalanceado que las multíparas, reflejando que se están recuperando del balance energético negativo con mayor dificultad. Las

curvas de los metabolitos y las hormonas se asociaron con la evolución de la condición corporal, confirmando que la medida frecuente de la condición corporal es una buena herramienta para identificar vacas con riesgo a desórdenes metabólicos. Los cambios endócrinos y metabólicos en la vaca lechera posparto en condiciones pastoriles comparten en general características similares con los estudios en sistemas de estabulación, pero las diferencias descritas en este estudio podrían deberse al diferente tipo de sistema productivo.

IMPLICANCIAS Y PERSPECTIVAS

Este estudio mostró como variables productivas, metabólicas, endócrinas y reproductivas se encuentran relacionadas y como factores tales como la categoría y condición corporal al parto determinan el comportamiento de las mismas. El avance en conocimientos que integren aspectos productivos, reproductivos con los perfiles metabólicos y endócrinos podrá contribuir a una mejor comprensión del metabolismo animal en nuestras condiciones para identificar las limitantes de estos sistemas y poder desarrollar mejores estrategias de alimentación y manejo.

Si bien el potencial genético existente en la lechería en el sur de la región sudamericana es alto, la exigencia energética debida al pastoreo y la interacción pastura-animal podrían modificar de forma diferencial las grandes transformaciones que sufre la vaca lechera durante este período. La ingesta es el factor más importante en determinar la magnitud del balance energético negativo (Invgartsen y Andersen, 2000). Las vacas que consumen menos, producen menos leche y tienen peor desempeño reproductivo (Staples y col. 1990). Estudios de esta índole son esenciales si se tiene en cuenta que en términos generales los consumos de materia seca logrados en pastoreo son menores a los logrados en estabulación e insuficientes para sostener altas producciones de leche factibles de ser alcanzados con el potencial genético actualmente disponible en los sistemas lecheros de esta región.

La pérdida de condición corporal registrada previa al parto, resalta la importancia de un adecuado manejo de la vaca en transición (3 semanas antes a 3 semanas después del parto) y la necesidad de una adecuada alimentación preparto para preparar al animal a las necesidades de producción de leche luego del parto y para reducir la incidencia de patologías del periparto.

Este estudio ha demostrado la importancia de la categoría: las vacas primíparas se recuperan con menor éxito del balance energético negativo. La dominancia de las vacas adultas sobre las vaquillonas en la competencia por la oferta de alimentación generalmente no excesiva, tiene como consecuencia una alimentación insuficiente en cantidad y en calidad para esta

categoría. En la medida de las posibilidades de manejo de cada productor, un manejo diferencial de estas categorías (lotes) resultaría en un sistema más eficiente. Se destaca la necesidad de estudios sobre la importancia de este factor en la rentabilidad de la empresa agropecuaria.

Debido a que la industria láctea continúa seleccionando a aquellos animales con mayor potencial de producción de leche y proteínas, las vacas obtenidas a partir de esta presión de selección tendrán un mayor riesgo de padecer cetosis u otras enfermedades metabólicas asociadas a este período de transición y una menor eficiencia reproductiva (Duffield 2000, Butler y Smith 1989). Durante el período de transición de la vaca lechera las deficiencias y/o desequilibrios nutricio-

nales pueden originar desórdenes metabólicos y alteraciones clínicas y/o subclínicas. El uso de los perfiles metabólicos ha sido desarrollado para ayudar a los productores lecheros; en conjunto con el examen del animal, análisis de la composición de la leche, alimentación, medio ambiente y personal a cargo constituye una herramienta importante para una completa metodología de trabajo para el diagnóstico de los errores nutricionales. Contribuye en la información para la toma de decisión sobre la nutrición de una manera mas precisa, detallada y rápida que otras metodologías más convencionales. El perfil metabólico utilizado adecuadamente puede identificar que hay o no un problema y que es, esto permitirá al técnico en la búsqueda de la mejor solución económica del mismo.

Referencias Bibliográficas

Barton, BA.; Rosario, H.A.; Anderson, G.W.; Grindle, B.P.; Carroll, D.J.

(1996). Effects of dietary crude protein, breed, parity, and health status on the fertility of dairy cows. *J Dairy Sci.* Dec;79(12):2225-36.

Bauchart, D. (1993). Lipid absorption and transport in ruminants. *J Dairy Sci.*, 76: 3864-3881.

Bauman, D.E.; Currie, W.B. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci.*, 63:1514-1529.

Beam, S. W.; Butler, W. R. (1997) Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three concentrations of dietary fat. *Biol. Reprod.* 56, 133-142.

Beam, S. W.; Butler, W. R. (1998) Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J. Dairy Sci.* 81, 121-131.

Beam, S. W.; Butler, W. R. (1999) Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cow. *J. Reprod Fert. Suppl.* 54, 411-424.

Bertics, S.J.; Grummer, R.R., Cadoringa-Valino, Stoddard, E.E. (1992). Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J Dairy Sci* 75:1914.

Belyea, R.L.; Coppock, C.E.; Lake, G.B. (1975). Effects of silage diets on health, reproduction, and blood metabolites of dairy cattle. *J Dairy Sci.*, 58:1336-1346.

Block, S. S.; Butler, W. R.; Ehrhardt, R. A.; Bell, A. W.; Van Amburg, M. E.; Boisclair, Y. R. (2001) Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J. Endocrinology*, 171, 341-50.

Blum, J.W.; Kunz, P.; Leunberger, H.; Gautschi, K.; Keller, M. (1983). Thyroid hormones, blood plasma metabolites and haematological parameters in relationship to milk yield in dairy cows. *Anim Prod* 36:93-101.

Bocquier, F.; Bonnet, M.; Faulconnier, Y.; Guerre-Millo, M.; Martin, P.; Chilliard, Y. (1998). Effects of photoperiod and feeding level on perirenal adipose tissue metabolic activity and leptin synthesis in the ovariectomized ewe. *Reprod Nut Dev* 38: 489-498.

Butler, W. R. (2000) Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60, 449-457.

Butler, W. R.; Smith, R. D. (1989) Interrelationship between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72, 767-783.

Butler, W. R.; Everett, R. W.; Coppock, C. E. (1981) The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 53, 742-748.

Capen, C.C.; Rosol, T.J. (1989). Calcium-Regulating Hormones and Diseases of Abnormal Mineral (Calcium, Phosphorus, Magnesium) Metabolism. *In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Ed. Jiro Kaneko, Academic Press, 1989: 678.

Capuco, A.V.; Wood, D.L.; Elsasser, T.H.; Kahl, S.; Erdmann, R.A.; Van Tassell, C.P.; Lefcourt, A.; Piperova, L.S. (2001). Effect of somatotropin on thyroid hormones and cytokines in lactating dairy cows during ad libitum and restricted feed intake. *J Dairy Sci* 84: 2430-2439.

- Cavestany, D.M.; Galina, C.S.; Viñoles, C.** (2001). Efecto de las características del reinicio de la actividad ovárica posparto en la eficiencia reproductiva de vacas Holstein en pastoreo. *Arch Med Vet (Chile)*. XXXIII:217-226.
- Chilliard, Y.** (1999). Metabolic adaptations and nutrient partitioning in the lactating animal. *In: Biology of Lactation*. Martinet J, Houdebine LM, Head HH (Eds). Inserm/INRA, Paris. 20: 503-552.
- Chilliard, Y.; Bocquier, F.; Doreau, M.** (1998). Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition and consequences on reproduction. *Reprod Nutr Dev* 38, 131-152.
- Cissé, M.; Chilliard, Y.; Coxam, V.; Davicco, M.J.; Remond, B.** (1991). Slow release somatotropin in dairy heifers and cows fed two concentrations of energy concentrate. 2. Plasma Hormones and Metabolites. *J Dairy Sci* 74: 1382-1394.
- Clarke I.J.; Henry, B.A.** (1999). Leptin and reproduction. *Reviews of Reproduction* 4:48-55.
- Cervantes, A.; Smith, T.R.; Young, J.W.** (1996). Effects of nicotinamides on milk composition and production in dairy cows fed supplemental fat. *J Dairy Sci*. 79:105-113.
- Cornelius, C.C.** (1989). Liver Function. *In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Ed. Jiro Kaneko, Academic Press. 364.
- Cotlove, E.; Harris, E.K.; Williams, G.Z.** (1970). Biological and analytical components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. 3: Physiological and Medical implications. *Clin. Chem.* 16: 1028-1032.
- Delavaud, C.; Ferlay, A.; Faulconnier, Y.; Bocquier, F.; Kann, G.; Chilliard, Y.** (2002). Plasma leptin concentration in adult cattle: effects of breed, adiposity, feeding level and meal intake. *J. Anim. Sci.*, 80. 1317-1328.
- Delavaud, C.; Bocquier, F.; Chilliard, Y.; Keisler, D. H.; Gertler, A.; Kann, G.** (2000). Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentrations assessed by a specific RIA in sheep. *J. Endocrinology*, 165, 519-526.
- Drackley, J.K.** (1999). Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J Dairy Sci*. 82: 2259-2273.
- Duffield, T.** (2000). Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. Jul;16 (2):231-253.
- Edmonson, A.J.; Lean, I.J.** (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci*. 72:68-78.
- Elrod, C.C.; Butler, W.R.** (1993). Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J Anim Sci*. Mar;71(3):694-701.
- Ghegariu, S.; Rowlands, G.J.; Pop, A.; Danielescu, N.; Moldovan, N.A.** (1984). A comparative study of metabolic profiles obtained in dairy herds in Romania. *Br Vet J* 140:600-608.
- Goff, J.P.** (2000). Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 16:319-337.
- Grant, R.J.; Albright, J.L.** (2001). Effect of animal grouping on feeding behavior and intake of dairy cattle. Joint ADSA-ASAS Annual Meeting. *J Dairy Sci* 84: Elect. Supplement, E156-E163.
- Gustafsson, A.H.; Palmquist, D.L.** (1993). Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. *J Dairy Sci* 1993, 76: 475-484.
- Grum, D.E.; Drackley, J.K.; Younker, R.S.; LaCount, D.W.; Veenhuizen, J.J.** (1996). Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of peripartum dairy cows. *J Dairy Sci* 1996; 79:1850-1864.
- Haydock, K.P.; Shaw, N.H.** (1975). The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 15:663-670.
- Heyden, J. M.; Williams, J. E.; Collier, J. J.** (1993) Plasma growth hormone, insulin-like growth factor, insulin, and thyroid hormone association with body protein and fat accretion in steers undergoing compensatory gain after dietary energy restriction. *J. Anim. Sci.* 71, 3327-3338.
- Holtenius, K.; Agenas, S.; Delavaud, C.; Chilliard, Y.** (2003). Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J Dairy Sci*. 86:883-891.
- Huszenicza, G.; Kulcsar, M.; Rudas, P.** (2002). Clinical endocrinology of thyroid gland function in ruminants. *Vet Med-Czech* 47, 7:199-210.
- Huszenicza, G.; Kulcsar, M.; Nikolic, J. A.; Schmidt, J.; Korodi, P.; Katai, L.; Dieleman, S.; Ribiczei-Szabo, P.; Rudas, P.** (2001) Plasma leptin concentration and its interrelation with some blood metabolites, metabolic hormones and the resumption of cyclic ovarian function in postpartum dairy cows supplemented with Monensin or inert fat in feed. *In: Diskin, M.G. (ed.): Fertility in the high-producing dairy cow*. British Society of Animal Science, Edinburgh, Occasional publications, No. 26 Vol. 2., pp. 405-409.
- Ingvarstsen, K.L.; Andersen, J.B.** (2000). Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *J Dairy Sci*. 83:1573-1597.
- Kadokawa, H.; Blache, D.; Yamada, Y.; Martin, G. B.** (2000) Relationships between changes in plasma concentrations of leptin before and after parturition and the timing of first post-partum ovulation in high-producing Holstein dairy cows. *Reprod. Fertil. Dev.*, 12, 405-411.
- Kaneko J.** (1989). Carbohydrate Metabolism and Its Diseases. *In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Ed. Jiro Kaneko, Academic Press. 44-85.
- Kaneko J.** (1989). Serum Proteins and Disproteinemias. *In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Ed. Jiro Kaneko, Academic Press. 142.

- Kappel, L.C.; Ingraham, R.H.; Morgan, E.B.; Zeringue, L.; Wilson, D.; Babcock, D.K.** (1984). Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows. *Am J Vet Res.* 45: 2607-2612.
- Liefers, S.C.; Veerkamp, R.F.; te Pas M.F.W.; Delavaud, C.; Chilliard, Y.; van der Lende, T.** (2003) Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight, and estrus in dairy cows. *J Dairy Sci* 86:799-807.
- Lucy, M.C.** (2001) Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci* 84: 1277-1293.
- Manston, R.; Russell, A.M.; Dew, S.M.; Payne, J.M.** (1975). The influence of dietary protein upon blood composition in dairy cows. *Vet Rec.* 96: 497-502.
- Moorby, J.M.; Dewhurst, R.J.; Tweed, J.K.S.; Dhanoa, M.S.; Beck, N.F.G.** (2000). Effects of altering the energy and protein supply on dairy cows during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J Dairy Sci.* 83:1795-1805.
- Nikolic, J.A.; Ratkovic, M.; Nedic, O.** (1996). Determination of insulin-like growth factor-I by radioimmunoassay. *J Serb Chem Soc* 61(12) 1149-1157.
- Park, A.F.; Shirley, J.E.; Titgemeyer, E.C.; Meyer, M.J.; VanBaale, M.J.; VandeHaar, M.J.** (2002). Effect of protein level in prepartum diets on metabolism and performance of dairy cows. *J Dairy Sci.* 85:1815-1828.
- Pethes, G.; Bokori, J.; Rudas, P.; Frenyo, V. L.; Fekete, S.** (1985) Thyroxine, triiodothyronine, reverse-triiodothyronine, and other physiological characteristics of periparturient cows fed restricted energy. *J. Dairy Sci.* 68,1148-1154.
- Rémond, B.; Cisse, M.; Ollie, r A.; Chilliard, Y.** (1991). Slow release somatotropin in dairy heifers and cows fed two levels of energy concentrate. *J Dairy Sci* 74:1370-1381.
- Roberts, A. J.; Nugent, R. A.; Klindt, J.; Jenkins, T. G.** (1997) Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *J. Anim. Sci.* 75, 1909-1917.
- Ropstad, E.; Halse, K.; Refsdal, A.O.** (1989). Variations in parameters of liver function and plasma progesterone related to underfeeding and ketosis in a dairy herd. *Acta Vet Scand.* 30:185-197.
- Ruegg, P.L.; Goodger, W.J.; Holmberg, C.A.; Weaver, L.D.; Huffman, E.M.** (1992). Relation among body condition score, milk production, and serum urea nitrogen and cholesterol concentrations in high-producing Holstein dairy cows in early lactation. *Am J Vet Res.* 53,1: 5-9.
- Shaffer, L.; Roussel, J.D.; Koonce, K.L.** (1981). Effects of age, temperature, season, and breed on blood characteristics of dairy cattle. *J Dairy Sci.* 64:62-70.
- Spicer, L. J.** (2001) Leptin: a possible metabolic signal affecting reproduction. *Dom. Anim. Endocr.* 21, 251-270.
- Spicer, L. J.; Alpizar, E.; Echterkamp, S. E.** (1993) Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and (or) insulin-like growth factor I production in vitro. *J. Anim. Sci.* 71, 1232-1241.
- Spicer, L. J.; Enright, W. J.; Murphy, M. G.; Roche, J. F.** (1991) Effects of dietary intake on concentrations of insulin-like growth factor-I in plasma and follicular fluid, and ovarian function in heifers. *Dom. Anim. Endocr.* 8, 431-437.
- Spicer, L. J.; Tucker, W. B.; Adams, G. D.** (1990) Insulin-like growth factors in dairy cows: relationship among energy balance, body condition, ovarian activity and estrous behavior. *J. Dairy Sci.* 73, 929-937.
- Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. Staples CR, Thatcher WW, Clark JH. *J Dairy Sci.* 1990 Apr;73(4):938-947.
- Tamminga, S.; Luteijn, P.A.; Meijer, R.G.M.** (1997). Changes in composition and energy content of liveweight loss in dairy cows with time after parturition. *Livest. Prod. Sci* 52, 31-39.
- Taylor, V.J.; Beever, D.E.; Bryant, M.J.; Wathes, D.C.** (2003). Metabolic profiles and progesterone cycles in first lactation dairy cows. *Theriogenology* 59: 1661-1677.
- Tonks ,D.B.** (1963). A study of the accuracy and precision of clinical chemistry determinations in 170 Canadian Laboratories. *Clin. Chem.* 9: 217-233
- Vazquez-Añon, M.; Bertic, S.; Luck, M.; Grummer, R.R.** (1994). Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *J Dairy Sci.* 77:1521-10528.
- Verité, R.; Chilliard, Y.** (1992) Effect of age of dairy cows on body composition changes throughout the lactation cycle as measured with deuteriated water. (1992). *Ann Zootech* 41:118.
- Wathes, D.C.; Taylor,V.J.; Cheng, Z.; Mann, G.E.** (2003). Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reproduction Supplement* 61: 1-19.
- Whitaker, D.A.; Goodger, W.J.; Garcia, M.; Perera, B.M.A.O.; Wittwer, F.** (1999). Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms. *Prev Vet Med.* 38:119-131.
- Wittwer, F.; Bohmwald, H.; Contreras, P.; Phil, M.; Filoza, J.** Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos en rebaños lecheros en Chile. *Arch Med Vet (Chile)* 19; 35-45.