

Biosalud

REVISTA CIENCIAS BASICAS

biosalud	Manizales	(Colombia)	Vol. 11	No. 1	110 p.	enero - junio	2012	ISSN 1657-9550
----------	-----------	------------	---------	-------	--------	---------------	------	----------------

Biosalud

REVISTA CIENCIAS BÁSICAS



Revista Biosalud

ISSN 1657-9550

Fundada en 2002

Nueva Periodicidad Semestral

Tiraje 300 ejemplares

Volumen 11, No. 1, 110 p.

enero - junio, 2012

Manizales - Colombia.

Rector

Universidad de Caldas

Ricardo Gómez Giraldo

Vicerrectora Académica

Luz Amalia Ríos Vásquez

Vicerrector de Investigaciones y Postgrados

Carlos Emilio García Duque

Vicerrector Administrativo

Fabio Hernando Arias Orozco

Vicerrectora de Proyección

Fanny Osorio Giraldo

REVISTA BIOSALUD

Es una publicación de carácter científico del Grupo de Investigación BIOSALUD, adscrito al Departamento de Ciencias Básicas de la Salud de la Facultad de Ciencias para la Salud. Su misión es la publicación de artículos originales producto de proyectos de investigación, artículos de reflexión, de revisión y reportes de caso sobre diversos temas de salud humana tanto en ciencias básicas como clínicas. La revista va dirigida a la comunidad científica nacional e internacional que investiga sobre los temas antes relacionados, a los profesionales y estudiantes de pre y postgrado en diferentes áreas de la salud humana.

Indexada en: Latin American and Caribbean Health Science-LILACS, Índice Nacional de Publicaciones Seriadas Científicas y Tecnológicas Colombianas (Publindex-Categoría B).

Comité técnico:

Juan David Giraldo Márquez

Coordinador comité técnico

Raúl Andrés Jaramillo E.

Corrector de estilo

Silvia L. Spaggiari

Traductora

Juan David López González

Diagramación

Carlos Eduardo Tavera Pinzón

Soporte Tecnológico

Acceso en Línea:

<http://biosalud.ucaldas.edu.co>

Ventas, Suscripciones y Canjes:

Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados

Universidad de Caldas - Sede Central

Calle 65 No. 26 - 10

Apartado Aéreo: 275

Teléfono: (+6) 8781500 ext. 12222

E-mail: labmicro@ucaldas.edu.co

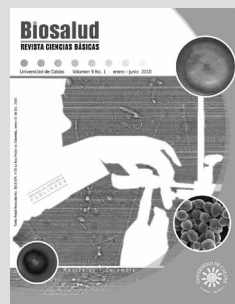
revistascientificas@ucaldas.edu.co

Manizales - Colombia

Editado por:

Universidad de Caldas

Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados



DIRECTOR

Jorge Enrique Pérez Cárdenas, Bacteriólogo MSc. Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Universidad de Caldas.

COMITÉ EDITORIAL

Luís Fernando Uribe Vásquez, Médico Veterinario y Zootecnista PhD. Departamento de Salud Animal. Universidad de Caldas.

Rogelio Ocampo Cardona, Licenciado en Biología y Química, PhD. Departamento de Química. Universidad de Caldas.

Juan Carlos Sepúlveda Arias, Médico, PhD. Facultad de Medicina. Universidad Tecnológica de Pereira.

Fernando Delgado Blandón, Licenciado en Biología y Química, PhD. Universidad Católica de Manizales.

Pablo Moreno Acosta, Microbiólogo, PhD, Instituto Nacional de cancerología.

Gustavo Isaza Mejía, Miembro de la sala especializada de medicamentos y productos biológicos-comisión revisora. Instituto nacional de vigilancia de medicamento y alimentos (invima)-colombia

Carlos Alonso Polo Galíndez, Médico Veterinario Zootecnista-PhD. Toxicología. Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas.

Piedad Matilde Agudelo Flórez, Bióloga, PhD, Investigadora Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Universidad CES.

COMITÉ INTERNACIONAL

Mario Herrera-Marschitz MD, PhD Department of Physiology and Pharmacology. Karolinska Institute. Stockholm, Sweden.

Gustavo Zuccolilli, PhD. Instituto de Anatomía, Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP, La Plata, Argentina.

Alejandro Vélez H.MD. Patólogo, Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín.

Dr. Sócrates Herrera, Médico, Director del Centro Internacional de Vacunas, Centro de Investigaciones Científicas Cauceseco.

Josep Balart Serra MD, Ph.D. Jefe Laboratorio de Radiobiología Aplicada Laboratorio de Investigación Translacional (IDIBELL) Instituto Catalan de Oncología

TABLA DE CONTENIDO

EDITORIAL

- Los indicios de reemergencia de la tos ferina en Colombia, requieren de medidas de prevención más efectivas 5
Jorge Enrique Pérez Cárdenas

ARTÍCULOS ORIGINALES

- Efecto del resverator sobre parámetros reproductivos en ratas tratadas con ACTH exógena 9
Miryam Vélez Marín, Luis Fernando Uribe Velásquez, Henry Mesa
- Comparación de dos técnicas como herramienta diagnóstica de la deficiencia de carnitina acilcarnitina translocasa 17
José Henry Osorio
- Comparación de perfil lipídico por sexo y edad en bovinos 25
José Henry Osorio, Jazmín Vinazco, Jorge Enrique Pérez
- Respuesta celular producida por una infusión de *Bursera* sp 34
Carlos Hernando Parga Lozano, Lizeth María Guardo Pereira, Marlón David Acuña Arrieta

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- Hormonas reproductivas de importancia veterinaria en hembras domésticas rumiantes 41
Jackeline Franco, Luis Fernando Uribe Velásquez
- Actualización en el funcionamiento de la glándula tiroides en el gato doméstico. Segunda parte: hipertiroidismo felino 57
José Henry Osorio, Stefania Matheus
- Estrategias para mejorar la condición corporal postparto en vacas de carne 71
David Giraldo Arana, Luis Fernando Uribe Velásquez

NORMAS EDITORIALES 90

TABLE OF CONTENTS

EDITORIAL

- The reemergence signs of pertussis in Colombia, require of more effective prevention measures 5
Jorge Enrique Pérez Cárdenas

ORIGINAL ARTICLES

- Resverator effect on reproductive parameters in rats treated with ACTH exogenous 9
miryam Vélez Marín, Luis Fernando Uribe Velásquez, Henry Mesa
- Comparison of two techniques as carnitine acylcarnitine translocase deficiency diagnosis tools 17
José Henry Osorio
- Comparison of lipid profile by sex and age in cattle 25
José Henry Osorio, Jazmín Vinazco, Jorge Enrique Pérez
- Cellular response produced by a *Bursera* sp infusion 34
carlos Hernando Parga Lozano, Lizeth María Guardo Pereira, Marlòn David Acuña Arrieta

REVISION ARTICLES

- Reproductive hormones of veterinary importance in domestic ruminant females 41
Jackeline Franco, Luis Fernando Uribe Velásquez
- Update in domestic cat thyroid gland functioning. Second part: feline hyperthyroidism 57
José Henry Osorio, Stefania Matheus
- Strategies for improve postpartum body condition in beef cows 71
David Giraldo Arana, Luis Fernando Uribe Velásquez

AUTHOR GUIDELINES

90

EDITORIAL

LOS INDICIOS DE REEMERGENCIA DE LA TOS FERINA EN COLOMBIA, REQUIEREN DE MEDIDAS DE PREVENCIÓN MÁS EFECTIVAS

Hasta mediados del siglo pasado, la tos ferina se consideraba como una de las enfermedades infecciosas que causaba una mayor mortalidad, predominantemente, en niños menores a un año de edad. Desde 1940, la incidencia de dicha enfermedad, empezó a disminuir drásticamente, gracias a la implementación de campañas de vacunación contra la bacteria *Bordetella pertussis*; esta tendencia se mantuvo, hasta 1990, año a partir del cual se ha encontrado un aumento sostenido de la enfermedad, a nivel mundial.

Colombia, no es ajena a esta situación; en este año, se han reportado 5815 casos compatibles con la tos ferina, de los cuales se han confirmado 1261, que podrían corresponder con un aumento considerable, si se miran las estadísticas de años anteriores (1); lo más llamativo de estas estadísticas, es que gran parte de los casos compatibles (67 %), se han presentado en Bogotá y en Antioquia.

Con base en lo anterior, Bogotá y Antioquia en el año 2011, fueron los responsables del 64 % de los casos confirmados durante ese año (2). Dentro de los factores que contribuyen al aumento en la frecuencia de esta enfermedad, encontramos varios importantes: el primero, es la baja cobertura en vacunación; sobre este aspecto, hay que decir, que Colombia reporta altas coberturas de vacunación frente a la tos ferina y la eficacia de dicha cobertura, se demuestra al encontrar bajos porcentajes de la enfermedad, en la población mayor a un año de edad.

Sin embargo, en nuestro país la frecuencia de casos comúnmente se asocia, con los menores a un año de edad; en lo que va corrido del 2012, el 64,4 % de los casos confirmados, corresponden a este grupo (1), mientras que, en el año 2011, la frecuencia promedio fue del 84 % (2); la mayor proporción de enfermos se presentó entre los 0 y los 3 meses de edad (2).

Este hallazgo es compatible con el esquema de vacunación propuesto para esta enfermedad, que empieza a los dos meses de edad, pero además, es un indicador importante, que muestra como la ausencia de vacunación, es un factor de riesgo para la adquisición de la enfermedad, debido a que las cifras determinan como en los primeros treinta días de edad, al 99,7 % de los niños, no se les ha aplicado la vacuna pentavalente y tan solo, entre los 2 a 3 meses de edad, al 44 % ya ha sido aplicada la primera dosis de este biológico (2).

Segundo, a pesar de tener una alta cobertura, ésta no llega a ser del 100 %, lo que implica, que hay personas que son trasmisores de *Bordetella*, ya sea que tengan o no sintomatología, encontrándose que puede haber transmisión del microorganismo hasta 6 semanas después de que los síntomas hayan desaparecido, especialmente, cuando no hay un tratamiento específico; se ha demostrado como los adultos y especialmente los padres, son una fuente importante del microorganismo; este factor, no solo se asocia con la ausencia de personas no inmunizadas, sino que también, se ha relacionado con la disminución de la inmunidad en las personas, debido a: un protocolo de vacunación incompleto, a la ausencia de revacunación (3) o a la baja capacidad de generación de buena memoria inmunológica, asociada con el tipo de vacuna; en Colombia, por ejemplo, tan solo se colocan refuerzos de esta vacuna, hasta los 5 años de edad.

Un tercer factor que influencia la epidemiología de la enfermedad, es la variabilidad antigénica de *Bordetella*; se han encontrado cepas que han variado la antigenicidad de la toxina *pertussis* y de la pertactina; los cambios conformacionales en esta última molécula, generan una baja inmunidad y un aumento de la tasa de infecciones (3); para el caso colombiano, es aparente, que en las cepas nativas de nuestro país, no se han producido estas variaciones antigénicas, debido a que las evidencias, muestran una baja frecuencia en personas potencialmente vacunadas.

Un cuarto factor, no descrito totalmente, pero que presenta evidencias de su impacto, es el cambio climático; el país acaba de pasar por un periodo invernal bastante fuerte, que puede haber contribuido en el aumento de las tasas de infección asociadas con este microorganismo; este factor, será más acentuado en los años venideros y por tanto, se requieren medidas de prevención, que verdaderamente forjen un cambio en el comportamiento epidemiológico de la tos ferina.

Por estas razones, es necesario que las autoridades que dirigen las políticas públicas en materia de salud de nuestro país, empiecen a fomentar medidas que contribuyan a la disminución de la prevalencia de la enfermedad.

La mejor manera de prevenir la enfermedad es evitándola y esto se logra, incrementando el plan de inmunización, frente a la enfermedad. Al ser los niños menores de un año y en especial, aquellos menores de dos meses, los más susceptibles a la infección y los que tienen, un mayor riesgo de morir a causa de las complicaciones de la misma, por tal motivo, es necesario empezar la vacunación de este grupo poblacional, desde el momento de su nacimiento, no obstante, es cierto que existen riesgos, como por ejemplo: la presencia de anticuerpos maternos, que neutralicen el efecto de la vacuna, así como también, la probabilidad de que no se genere una buena respuesta inmune.

Otra alternativa, sería la vacunación a madres gestantes en los primeros meses de embarazo para que así, origine un estado hiperinmune, que permita el paso de anticuerpos maternos al bebé, propiciando de esta manera, una protección frente al agente infeccioso; esta alternativa, ha mostrado buenos resultados para prevenir el tétanos neonatal.

Para disminuir la concentración de cepas circulantes y la presencia de portadores de *Bordetella*, se puede ampliar el esquema de vacunación a nivel nacional, de modo que hayan refuerzos de la vacuna, durante la adolescencia e incluso, durante la vida adulta; todos estos mecanismos, los cuales han sido propuestos en otros países, deben llevarse a cabo rápidamente, antes de que esta infección, que es un problema de salud pública, el cual afecta principalmente, a 4 o 5 entidades territoriales, se vuelva generalizado y llegue a otros departamentos con más población vulnerable, aumentando las estadísticas de mortalidad que generan un mayor impacto, especialmente, en las asociadas con la mortalidad infantil.

BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Salud. Tos ferina. Boletín epidemiológico Nacional, 2012. Semana epidemiológica 27, 2012. p. 5-6.
2. Ulloa V. AP. Informe de vigilancia de tos ferina, periodo epidemiológico XIII del 2011. [Fecha de acceso: 26 de julio de 2012] Disponible en URL: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/investigacion/Publicaciones%20subdireccin%20Vigilancia/Tos%20ferina.pdf>.
3. Wood N, McIntyre P. Pertussis: Review of epidemiology, diagnosis, management and prevention. Paediatric Respiratory Reviews, 2008. 9:201-212.

JORGE ENRIQUE PÉREZ CÁRDENAS
Director Revista BIOSALUD
Departamento de Ciencias Básicas
Facultad de Ciencias para la Salud
Universidad de Caldas



**ARTÍCULOS
ORIGINALES**

EFFECTO DEL RESVERASOR SOBRE PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN RATAS TRATADAS CON ACTH EXÓGENA

Miryam Vélez Marín¹
Luis Fernando Uribe Velásquez²
Henry Mesa³

RESUMEN

El estrés es definido como *“la acción de estímulos nerviosos y emocionales provocados por el ambiente sobre los sistemas nervioso, endocrino, circulatorio y digestivo de un animal, produciendo cambios medibles en los niveles funcionales de estos sistemas”* (1). El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto antioxidante del resverasor, a través de la actividad enzimática de la superóxido dismutasa (SOD) en los eritrocitos de rata, y relacionarlo con los parámetros reproductivos, número de cuerpos lúteos (CL) y supervivencia posimplante (SP). Se utilizaron 48 ratas hembras y 16 machos de la cepa Wistar de tres meses de edad, que permanecieron bajo condiciones ambientales controladas, temperatura 20±2°C, ciclos de luz-oscuridad de 14 y 10 horas, respectivamente. A los animales se les proporcionó alimento balanceado con libre acceso al agua. Las ratas fueron divididas en cuatro grupos al azar: el grupo 1 fue tratado con 5 µg/kg de ACTH i.p. cada 12 horas; un segundo grupo recibió el mismo tratamiento con ACTH, además de una suplementación oral de 40 mg/kg de extracto de uva; un tercer grupo solo recibió extracto de uva, y el último grupo sirvió como control, el cual recibió solución salina i.p. y oral. El diseño experimental fue un factorial 2×2, con dos niveles de ACTH y dos niveles de extracto de uva. Al

final del experimento se sacrificaron las ratas hembras y se les extrajo el tracto reproductivo para determinar el número de CL y de fetos. Se observó que la dosis utilizada del resverasor no afectó la actividad SOD eritrocitaria y el desempeño reproductivo, medido en función de número de CL y supervivencia posimplante en ratas tratadas con ACTH y uva. Esto indica que, posiblemente, las ratas se adaptaron al estrés crónico y, en consecuencia, al estrés oxidativo.

Palabras clave: CL, estrés, rata, reproducción, resverasor, SOD.

RESVERASOR EFFECT ON REPRODUCTIVE PARAMETERS IN RATS TREATED WITH ACTH EXOGENOUS

ABSTRACT

Stress is defined as *“the action of nervous and emotional stimuli provoked by the environment on the nervous, endocrine, circulatory and digestive systems of an animal, producing measurable changes on the functional levels of these systems”* (1). The goal of this work was to determine the resverasor antioxidant effect through the superoxide dismutase (SOD) enzymatic activity

¹ MSc. Profesora Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Caldas, Manizales. Correo electrónico: miryam.velez@ucaldas.edu.co

² Ph.D. Profesor Asociado Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales. Correo electrónico: lfuribe@ucaldas.edu.co

³ Ph.D.. Profesor Departamento Producción Agropecuaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales. Correo electrónico: henry.mesa@ucaldas.edu.co

in the rat's erythrocyte, and to correlate it with the reproductive parameters, number of corpora lutea (CL). and postimplantation survival (PS). Forty-eight female and 16 male three months old rats of the Wistar strain, were used, kept in a controlled environment, $20\pm 2^\circ\text{C}$ temperature and light-dark cycles of 14 and 10 h, respectively. The animals were fed a balanced diet and they had free access to water. Rats were divided in four groups at random: group 1 was treated with 5 ACTH i.p. $\mu\text{g}/\text{kg}$ every 12 h; group 2 received the same ACTH treatment plus a 40 mg/kg oral grape extract supplement; group 3 received only the grape extract, and the last group served as control group and received oral i.p saline solution

. The experimental design was 2×2 factorial, with two ACTH levels and two grape extract levels. At the end of the experiment female rats were sacrificed to extract the reproductive tract and determine the number of CL and fetuses. It was observed that the resverator dose used did not affect erythrocyte SOD activity or reproductive performance measured in terms of CL and PS in rats treated with ACTH and grapes. This indicates that, possibly, rats adapted to chronic stress, and in consequence, to oxidative stress.

Key words: corpus luteum, rat, reproduction, resverator, SOD, stress.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha expresado cada vez más una preocupación mundial frente al bienestar de los animales domésticos, debido a la aplicación de tecnologías productivas, que se pueden convertir en factores que producen estrés y provocar un detrimento de la calidad de vida y productividad de los mismos. Factores tales como el clima, el medio ambiente cambiante, el ruido, la alta densidad animal, entre otros, son causantes de estrés y ocasionan problemas en la reproducción (2).

El término estrés fue acuñado por Hans Selye (1), quien descubrió los estímulos que podían provocar esta condición. Este autor definió el estrés como *"la acción de estímulos nerviosos y emocionales provocados por el ambiente sobre los sistemas nervioso, endocrino, circulatorio y digestivo de un animal, produciendo cambios medibles en los niveles funcionales de estos sistemas"*. El estrés inducido retrasa el desarrollo folicular y la ovulación, lo cual puede estar relacionado con el efecto inhibitorio directo de los glucocorticoides sobre la secreción de esteroides gonadales y la sensibilidad del tejido diana a los esteroides sexuales (3). El estrés desencadena alteraciones agudas y crónicas en las concentraciones plasmáticas de cortisol y hormonas tiroideas; además, puede acarrear

alteraciones en las reacciones fisiológicas y en el comportamiento de los animales (4).

Se ha demostrado también que los glucocorticoides pueden reducir la inflamación a través de la inhibición de la fosfolipasa A2 y la ciclooxigenasa-2 (COX-2), mecanismos moleculares implicados en la regulación de la biosíntesis de prostaglandinas (5). En el tejido endometrial la COX-2, también conocida como prostaglandina G/H sintasa-2 (PGHS-2), es un tipo de enzima que cataliza la producción de prostaglandinas, entre ellas la prostaglandina $F_{2\alpha}$, principal reguladora de luteólisis (6).

La cadena de procesos que conduce a la luteólisis inicia a partir de la unión del estradiol con su receptor en el endometrio. Entre las principales acciones del estradiol, se encuentran la regulación de los receptores uterinos de oxitocina y su posterior liberación desde el cuerpo lúteo. La oxitocina, a su vez, estimula la liberación de una pequeña cantidad de $\text{PGF}_{2\alpha}$ uterina, que inicia un circuito de retroalimentación positiva (7). El retraso en la regresión lútea en respuesta a un exceso de estimulación adrenal puede retardar el desarrollo del folículo dominante y, en consecuencia, disminuir la secreción de estradiol, que no podrá poner en marcha el mecanismo luteolítico (7,8,9).

Para una reproducción eficiente, los folículos deben crecer a un ritmo adecuado en los ovarios, para que ocurra una ovulación y secreciones hormonales adecuadas, no solo para preparar el útero y recibir el concepto, sino también para controlar la liberación de feromonas. Todos estos eventos son coordinados por las interacciones endocrinas que se interrumpen en situaciones de estrés (10). Sin embargo, no es claro el mecanismo por el cual el estrés influye en la reproducción, pero puede involucrar los sistemas endocrino, paracrino y neural. El estrés impacta el eje reproductivo en el hipotálamo (afectando la secreción de GnRH) y la glándula pituitaria (afectando la secreción de gonadotropinas) con efectos directos sobre las gónadas. Cada factor estresante tiene efectos diferentes, y se presentan diferencias en la respuesta al estrés a corto y largo plazo (11).

Los polifenoles (PFs) son un grupo heterogéneo de sustancias químicas encontradas en plantas, caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula. Estas sustancias son originadas del metabolismo de las plantas, principalmente a partir de dos vías: la ruta del ácido shikímico y del ácido acético (12).

Los compuestos polifenólicos de la uva se encuentran en la piel, especialmente en las células epidérmicas y en las semillas, siendo su concentración baja en la pulpa. La cantidad y calidad de polifenoles en la uva depende principalmente de la variedad de la vid, del clima, del terreno y de las prácticas de cultivo (13). Los principales constituyentes fenólicos del vino con capacidad antioxidante son: derivados de ácidos fenólicos, ácidos cinámicos y tirosina, estilbenos, flavonoides y proantocianidinas.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto antioxidante del resverator mediante la actividad enzimática de la superóxido dismutasa (SOD) en los eritrocitos de rata sobre el sistema reproductor de la rata por medio de parámetros reproductivos, número de cuerpos lúteos (CL) y supervivencia posimplante (SP).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 48 ratas hembras adultas y 16 machos de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus*) de tres meses de edad y con un peso corporal de 200-250 g y 300-350 g para hembras y machos, respectivamente, que permanecieron bajo condiciones ambientales controladas, temperatura $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclos de luz-oscuridad de 14 y 10 horas, respectivamente. La salud de los animales fue evaluada por examen clínico antes y durante todo el período experimental. Los animales fueron distribuidos en cuatro grupos experimentales al azar de 12 hembras y cuatro machos cada uno, los cuales fueron ubicados en cuatro jaulas compuestas cada una por tres hembras y un macho. Cada jaula se tomó como una unidad experimental. Todos los procedimientos se llevaron a cabo en relación con la Legislación colombiana sobre el cuidado de los animales (14) y aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Caldas, Manizales, Colombia (15). Los biomodelos fueron procedentes del Bioterio de la Universidad del Valle, Cali, Colombia.

Periodo de adaptación

Los animales tuvieron un periodo de adaptación de diez días, momento en el cual fueron distribuidos en cuatro grupos al azar de 16 ratas (12 hembras y cuatro machos) por tratamiento, donde se les proporcionó alimento balanceado para ratas (proteína mínima 23,5%; grasa mínima 6,5%; fibra máxima 5% y cenizas máxima 8%), con libre acceso al agua. Cada unidad experimental se conformó de cuatro hembras y un macho.

Tratamientos

Grupo 1: fue tratado con 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de ACTH intraperitoneal (i.p.) (Tetracosactrin acetato; Synacthen, Novartis®, Barcelona, España) cada 12 horas durante 30-33 días. Grupo 2: recibió el mismo tratamiento con ACTH, además de una suplementación oral con el uso de una sonda

intragástrica, de 40 mg/kg de extracto de uva (Resverator®, Soria Natural S.A. Garray Soria, España). Grupo 3: solo recibió extracto de uva 40 mg/kg. Grupo 4: sirvió como control en donde los animales recibieron solución salina (0,9%) i.p. y oral. Las hembras estuvieron separadas del macho por un vidrio, el cual fue retirado 10 días post-adaptación, momento en el cual se observó en las hembras la presencia de tapón vaginal cada 12 horas para determinar cópula, que fue tomado como día 0 (cero) de gestación.

Medición de la enzima SOD

Para la determinación de SOD se utilizó el kit comercial de Ransod SD125 (Randox Laboratorios Ltda, U.K.), el cual emplea xantina y xantina oxidasa para formar radicales superóxido, con formación de color. Para ello se tomaron 0,5 mL de sangre con anticoagulante (EDTA) y se centrifugó 10 min a $865 \times g$. El plasma se decantó y los eritrocitos se lavaron cuatro veces con 3 mL de solución de NaCl (0,9%), siendo centrifugado después de cada lavado. La lisis de los eritrocitos se produjo mediante la adición de 2 mL de agua destilada fría, colocándose durante 15 min a 4°C. Seguidamente, esta preparación de eritrocitos lisados se diluyó 50 veces con 0,01 mol/L de solución amortiguadora fosfato (pH= 7) para alcanzar porcentajes de inhibición entre 30 y 60%. El factor de dilución final fue de 200. La actividad de la enzima se midió por el grado de inhibición en la formación del colorante en la reacción. Una unidad de SOD será definida como la cantidad de enzima necesaria que puede causar el 50% de inhibición del colorante a temperatura ambiente. La actividad enzimática se calculó usando un estándar comercial y los resultados se expresaron en U/mg de proteína.

Índices reproductivos

Las hembras fueron sacrificadas en el día 17 de gestación, momento en el cual se les extrajo el tracto reproductivo (útero y ovarios) para observar a través de un estereoscopio el número de CL y de fetos. En los machos, se calculó

el índice reproductivo (I) en función de las hembras con el número de ovulaciones (NO), supervivencia posimplante (SP) y número de hembras preñadas (HP), utilizando la fórmula $I=NO*SP*HP$, planteada por Cammack *et al* (16).

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño realizado fue un factorial 2×2 , con dos niveles de ACTH (ausencia y presencia) y dos niveles de polifenol (ausencia y presencia), balanceado y completo, con cuatro réplicas. La unidad experimental estaba conformada por una jaula con tres hembras y un macho. Mediante análisis de varianza se evaluó el efecto de estrés inducido, polifenol y su interacción lineal sobre: CL totales y supervivencia posimplante.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando se analizó la variable SOD frente a los tratamientos e interacciones (ACTH + Uva) no se encontró efecto ($p > 0,05$) de ninguno de ellos, al igual que no hubo diferencias entre machos y hembras (Tabla 1). Contrario a esto, Kairisalo *et al.* (17) demostraron que el resverator reduce el estrés oxidativo y aumenta la supervivencia celular, dependiendo de la concentración usada (50 a 75 μM). En las células, se ha identificado que el resverator aumenta los niveles de antioxidantes de la SOD. Sin embargo, se desconoce el mecanismo por el cual el resverator actúa como antioxidante, no entendiéndose completamente sus propiedades, pero se ha reportado que afecta la activación de ciertos genes y proteínas (18).

Paško *et al.* (19) reportaron que ratas tratadas con semillas de amaranto, un cereal antioxidante, presentaron disminución de malonaldehído en plasma y disminución de la actividad enzimática antioxidante de la SOD eritrocitaria, demostrando que las semillas de amaranto pueden actuar como un agente protector moderado frente a los cambios inducidos por la fructosa, lo que sugiere que el sistema

antioxidante del plasma, el corazón y los pulmones son más eficaces cuando hay consumo de semillas de amaranto. Tal vez la disminución de la actividad de la SOD podría estar asociada con un alto contenido de metionina en las semillas de amaranto en comparación con una dieta normal. Esto se puede deducir de otros estudios (20), debido a que cuando se administra metionina se reduce la concentración de Cu y Zn en el corazón.

Tabla 1. Número de CL totales (CLT) y supervivencia posimplante (SP) de acuerdo al tratamiento, al sexo y al día, en ratas sometidas a estrés crónico.

Variable	TRATAMIENTOS			
	Control	ACTH	ACTH + Uva	Uva
SOD (U/mg)*				
Media	0,04 ±0,02	0,04 ±0,02	0,08±0,02	0,04±0,02
CLT*	19,0±1,13	17,3±1,07	18,6±1,26	21,2±1,07
SP*	9,9±0,84	10,7±0,80	7,1±0,88	9,4±0,76*

*No hubo diferencias significativas entre tratamientos o días.

Posiblemente, los mismos cambios se pueden dar en las células eritrocitarias, en donde la mayoría de la SOD eritrocitaria son dependientes de Cu y Zn. A su vez, el Cu puede actuar indirectamente como antioxidante, ya que inhibe la acción de los metales como catalizadores en la formación de radicales libres (21), disminuyendo así el estrés oxidativo, sin afectarse la actividad de la SOD.

Otros autores (22,23) mostraron que los antioxidantes exógenos pueden restablecer el balance entre las moléculas oxidantes y antioxidantes en el organismo, manteniendo así la integridad de las membranas celulares y previniendo el daño oxidativo. El estrés promueve primero una disminución de la absorción y movilización de las moléculas que constituyen los agentes antioxidantes (24).

La dualidad de la respuesta de la SOD puede estar asociada a que el estrés oxidativo induce la producción de enzimas, como mecanismo compensatorio, incrementando su actividad con el fin de mantener la homeostasis. De la misma manera, muchas de estas enzimas se

inducen en respuesta al estrés, de manera que un mayor nivel podría indicar mejor protección o, alternativamente, una mayor necesidad de defensas antioxidantes por causa de un aumento en la generación de oxidantes (25). La reducción de la actividad de SOD observada en algunos experimentos puede asociarse, en parte, a una inactivación de la enzima debido a elevadas concentraciones de EROs (26).

La falta de variación en la concentración de SOD eritrocitaria en la presente investigación puede estar relacionada con el hecho de que la SOD tiene su mayor actividad entre los tres y seis meses de edad, disminuyendo entre los seis y 12 meses de edad (27). Las ratas del presente estudio tenían tres meses de edad, período en el cual se encontraba la SOD en su mayor actividad, razón por la cual probablemente no se identificó ningún efecto de los tratamientos.

Los resultados no mostraron diferencia en las variables número de CL y supervivencia posimplante, entre los tratamientos y entre hembras y machos (en función de las hembras,

Tabla 1). Contrariamente, se ha reportado que las hembras son más susceptibles al estrés dependiente del eje HPA, de acuerdo con los niveles esteroidales en el ovario, y que éste afecta su ciclicidad (28).

Otras investigaciones sobre la actividad reproductiva y el estrés oxidativo en los vertebrados se centró en la concentración de la SOD en los músculos pectorales de los machos y de las hembras del pájaro *Taenopygia guttata* y su correlación con el tamaño de la nidada (29). Los autores encontraron que la actividad de SOD disminuyó, cuando aumentó el tamaño de la nidada; esto, probablemente, se deba al aumento del daño oxidativo, dado el desequilibrio del esfuerzo reproductivo y la protección antioxidante (29). Los resultados presentados por Gil et al. (27) constituyen el primer trabajo que ha analizado el estrés oxidativo en mamíferos machos y la relación con la reproducción y el envejecimiento. El estudio muestra que la actividad reproductora en ratas macho altera todos los parámetros oxidativos en el cerebro, lo que indica un aumento significativo en los niveles de daño oxidativo y en las defensas enzimáticas antioxidantes, en algunos grupos de edad, indicando que las alteraciones presentadas conducen a cambios en la calidad de vida de los animales.

Mourlon et al. (28) demostraron que el estrés modifica el patrón del estro, así como el proestro en ratas hembras. En cambio, no encontraron alteraciones importantes en ratas macho, ni en la respuesta de glucocorticoides inducida por el

estrés, ni en la sensibilidad de retroalimentación del eje HPA, lo que indicó que las hembras son más vulnerables a un desequilibrio del eje HPA después de la exposición al estrés. Este dimorfismo sexual probablemente indica una adaptación hormonal a la exposición a estrés crónico; desconociéndose el mecanismo de interacción entre los ejes HPA y el hipotálamo hipofisis gonadal por la vía neuro-hormonal (30). La complejidad de la biología del estrés requiere de estudios más profundos, que incluyan una muestra importante de animales, con el fin de identificar los efectos del estrés agudo, crónico y oxidativo que puedan ser útiles y fáciles de medir en condiciones de campo (31).

Al igual que las especies reactivas de oxígeno, no actúan de forma general sobre todas las biomoléculas, ni tampoco todas ellas son igualmente susceptibles de daño oxidativo. Los antioxidantes probablemente pueden actuar protegiendo determinadas vías y sistemas orgánicos.

CONCLUSIÓN

En los resultados de la presente investigación se observó que la dosis utilizada del resverator (40 mg/kg) no afectó la actividad SOD eritrocitaria y el desempeño reproductivo, medido en función de número de CL y supervivencia posimplante, en ratas tratadas con ACTH y uva. Esto indica que, posiblemente, las ratas se adaptaron al estrés crónico y, en consecuencia, al estrés oxidativo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Selye H. The evolution of the stress concept. *Am Sci* 1973; 6:692-8.
2. Almier M, De Rosa G, Grasso F, Napolitano F, Bordi A. Effect of climate on the response of three oestrus synchronization techniques in lactating dairy cows *Anim Rep Sci* 2002; 71:157-68.
3. Magiakou MA, Mastorako G, Webster E, Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system. *Ann NY Acad Sci* 1997; 816:42-56.
4. Vélez-Marín M, Uribe-Velasquez LF. ¿Cómo afecta el estrés calórico la reproducción? *Biosalud* 2011; 9:83-95.
5. Goppelt Strube M. Molecular mechanisms involved in the regulation of prostaglandin biosynthesis by glucocorticoids. *Biochem Pharmacol* 1997; 53:1389-95.
6. Colitti M, Sgorlon S, Stradaioli G, Farinacci M, Gabai G., Stefanon B. Grape polyphenols affect mRNA expression of PGHS-2, TIS11b and FOXO3 in endometrium of heifers under ACTH-induced stress. *Theriog* 2007; 68:1022-30.
7. Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, Mcintosh EW. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev* 2000; 80:1-29.
8. Kawate N, Inaba T, Mori J. Changes in plasma concentrations of gonadotropins and steroid hormones during the formation of bovine follicular cysts induced by the administration of ACTH. *J Vet Med Sci* 1996; 58:141-4.
9. Dobson H, Ribadu AY, Noble KM, Tebble JE, Ward WR. Ultrasonography and hormone profiles of adrenocorticotrophic hormone (ACTH)-induced persistent ovarian follicles (cysts) in cattle. *J Reprod Fertil* 2000; 120:405-10.
10. Dobson H, Fergani C, Routly JE, Smith RF. Effects of stress on reproduction in ewes, *Anim Rep Sci* 2012. [In press].
11. Tilbrook AJ, Turner AI, Clark IJ. Effects of stress on reproduction in non-rodent mammals: the role of glucocorticoids and sex differences *Rev Reprod* 2000; 5:105-13.
12. Harborne JB. *Methods in Plant Biochemistry*, In: plant phenolics. London: Academic Press; 1989.
13. Infante R. Polifenoles del vino y oxidabilidad de las lipoproteínas. ¿Blanco o tinto? *Clin Invest Arterioscl* 1997; 91:9-22.
14. Ministerio De Protección Social. Resolución 8430 Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Colombia; 1993.
15. Universidad de Caldas. Resolución Rectoral N° 000259. Por la cual se crea el comité de ética para la experimentación con animales; 2008, Mar 31.
16. Cammack KM, Mesa H, Lamberson WR. Genetic variation in fertility of heat-stressed male mice. *Theriog*; 2006; 66:2195-201.
17. Kairisalo M, Bonomo A, Hyrskyluotoa A, Mudòb G, Belluardob N, Korhonena L, et al. Resverator reduces oxidative stress and cell death and increases mitochondrial antioxidants and XIAP in PC6.3-cells. *Neurosci Lett* 2011; 488:263-6.
18. St-Pierre J, Drori S, Uldry M, Silvaggi JM, Rhee J, Jager S, et al. Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. *Cell* 2006, 127:397-408.

19. Paśko P, Bartoń H, Zagrodzki P, Chłopicka J, Iżewska A, Gawlik M, et al. Effect of amaranth seeds in diet on oxidative status in plasma and selected tissues of high fructose-fed rats. *Food Chem* 2011; 126:85-90.
20. Patra RC, Swarup D. Effect of antioxidant ascorbic acid, l-methionine or a tocopherol alone or along with chelator on cardiac tissue of lead-treated rats. *Veterinarski Arhiv* 2004; 74:235-44.
21. Conner EM, Grisham M.B. Inflammation, Free Radicals, and Antioxidants. *Nutrition* 1996; 12: 274-7.
22. Woung WY, Thomas MGL, Merkus MWM, Zielhueis GA, Steegers-Theunissen RPM. Male factor subfertility: possible causes and the impact of nutritional factors. *Fertil Steril* 2000; 73: 435-42.
23. Saleh RA, Agarwal A. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J Androl* 2002; 23:737-52.
24. Holland MK, Storey BT. Oxygen metabolism of mammalian spermatozoa. Generation of hydrogen peroxide by rabbit epididimal spermatozoa. *Biochem J* 1981; 198:273-80.
25. Céspedes EM, Reyes A. Marcadores de estrés oxidativo en ratas senescentes. *Rev Cubana Invest Bioméd* 2007; 26(2).
26. Mora H, Ángela C, Aragón Diana M, Ospina G, Luis F. Caracterización del estrés oxidativo en ratas wistar diabéticas por estreptozotocina. *Vitae* 2009; 16:311-9.
27. Gil PV, Schäfer F, Machado T, Almeida MF, Ramos P, Krumberg A, et al. Oxidative stress in the brain of reproductive male rats during aging. *Exp Gerontol* 2011; 46:241-8.
28. Mourlon V, Naudon L, Giros B, Crumeyrolle Arias M, Daugé V. Early stress leads to effects on estrous cycle and differential responses to stress. *Physiol Behav* 2011; 102:304-10.
29. Wiersma P, Selman C, Speakman J, Verhulst S. Bird sacrifice oxidative protection for reproduction. *Proc R Soc* 2004; 271:360-3.
30. Dalla C, Antoniou K, Drossopoulou G, Xagoraris M, Kokras N, Sfikakis A, Daifoti Z. Chronic mild stress impact: Are females more vulnerable? *Neuroscience* 2005; 135:703-71.
31. Romero MH, Uribe-Velásquez LF, Sánchez JA. Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. *Biosalud* 2011; 10:71-87.

COMPARACIÓN DE DOS TÉCNICAS COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA DE LA DEFICIENCIA DE CARNITINA ACILCARNITINA TRANSLOCASA

José Henry Osorio¹

RESUMEN

Objetivo: comparar dos técnicas como herramientas para el diagnóstico por laboratorio de la deficiencia de carnitina acilcarnitina translocasa, desorden poco frecuente de herencia autosómico recesiva en la oxidación de ácidos grasos. **Materiales y métodos:** los fibroblastos de pacientes y controles fueron incubados con sustratos tritiados y sustratos deuterados. **Resultados:** la oxidación de los sustratos tritiados se encontró muy deprimida en los fibroblastos de pacientes con esta enfermedad; sin embargo, no fue posible establecer un perfil característico para el diagnóstico de la enfermedad utilizando sustratos deuterados. **Conclusión:** la incubación de fibroblastos en presencia de sustratos tritiados constituye una buena herramienta para el diagnóstico por laboratorio de pacientes afectados por la deficiencia de carnitina acilcarnitina translocasa, no así la incubación con sustratos deuterados.

Palabras clave: ácidos grasos, carnitina, metabolismo, errores innatos del metabolismo, fibroblastos, marcaje isotópico.

COMPARISON OF TWO TECHNIQUES AS CARNITINE ACYLCARNITINE TRANSLOCASE DEFICIENCY DIAGNOSIS TOOLS

ABSTRACT

Objective: to compare two laboratory diagnosis techniques for carnitine acylcarnitine translocase deficiency, a rare inherited autosomal recessive disorder in fatty acid oxidation. **Materials and methods:** fibroblasts of patients and controls were incubated with tritiated substrates and deuterated substrates. **Results:** a severe depression for oxidizing the tritiated substrates was observed for the fibroblasts of patients with this disease; however it was not possible to establish a characteristic profile for the diagnosis of the disease using deuterated substrates. **Conclusion:** the incubation of fibroblasts using tritiated substrates constitutes a good tool for laboratory diagnosis of patients suffering carnitine-acylcarnitine translocase deficiency, in contrast, incubation with deuterated substrates does not.

Key words: fatty acids, carnitine, metabolism, inborn errors of metabolism, fibroblasts, isotope labeling.

¹ Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Laboratorio de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Universidad de Caldas. Correo electrónico: jose.osorio_o@ucaldas.edu.co

INTRODUCCIÓN

La carnitina acilcarnitina translocasa (CACT) es el segundo componente de la lanzadera de la carnitina, necesaria para el ingreso de los ácidos grasos de cadena larga, desde el citosol hasta el interior de la mitocondria donde son oxidados. Es una proteína de la membrana interna mitocondrial, necesaria para mediar el transporte de los ésteres de acilcarnitina dentro de la matriz mitocondrial para ser intercambiados por carnitina libre (1).

La proteína consta de 301 residuos de aminoácidos y es codificada por el gen CACT, también conocido como el gen *SLC25A20* (solute carrier family 25, member 20), localizado en el cromosoma 3p21.31, el cual consta de 9 exones y es ampliamente expresado, particularmente en el corazón, el hígado y el músculo esquelético (2,3). La deficiencia de CACT (OMIM 212138) es uno de los defectos más severos de la degradación mitocondrial de los ácidos grasos. La patogénesis de este desorden es una combinación de la deficiencia en la producción de energía por degradación mitocondrial de ácidos grasos y la toxicidad por acumulación de de acilcarnitinas de cadena larga. Usualmente debuta clínicamente durante el período neonatal o durante el primer año de vida con alta mortalidad.

Los hallazgos típicos incluyen cardiomiopatía, arritmias, disfunción hepática, lesión en músculo esquelético, hiperamonemia, hipoglicemia hipocetótica y aciduria dicarboxílica, elevación sanguínea de las acilcarnitinas de cadena larga y deficiencia de carnitina libre. En una proporción significativa de casos, se presenta muerte súbita, probablemente debido a las arritmias, aunque una minoría de casos se presenta de forma tardía, con manifestaciones clínicas no tan severas. Sin embargo, han sido reportados unos pocos casos de pacientes con deficiencia de CACT que han sobrevivido por largo tiempo, siguiendo un protocolo intensivo de manejo, el cual incluye alimentación frecuente o continua con una

fórmula que provee la mayoría de la grasa de la dieta en forma de ácidos grasos de cadena media y no de cadena larga (4,5). El presente estudio busca analizar la producción de agua tritiada en fibroblastos, comparándola con la producción de intermediarios por incubación con sustratos deuterados como herramienta diagnóstica en pacientes con deficiencia de CACT.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio es de tipo experimental. El material biológico empleado en este trabajo ha sido fibroblastos de tres pacientes con deficiencia de CACT. Estas deficiencias fueron previamente confirmadas por estudios enzimáticos, moleculares o ambos. Como controles se utilizaron 20 cultivos diferentes de fibroblastos de personas que no presentaban deficiencia alguna en la degradación de ácidos grasos. El trabajo cumple con los requisitos y aprobaciones de los respectivos comités de ética.

Células utilizadas: fibroblastos de pacientes y controles (4-20 pasajes) fueron cultivados en *bicarbonate-HEPES-buffered Eagle's minimal essential médium* (MEM), suplementado con 10% (v/v) *newborn calf serum*, y 1% (v/v) de antibiótico (gentamicina) a 37°C, en estufa con 5%CO₂/95% de aire. Después de alcanzar el punto de confluencia (80-100%), las células fueron lavadas dos veces con PBS y la solución se tripsinizó (1 ml de tripsina-EDTA a 37°C), y posteriormente se neutralizó mediante la adición de 3-5 ml de MEM (*Minimun Essential Medium*). Las células fueron transferidas y centrifugadas a 337 X g (5 min, 20°C) en tubos cónicos de 10 ml (0,8-1,2 mg proteína), quedando listas para ser incubadas en presencia de sustratos tritiados. Se utilizó el método de Lowry *et al.* (6) para la determinación de la proteína.

Preparación de sustratos tritiados: el método utilizado fue el de Manning (6) con modificaciones. Para obtener las mezclas radioactivas se prepararon las siguientes

soluciones: Solución A: ácido palmítico 12,5 mg/1 ml de etanol al 95% o ácido mirístico 12,5 mg/1 ml etanol 95%. Solución B: albúmina 25 mg/ml = 75 mg/30 ml de PBS 1 Reactivo C: ácido [9,10(n)-³H] palmítico (Diluido en tolueno, 50-62 mCi/mmol, 1 mCi/ml) (Amersham) o ácido [9,10(n)-³H] mirístico (Diluido en tolueno, 40-60 Ci/mmol, 1mCi/ml) (Amersham). Se mezcla en un tubo plástico de 3 ml, 25 μ L de A + 3,8 μ L de C (3.8 μ Ci), y el solvente se evapora bajo gas nitrógeno. Se agregan 2,5 ml de B y se analiza la mezcla en el contador de centelleo (LS3801-Beckman), (50 μ l de la solución + 10 ml de líquido de centelleo (Ready Safe). Luego la mezcla es puesta en baño de ultrasonido durante 15 minutos y se lleva a incubación al baño a 37°C durante 40 min, posteriormente se coloca nuevamente en el baño de ultrasonido durante 30 min, y se centrifuga durante 20 min a 5000 rpm. Se traspasa el máximo de volumen sobrenadante a otro tubo plástico de 3 ml, y se analizan 50 μ L de la solución, como se describió anteriormente.

Preparación de columnas de intercambio iónico: para esto pueden ser usadas las resinas Dowex 1 X 8-200 o Dowex 1 X 2-400, se le agrega agua destilada a la resina hasta que se hidrate. Se sellan al mechero pipetas Pasteur, aproximadamente a 3 cm de la punta, y se aísla el cuerpo de la pipeta de la punta, mediante la introducción de algodón comprimido, tratando de que el volumen de algodón ocupe aproximadamente 1 cm. Se toma aparentemente, igual volumen de agua que de resina se lleva a agitación suave, y mientras se agita, se toman 2,5 ml y se depositan cuidadosamente en la pipeta, habiendo previamente humedecido totalmente el algodón con agua milli Q para evitar la retención de burbujas de aire que puedan posteriormente hacer caminos en la resina. Es recomendable conservar las pipetas en posición vertical. Después de depositar la resina, se debe verificar que no queden burbujas de aire y que la pipeta no pierda agua, para que la resina permanezca hidratada; luego, las columnas pueden ser conservadas en refrigeración hasta su uso.

Evaluación de la oxidación de sustratos tritiados por los fibroblastos: se toma el pellet de células previamente resuspendido en 500 μ L de PBS 1. Se utilizan bandejas de incubación con capacidad para 24 pozos. El blanco contiene 40 μ L (0,05 μ Ci) de mezcla radioactiva y 160 μ L de PBS 2, las muestras contienen 60 μ L de células resuspendidas, 40 μ L (0,05 μ Ci) de mezcla radioactiva, y 100 μ L de PBS 2. La bandeja se envuelve en papel de aluminio y se incuba a 37°C durante 4 horas en cámara de CO₂ 5%, aire 95%. La reacción se detiene, colocando la bandeja en hielo y agregando a cada pozo 200 μ L de TCA 10%. El contenido de los pozos se traspasa a tubos para microcentrífuga y se centrifuga a 5000 rpm durante 5 min. 360 μ L de la mezcla son transferidos de nuevo a un tubo de microcentrífuga nuevo que contiene 50 μ L de NaOH 1 M.

Esta mezcla se mantiene en hielo hasta el momento de aplicarla a la columna. Para la aplicación a la columna de intercambio iónico la punta sellada de la pipeta Pasteur (columna) se parte cuidadosamente, se coloca un vial bajo la misma y se deja escurrir su contenido, aplicando luego cuidadosamente 455 μ L de mezcla de reacción a la columna, dejando escurrir nuevamente. Para el goteo se lava la columna tres veces con 500 μ L agua milli Q, recogiendo todo el producto del lavado. Se desecha la columna y se agrega a cada vial 10 ml de líquido de centelleo, agitando fuertemente para su posterior análisis. La prueba t de student fue utilizada para comparar los valores obtenidos de la incubación de fibroblastos controles y los de los pacientes que sufren la deficiencia.

Incubación con sustratos deuterados: en el segundo grupo de experimentos, como sustrato deuterado, fue empleado el ácido²H₃-metilpalmítico (Cambridge Isotope Laboratories). Fueron utilizados los siguientes compuestos deuterados para la preparación de la curva de calibración (Ten Brinx-Free University Amsterdam): [8,8,8-d₃]octanoil-L-carnitina.HCl, [10,10,10-d₃]decanoil-L-carnitina.HCl, [12,12,12-

d_3]dodecanoil-L-carnitina.HCl, [14,14,14- d_3] tetradecanoil-L-carnitina.HCl, [16,16,16- d_3] hexadecanoil-L-carnitina.HCl. Como estándar interno fue adicionado ácido undecanodióico (Fluka), durante el proceso de extracción de las muestras. Fibroblastos de pacientes y controles (4-20 pasajes) fueron cultivados en bicarbonate-HEPES-buffered Eagle's minimal essential médium (MEM), suplementado con 10% (v/v) newborn calf serum y 1% (v/v) de antibiótico (gentamicina) a 37° C, en estufa con 5% CO₂/95% de aire. Después de alcanzar el punto de confluencia (80-100%), las células fueron lavadas dos veces con PBS y la solución se tripsinizó (1 ml de tripsina-EDTA a 37°C), y posteriormente se neutralizó mediante la adición de 3-5 ml de MEM (*Minimum Essential Medium*). Las células fueron transferidas y centrifugadas a 337 X g (5 min, 20°C) en tubos cónicos de 10 ml (0,8-1,2 mg proteína), quedando listas para ser incubadas en presencia de sustratos deuterados. Se utilizó el método de Lowry y *et al.* (6) para la determinación de la proteína.

Oxidación ²H₃-palmitato en fibroblastos: se preparó una solución de medio de cultivo con una concentración final de 0,15 mM de ácido 16-²H₃ palmítico, 1mM BSA, y 0,2 mM L-carnitina. La incubación por los fibroblastos se llevó a cabo de la siguiente manera: después de la tripsinización, las células fueron resuspendidas en MEM enriquecido en frascos *falcom* de 2,5 ml (2 frascos por caso). Después de 72 horas de incubación, el medio de cultivo fue recogido mediante centrifugación y almacenado a -20°C hasta su análisis. Las células se resuspendieron en 1 ml de PBS1 para proceder a la determinación de proteínas. El análisis cuantitativo se basó en el método del estándar interno. Se prepararon curvas de calibración para los ácidos grasos C₈, C₁₀, C₁₂ y C₁₄, en un rango de 0 a 150 nM, y C₁₆ en un rango de 0-1000 nM, utilizando acilcarnitinas deuteradas en el último carbono, diluidas en MEM ($p < 0,00001$ para cada curva de calibración).

Análisis de los ácidos grasos deuterados de los medios enriquecidos: los análisis de las curvas de calibración y de los productos de la incubación fueron realizados después de la hidrólisis con KOH. Las curvas de calibración se obtuvieron mediante el análisis de la regresión lineal, representando la relación de concentraciones de cada ácido respecto al estándar interno frente a la relación de áreas. Las condiciones de la cromatografía gas-líquido fueron las siguientes: flujo de gas portador (He): 1 ml/min; división de flujo: 1:30; tiempo de splitless: 1min 5 segundos; temperatura del inyector: 250°C; temperatura del horno y programación de temperaturas: T1 70°C a 6°C/min, T2 250°C a 20°C/min hasta T3 300°C; volumen de inyección: 1μl; tiempo total: 38,5 min.

Las condiciones de la espectrometría de masas fueron las siguientes: el análisis cualitativo se realizó por cromatografía de gases-espectrometría de masas, con impacto electrónico y monitorización selectiva de iones. Para cada ácido se monitorizó el ion M⁺-15, ya que es el ion selectivo y uno de los más abundantes; la ionización se realizó por impacto electrónico a 70 eV y la fuente de iones se mantuvo a una temperatura de 200°C. La temperatura del analizador fue de 100°C; para la adquisición de datos, el instrumento utilizó un scanning repetitivo en un rango de 40 a 600 unidades de masa atómica. Fue utilizado un cromatógrafo de gases 5890 Series II Plus - Espectrómetro de masas 5972 Series (Hewlett Packard).

RESULTADOS

La Tabla 1 muestra los valores promedio (5 determinaciones por cada muestra) para la oxidación de palmitato y miristato tritriados en nmol/hora/mg proteína y el porcentaje de oxidación de los sustratos tritriados por parte de los fibroblastos de los pacientes con deficiencia de CACT comparados con los controles paralelos. Fue encontrada una diferencia significativa ($P < 0,05$) al comparar la degradación

de palmitato y miristato tritiado entre controles y pacientes con esta deficiencia. Se observó más deprimida la oxidación de palmitato tritiado que la de miristato tritiado. En todas las curvas de calibración para sustratos deuterados, se obtuvo un coeficiente de correlación superior al 0,99. No se obtuvo un perfil característico en los cromatogramas en la deficiencia de CACT

comparado con los controles (Figura 1). Los valores de esta deficiencia no nos permiten diferenciarla con claridad (Tabla 2), toda vez que los valores obtenidos para los pacientes con la deficiencia no son significativamente diferentes de los controles y casi todos los valores se encuentran incluidos en el rango de máximos y mínimos de los mismos.

Tabla 1. Porcentaje de oxidación de [9,10³H]-ácidos grasos en pacientes con deficiencia de carnitina acilcarnitina translocasa.

Deficiencia	n	Oxidación [9,10 ³ H]-palmitato nmol/hora/mg proteína	Oxidación [9,10 ³ H]-miristato nmol/hora/mg proteína	Oxidación [9,10 ³ H]-palmitato %	Oxidación [9,10 ³ H]-miristato %
Controles	20	4,7	4,4	100	100
CACT	3	1,1	1,3	24	29

Tabla 2. Producción de ácidos grasos deuterados en fibroblastos control y de pacientes con deficiencia de carnitina acilcarnitina translocasa, posterior a la incubación con ácido ²H₃-palmítico.

Línea Celular	Ácidos grasos intermediarios (nmol/mg proteína/72 h)								Total
	C8	C10	C12:1	C12	C14:1	C14	C16:1	C16:OH	
Controles Intervalo	16,7 (5,8-28,6)	10,4 (7,8-14,3)	0,8 (0,3-1,3)	5,2 (1,0-17,6)	4,1 (2,8-5,7)	9,2 (2,8-25)	16,9 (11,1-28,6)	nd	63,3 (31,6-121,1)
CACT	2,8	11,7	1,5	1,5	8,3	25	16,6	nd	67,5

Abreviaturas: nd, no detectado.

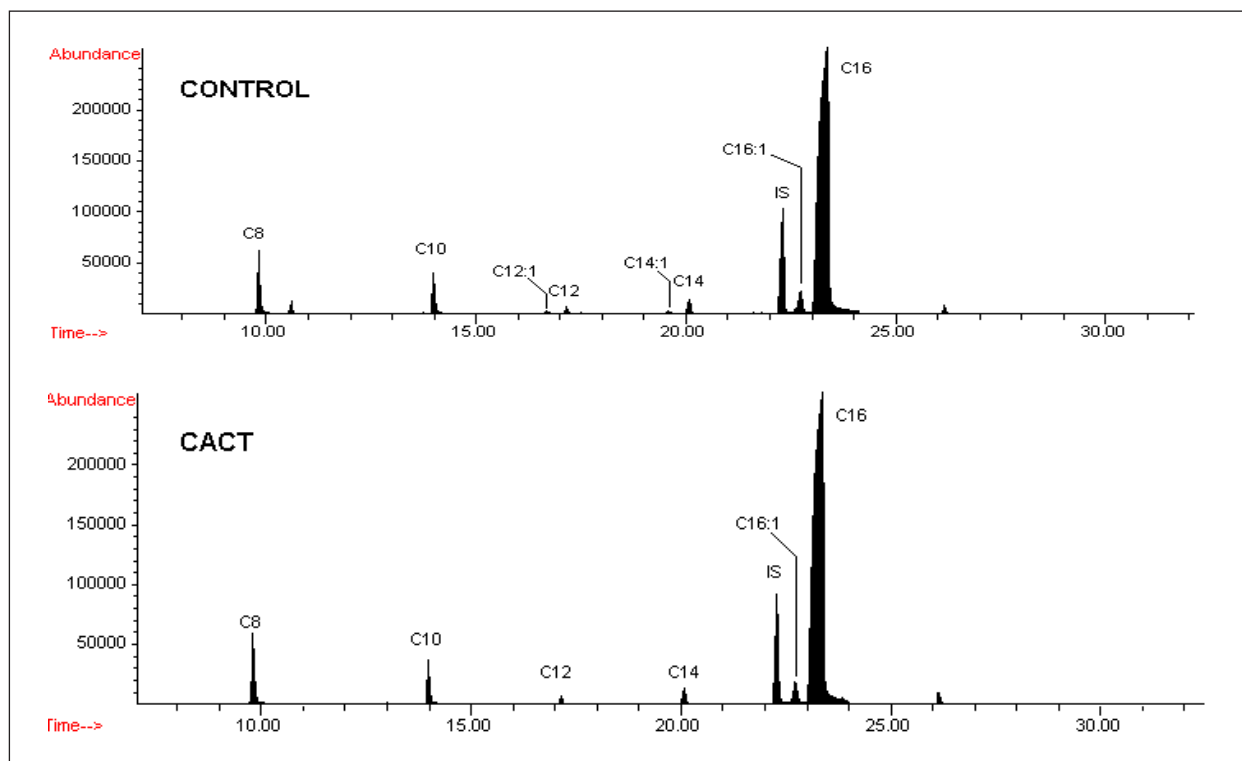


Figura 1. GC-MS-SIM de la incubación del ácido $^2\text{H}_3$ -palmítico en fibroblastos control y de pacientes con deficiencia de CACT. Están indicados los ácidos grasos deuterados según el número de átomos de carbono: C8, octanoico; C10, decanoico; C12:1, dodecenóico; C12, dodecanoico; C14:1, tetradecenóico; C14, tetradecanoico; C16, hexadecanoico. IS identifica el estándar interno.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se encontró una oxidación en general menor del 30% en las deficiencias de CACT, (tabla 1), lo que concuerda con los resultados obtenidos por Ventura *et al.* (7), quienes encontraron muy deprimida la producción de intermediarios estudiando varias deficiencias, entre ellas la deficiencia de CACT. El coeficiente de variación obtenido al trabajar con esta prueba fue similar al obtenido por otros (inferior a 5) (8), y al igual que ellos, se encontró que se debe trabajar con mezcla radiactiva fresca, debido a que inmediatamente después de su preparación muestra casi el doble de actividad observada en relación con mezclas utilizadas de preparación previa (9).

El nivel de intermediarios observados por incubación con ácido palmítico deuterado, en la deficiencia de CACT, es muy controvertido de acuerdo con diferentes autores (10,11). Observamos concentraciones de intermediarios similares al de los controles en la deficiencia de CACT. Algunos autores han reportado una gran depresión en la formación de acetilcarnitinas en fibroblastos de pacientes con esta deficiencia (10), pero nosotros no podemos distinguir con significación el perfil de ácidos de esta deficiencia respecto a los controles. Nuestros resultados para esta deficiencia son similares a los de otros, quienes afirman que no es posible distinguirlas realizando este tipo de incubaciones (12).

Actualmente cobra vigencia el diagnóstico en familias sospechosas de la deficiencia mediante análisis moleculares que podrían tener mayores ventajas sobre los métodos bioquímicos aquí planteados, pues el conocimiento de las mutaciones que causan la enfermedad hace que después de múltiples amplificaciones mediante el uso de PCR pueda hacerse determinación de estas mediante secuenciación directa de los 9 exones y de las uniones intrón-exón respectivas (13,14,15,16).

CONCLUSIÓN

Se puede concluir que la valoración de agua tritiada es un buen método para sugerir una deficiencia de CACT. En cambio, no es posible establecer la presencia o no de esta deficiencia mediante incubación de fibroblastos con ácido palmítico deuterado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Indiveri C, Iacobazzi V, Giangregorio N, Palmieri F. The mitochondrial carnitine carrier protein: cDNA cloning, primary structure and comparison with other mitochondrial transport proteins. *Biochem J* 1997; 321:713-19.
2. Indiveri C, Giangregorio N, Iacobazzi V, Palmieri F. Site-directed mutagenesis and chemical modification of the six native cysteine residues of the rat mitochondrial carnitine carrier: implications for the role of cysteine-136. *Biochemistry* 2002; 41:8649-56.
3. Tonazzi A, Giangregorio N, Indiveri C, Palmieri F. Identification by site-directed mutagenesis and chemical modification of three vicinal cysteine residues in rat mitochondrial carnitine/acylcarnitine transporter. *J Biol Chem* 2005; 280:19607-12.
4. Pierre G, Macdonald A, Gray G, Hendriksz C, Preece MA, Chakrapani A. Prospective treatment in carnitine-acylcarnitine translocase deficiency. *J Inher Metab Dis* 2007; 30(5):815.
5. Rubio-Gozalbo ME, Vos P, Forget PPh, Van Der Meer SB, Wanders RJA, Waterham HR, et al. Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: case report and review of the literature. *Acta Paediatr* 2003; 92:501-4.
6. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-75.
7. Ventura FV, Costa CG, Struys EA, Ruiter J, Allers P, Ijlst L, et al. Quantitative acylcarnitine profile in fibroblasts using U-¹³Cpalmitic acid: an improved tool for the diagnosis of fatty acid oxidation defects. *Clin Chem Acta* 1999; 281:1-17.
8. Roe CR, Roe DS. Recent developments in the investigation of inherited metabolic disorders using cultures human cells. *Mol Genet Metab* 1999; 68:243-57.
9. Olpin SE, Manning NJ, Carpenter K, Middleton B, Pollit RJ. Differential diagnosis of hydroxydicarboxylic aciduria based on release of ³H₂O from [9, 10-³H]-myristic and [9,10-³H]-palmitic acids by intact cultured fibroblasts. *J Inher Metab Dis* 1992; 15:883-90.
10. Roe DS, Yang BZ, Vianey-Saban C, Struys E, Sweetman L, Roe CR. Differentiation of long-chain fatty acid oxidation disorders using alternative precursors and acylcarnitine profiling in fibroblasts. *Mol Genet Metab* 2006; 87(1):40-7.
11. Nada MA, Chace DH, Sprecher H, Roe CR. Investigation of β -oxidation intermediates in normal and MCAD-deficient human fibroblasts using tandem mass spectrometry. *Biochem Mol Med* 1995; 54:59-66.
12. Roe CR, Roe DS. Recent developments in the investigation of inherited metabolic disorders using cultures human cells. *Mol Genet Metab* 1999; 68:243-57.
13. Costa C, Costa JM, Slama A, Boutron A, Vequaud C, Legrand A, et al. Mutational spectrum and DNA-based prenatal diagnosis in carnitine-acylcarnitine translocase deficiency. *Mol Genet Metab* 2003; 78: 68-73.
14. Korman SH, Pitt JJ, Boneh A, Dweikat I, Zater M, Meiner V, et al. A novel SLC25A20 splicing mutation in patients of different ethnic origin with neonatally lethal carnitine-acylcarnitine translocase (CACT) deficiency. *Mol Genet Metab* 2006; 89(4):332-8.
15. Wang GL, Wang J, Douglas G, Browning M, Hahn S, Ganesh J, et al. Expanded molecular features of carnitine acyl-carnitine translocase (CACT) deficiency by comprehensive molecular analysis. *Mol Gen Metab* 2011; 103:349-57.
16. Yang BZ, Mallory JM, Roe DS, Brivet M, Strobel GD, Kerri M, et al. Carnitine/Acylcarnitine Translocase Deficiency (Neonatal Phenotype): Successful Prenatal and Postmortem Diagnosis Associated with a Novel Mutation in a Single Family. *Mol Gen Metab* 2011; 73: 64-70.

COMPARACIÓN DE PERFIL LIPÍDICO POR SEXO Y EDAD EN BOVINOS

José Henry Osorio¹
Jazmín Vinazco²
Jorge Enrique Pérez³

RESUMEN

Objetivo: comparar el perfil lipídico de bovinos según género y edad en los diferentes estados de desarrollo. **Materiales y métodos:** se tomaron 192 muestras de sangre de bovinos cruzados de algunas localidades de los municipios de Caldas y Risaralda, en estado de ayuno y diferenciados por género y edad (49 machos y 49 hembras menores de 18 meses y 44 machos y 50 hembras mayores de 24 meses). Se determinaron los niveles de triglicéridos, colesterol total (CT) y el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) mediante el método enzimático colorimétrico; el colesterol de las lipoproteínas de muy baja densidad (C-VLDL) y de baja densidad (C-LDL) se determinó usando las fórmulas de Friedewald. **Resultados:** según la edad, en el grupo de animales adultos existe diferencia significativa para los niveles de C-LDL, encontrándose más elevado en las hembras; en los jóvenes existe diferencia estadísticamente significativa para el C-HDL, que igualmente se encuentra más elevado en hembras; según el género, ambos sexos tienen una diferencia significativa en los niveles de CT, siendo las hembras adultas la que reportan los niveles más altos; entre los machos se encuentra significativamente elevado el C-HDL en adultos y entre las hembras se encuentran significativamente elevados los valores de C-LDL en adultas, confirmando los resultados

obtenidos en el grupo de animales adultos. Los valores de triglicéridos y del C-VLDL no mostraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los grupos, ya que el p-valor siempre fue $>0,05$ analizado con un nivel de confianza del 95%. **Conclusión:** dadas las diferencias en las comparaciones entre grupos para el perfil lipídico en bovinos, pueden ser considerados cuatro perfiles lipídicos, así: machos adultos, hembras adultas, machos jóvenes y hembras jóvenes, siendo los animales adultos los que tienen más altos los niveles de CT y C-LDL para hembras y C-HDL para machos.

Palabras clave: lípidos, metabolismo, bovinos.

COMPARISON OF LIPID PROFILE BY SEX AND AGE IN CATTLE

ABSTRACT

Objective: to compare the lipid profile by gender and age in cattle at different stages of development. **Materials and Methods:** blood samples from 192 crossbred cattle from some areas of the municipalities of Caldas and Risaralda were taken, in the fasting state, differentiated by gender and age (49 males and 49 females aged under 18 months and 44 males and 50 females over 24 months). Levels of total cholesterol (TC), triglycerides,

¹ Laboratorio de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Universidad de Caldas. Correo electrónico: jose.osorio_o@ucaldas.edu.co

² Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas.

³ Laboratorio de Microbiología, Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Universidad de Caldas.

and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were measured using enzymatic-colorimetric method; levels of very low-density lipoprotein cholesterol (VLDL-C) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were determined using the Friedewald equation. **Results:** by age, in the group of adult animals, there exists significant difference for LDL-C levels, being higher in females; in the young animals group there is significant difference in HDL-C levels, which is also higher in females; by gender, both sexes have a significant difference in total cholesterol levels, being adult females the ones reporting higher levels; among males the HDL-C is significantly higher in adults and among females the LDL-C

values in adults are significantly elevated, confirming the results obtained in the group of adult animals. Triglycerides and VLDL values showed no statistically significant differences in either group since the p-value was always >0.05 analyzed with a confidence level of 95%. **Conclusion:** given the differences in the group comparisons between groups for the bovines lipid profile, four lipid profile groups can be considered as follows: adult males, adult females, young males and young females, being adult animals the ones having higher levels of TC and LDL-C for females and of HDL-C for males.

Key words: lipids, metabolism, cattle.

INTRODUCCIÓN

La diferencia existente entre bovinos y monogástricos es dada no solo por su anatomía, sino por sus funciones fisiológicas, ya que estas generan reacciones bioquímicas distintas debido a la presencia de bacterias y flora ruminal (1). Es así como el metabolismo y la biosíntesis de los lípidos se da mediante la fermentación, de la cual el resultado son los ácidos grasos volátiles (AGV). Sin embargo, se pueden presentar lípidos de sobrepaso, que son lípidos que llegan intactos al intestino porque pasan de largo y escapan de la digestión microbiana ruminal (2).

Luego de ser transformados y absorbidos por el tracto intestinal, los lípidos llegan al hígado, para finalmente ir a la circulación unidos a lipoproteínas plasmáticas y así llegar a los tejidos periféricos (3,4). Allí, los ácidos grasos en forma de triacilgliceroles representan la principal fuente energética y de almacenamiento calórico de los bovinos. Igualmente, las grasas funcionan como componentes estructurales de membranas biológicas y precursores de hormonas, ácidos biliares y vitaminas (5).

Encontramos entonces que los AGV (acético, propionico y butírico) son utilizados por el organismo para obtener energía en forma de ATP, siendo el ácido acético el único ácido graso volátil que presenta cantidades significativas en la sangre (6,7).

La cantidad de ácidos grasos consumidos está directamente relacionada con la síntesis de grasa ruminal (7), ya que la fermentación ruminal se puede modificar con los cambios dietarios y aumentar la producción de AGV en diferentes niveles según su base forrajera (8). Vemos así que el aumento de consumo energético no solo altera el nivel de lipoproteínas, sino que también genera un incremento en los niveles de triglicéridos y colesterol (9). Por lo tanto, es importante la determinación de los niveles de colesterol sérico, ya que sus altos valores no solo son resultado de las diferentes clases y concentraciones de grasas en la dieta y el tiempo durante el cual se suministra la suplementación, sino también por su estado tanto productivo como reproductivo (1). En este último los efectos de la gestación y lactancia hacen que el colesterol LDL y HDL modifique sus niveles de acuerdo con las necesidades

fisiológicas del bovino, debido a que la mayor parte de los lípidos plasmáticos en esta especie son transportados en forma de HDL (10), y al momento del parto estos valores disminuyen para luego alcanzar su valor máximo en la lactancia tardía (11,12).

En cuanto a los niveles de LDL, estos aumentan gradualmente durante la gestación y en el periodo final disminuyen dichas concentraciones (13). La movilización de lípidos en el momento de una necesidad energética es dada por ácidos grasos no esterificados (AGNES) que salen del adipocito y llegan al hígado para ser utilizados; en este último continuamente se encuentran lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), para finalmente distribuir las fracciones lipídicas hacia el organismo (7), las cuales, luego de estar en los tejidos, se convierten en LDL y HDL, cumpliendo las funciones vitales del organismo (14).

MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron obtenidas 192 muestras de sangre de bovinos cruzados con *Bos indicus* y *Bos Tauros* de algunas localidades de los departamentos de Caldas y Risaralda (municipios de Supía, Santágueda, Arauca, Quinchía y Cartago). Los predios seleccionados manejan un sistema semi-intensivo y los animales se dejaron en estado de ayuno para realizar la toma de la muestra, con un adecuado plan sanitario (desparasitados y con vacunas al día) y una condición corporal entre 3 y 4 (escala de 1 a 5). Estas muestras fueron clasificadas en 4 grupos diferenciados por género y edad: 49 machos menores de 18 meses de edad y 44 machos mayores de 24 meses de edad; 49 hembras menores de 18 meses de edad y 50 hembras mayores de 24 meses de edad, sin incluir en el estudio hembras preñadas.

La toma de las muestras de sangre se realizó en las horas de la mañana mediante venopunción en la yugular, se refrigeraron las muestras

mientras se llevaban al laboratorio para luego ser procesadas, se centrifugaron a 3500 rpm en una centrifuga Thermo de serie IEC CL31 Multispeed (Thermo Electron Corporation de la casa de la UPS E.U/Canada) durante 5 minutos y, posteriormente, fue extraído el suero. Para cada muestra se determinaron las concentraciones circulantes de triglicéridos (TG), colesterol total (CT) y colesterol HDL (C-HDL), utilizando los kits de la casa comercial BioSystems®. La determinación de CT en suero se realizó mezclando 10µL de la muestra y 1mL de Reactivo TG Ref 11529 (Pipes 35mmol/L, colato sódico 0,5mmol/L, fenol 28mmol/L, colesterol esterasa >0,2U/mL, colesterol oxidasa >0,1U/mL, peroxidasa >0,8U/mL, 4-AA 0,5mmol/L, pH 7,0).

Se agitó bien la mezcla y se dejó incubar los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente. Los ésteres de colesterol se hidrolizaron por el colesterol esterasa y dieron lugar a colesterol libre, el cual por acción del colesterol oxidasa formó colesteno + peróxido de hidrógeno, este último en presencia de la 4-AA y fenol dieron lugar a la quinonaimina por acción de la peroxidasa. La quinonaimina es proporcional el CT de la muestra y se cuantificó espectrofotométricamente. Se determinaron los TG en suero, utilizando 10µL de la muestra y 1mL de Reactivo de Col Ref 11506 (Pipes 45mmol/L, 4-clorofenol 6mmol/L, cloruro magnésico 5mmol/L, lipasa >100U/mL, glicerol-quinasa >1,5U/mL, glicerol-3P-oxidasa >4U/mL, peroxidasa >0,8U/mL, 4-AA 0,75mmol/L, ATP 0,9mmol/L, pH 7,0).

Se agitó bien la mezcla y se dejó incubar los tubos durante 15 minutos a temperatura ambiente. En el anterior proceso, los triglicéridos fueron hidrolizados por la lipasa a glicerol y ácidos grasos; el glicerol, en presencia de ATP, fue fosforilado por la glicerol-quinasa y dio lugar al glicerol 3P + ADP. El glicerol 3P en presencia de oxígeno formó peróxido de hidrógeno por acción de la glicerol-3P-oxidasa; finalmente, se cuantificó espectrofotométricamente la

quinonaimina producto de la acción de la peroxidasa sobre el peróxido de hidrógeno en presencia de 4-AA y clorofenol.

La quinonaimina es proporcional a la concentración de los TG. Para determinar la concentración del C-HDL se usó 1 mL de reactivo Col HDL Ref 11649 (Fosfotungstato 0,4 mmol/L y cloruro de magnesio 20 mmol/L), que se mezcló con 0,2 mL de la muestra de suero, se agitó bien y se dejó durante 10 minutos a temperatura ambiente, se centrifugó por 15 minutos a 4000 rpm en el equipo Thermo. En el precipitado quedaron las VLDL, IDL y LDL, y en el sobrenadante quedaron las HDL. Finalmente, se recogió con cuidado 100µL del sobrenadante, depositándolo en otro tubo de ensayo, se mezcló con 1mL de reactivo Col Ref 11506 y se incubó por 10 minutos al baño maría a 37°C en un equipo Mermert (Mermert GmbH+GCo.KG, Postfach/Alemania).

El C-HDL fue hidrolizado por colesterol esterasa y colesterol oxidasa, lo que dio lugar a peróxido de hidrógeno que fue consumido por una peroxidasa en presencia de la 4-aminoantipirina (4-AA) y fenol, quedando como producto final la quinonaimina, siendo este producto proporcional al C-HDL de la muestra, que se cuantificó espectrofotométricamente (15,16,17). Los valores de C-LDL fueron calculados mediante la siguiente fórmula: $C\text{-LDL} = C\text{-total} - (C\text{-HDL} + C\text{-VLDL})$. El C-VLDL fue calculado por la división de los triglicéridos entre 5 (TAG/5) (18). Las lecturas de los resultados se realizaron en un analizador semiautomático de química serial, marca Rayco serial 400706011 (Especialidades Diagnósticas IHR Ltda/ Santiago de Cali).

Análisis estadístico: los resultados fueron analizados por medio de ANOVA simple, se obtuvo el cálculo del promedio, la varianza y la desviación estándar para la cuantificación de CT, TG, C-HDL, C-LDL y C-VLDL en cada

uno de los grupos determinados (Hembras Jóvenes vs. Machos Jóvenes; Hembras Adultas vs. Machos Adultos; Hembras Jóvenes vs. Hembras Adultas; Machos Jóvenes vs. Machos Adultos). Se evaluaron las diferencias sobre los diferentes grupos por medio de un análisis de varianza usando el PROG STATGRAPHICS Plus 5.1 en donde se aceptaron diferencias estadísticamente significativas cuando $P < 0,05$.

RESULTADOS

Luego de realizado el análisis estadístico entre los cuatro grupos, se observó que según la edad, en el grupo de animales adultos existe diferencia estadísticamente significativa para los niveles de colesterol LDL, ya que p-valor fue $< 0,05$ (0,0005), encontrándose más elevado en hembras (Tabla 1); en el grupo de los jóvenes la diferencia se presentó para los niveles de colesterol HDL con un p-valor de 0,0401 y estos niveles, igualmente, se encuentran más elevados en las hembras (Tabla 2). Los resultados obtenidos de la comparación por género muestran que ambos sexos tienen una diferencia significativa en los niveles de CT, hallando un p-valor para los machos de 0,0020 y para las hembras de 0,0007; además, se encontró nuevamente que son las hembras adultas las que reportan el valor máximo (Tablas 3 y 4). En contraste, tenemos que entre los machos también existe diferencia significativa para el colesterol HDL con un p-valor de 0,0002, siendo los adultos los que tienen los niveles más elevados (Tabla 3). Entre las hembras también hay diferencia en el colesterol LDL, ya que el p-valor fue 0,05 (0,0000), lo que confirma los resultados obtenidos en el grupo de animales adultos (Tabla 4). Los valores de triglicéridos y del C-VLDL no mostraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los grupos, ya que el p-valor siempre fue $> 0,05$ analizado con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 1. Valores de lípidos entre adultos.

Parámetro	HEMBRAS ADULTAS		MACHOS ADULTOS		P-valor	Co. F
	Media	De	Media	De		
C - Total	151,583	32,425	140,035	29,494	0,0756	3,23
TG	20,880	29,624	140,035	29,493	0,4660	0,54
C-HDL	94,938	16,123	101,228	17,117	0,0699	3,36
C-VLDL	4,176	5,925	3,433	3,402	0,4660	0,54
C-LDL *	52,469	22,415	35,374	23,518	0,0005	13,00

* Indica diferencia estadísticamente significativa con P valor < 0,05.

Co. F: coeficiente F; De: desviación estándar; C - Total: colesterol total; TG: triglicéridos; C-HDL: Colesterol de lipoproteína de alta densidad; C-VLDL: Colesterol de lipoproteína de muy baja densidad; C-LDL: Colesterol de lipoproteína de baja densidad.

Tabla 2. Valores de lípidos entre jóvenes.

Parámetro	HEMBRAS JÓVENES		MACHOS JÓVENES		P-valor	Co. F
	Media	De	Media	De		
C - Total	128,171	33,959	117,286	38,226	0,1394	2,22
TG	20,005	17,790	27,491	33,983	0,1751	1,87
C-HDL *	92,347	22,227	81,224	30,062	0,0401	4,33
C-VLDL	4,001	3,558	5,498	6,796	0,1751	1,87
C-LDLw	31,823	16,460	30,563	18,390	0,7216	0,13

* Indica diferencia estadísticamente significativa con P valor < 0,05.

Co. F: coeficiente F; De: desviación estándar; C - Total: colesterol total; TG: triglicéridos; C-HDL: Colesterol de lipoproteína de alta densidad; C-VLDL: Colesterol de lipoproteína de muy baja densidad; C-LDL: Colesterol de lipoproteína de baja densidad.

Tabla 3. Valores de lípidos entre machos.

Parámetro	MACHOS JÓVENES		MACHOS ADULTOS		P-valor	Co. F
	Media	De	Media	De		
C - Total *	117,286	38,226	140,035	29,494	0,0020	10,15
TG	27,491	33,983	140,035	29,493	0,0720	3,31
C-HDL *	81,224	30,062	101,228	17,117	0,0002	15,08
C-VLDL	5,498	6,796	3,433	3,402	0,0720	3,31
C-LDL	30,563	18,390	35,374	23,518	0,2723	1,22

* Indica diferencia estadísticamente significativa con P valor < 0,05.

Co. F: coeficiente F; De: desviación estándar; C - Total: colesterol total; TG: triglicéridos; C-HDL: Colesterol de lipoproteína de alta densidad; C-VLDL: Colesterol de lipoproteína de muy baja densidad; C-LDL: Colesterol de lipoproteína de baja densidad.

Tabla 4. Valores de lípidos entre hembras.

Parámetro	HEMBRAS JÓVENES		HEMBRAS ADULTAS		P-valor	Co. F
	Media	De	Media	De		
C - Total *	128,171	33,959	151,583	32,425	0,0007	12,31
TG	20,005	17,790	20,880	29,624	0,8593	0,03
C-HDL	92,347	22,227	94,938	16,123	0,5061	0,45
C-VLDL	4,001	3,558	4,176	5,925	0,8593	0,03
C-LDL *	31,823	16,460	52,469	22,415	0,0000	27,20

* Indica diferencia estadísticamente significativa con P valor < 0,05.

Co. F: coeficiente F; De: desviación estándar; C - Total: colesterol total; TG: triglicéridos; C-HDL: Colesterol de lipoproteína de alta densidad; C-VLDL: Colesterol de lipoproteína de muy baja densidad; C-LDL: Colesterol de lipoproteína de baja densidad.

DISCUSIÓN

Las variaciones del perfil lipídico en los diferentes grupos estudiados nos permite establecer las comparaciones para cada metabolito, según los valores reportados como referencia para la población. Encontramos entonces que los valores de CT son más altos en hembras que en machos sin discriminación de edad, lo cual concuerda con los resultados reportados por Villa N.A *et al.*, 2009 (19); por el contrario, los valores encontrados para la variable edad en dicho estudio muestran que el colesterol tiene niveles más altos en jóvenes mientras que en este estudio se encontraron los valores más altos en grupo adulto. Así mismo, el Colesterol HDL presentó diferencia significativa según edad, lo cual no comparte los resultados descritos por dicho autor; sin embargo, se ajustan a lo descrito por Ochoa y Marchello (20) cuando expresan que los machos tienen un menor nivel de C-HDL comparado con las hembras.

La mayoría de los estudios se han relacionado con los diferentes estados del desarrollo animal, como son la nutrición y el estado reproductivo, encontrando que en hembras post-parto se incrementan los valores de perfil lipídico especialmente triglicéridos y colesterol (21,22), así como lo indican los resultados expuestos por Tainturier *et al.* (23), en donde se reportan altos niveles de colesterol, mas no en triglicéridos. Estos incrementos se relacionan con el esfuerzo fisiológico que realiza la vaca al inicio de la lactancia, el desbalance energético que la caracteriza y la recuperación posparto que requiere una mayor demanda energética para sostenerla (21).

Otros estudios realizados durante este periodo (24, 25) mostraron igualmente relaciones significativas de CT, C-LDL y C-HDL, mientras las VLDL y los triglicéridos no presentaron ninguna variación, lo que puede limitar la adecuada movilización y distribución de las reservas corporales hasta el hígado y desde este

a los demás órganos, puesto que los triglicéridos como indicadores de la disponibilidad energética aumentan conforme disminuye el déficit energético (26). Confirmamos entonces en esta investigación que las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y VLDL no mostraron diferencia significativa, aunque según Van Den Top (27) este último se aumenta cuando el animal se acerca a un balance energético positivo como consecuencia de un mayor consumo de nutrientes y de menores gastos energéticos para la producción.

Por otro lado, los cambios en la composición de las lipoproteínas pueden estar asociados con mecanismos fisiológicos relacionados con los cambios en la dieta a los cuales se ven sometidos estos animales a medida que crecen y se desarrollan (19). Toma mayor importancia el colesterol total, ya que este se ve aumentado por un incremento de la biosíntesis hepática cuando se suministra mucha energía o se genera un aporte extra de fibra (28). Podemos afirmar entonces que el nivel de colesterol plasmático es un buen indicador del estado nutricional y metabólico. Con el objetivo de tener más conocimiento sobre estas variaciones se deben realizar más estudios en los grupos jóvenes, ya que son pocas las exposiciones relacionadas con estos; igualmente, para los bovinos pertenecientes a la especie *B. indicus* los valores de referencia señalados por la literatura son escasos en comparación con los reportes para *B. taurus* (29).

Por lo pronto, este estudio busca obtener una aproximación representativa de los valores para diferentes metabolitos en las poblaciones de interés y así poder evaluar el estado nutricional y metabólico, así como de salud de dichos animales (30). Finalmente, a pesar de que los reportes señalados son de estudios realizados con otras especies o razas bovinas y bajo otras condiciones de manejo, no se pueden comparar directamente, pero los valores obtenidos en este estudio coinciden con los reportados por las diferentes investigaciones, aunque hay

José Henry Osorio, Jazmín Vinazco, Jorge Enrique Pérez

algunas diferencias en el intervalo de confianza considerado normal para cada metabolito (21).

CONCLUSIÓN

Dadas las diferencias en las comparaciones entre grupos para el perfil lipídico en bovinos,

pueden ser considerados cuatro perfiles lipídicos, así: machos adultos, hembras adultas, machos jóvenes y hembras jóvenes; lo que indica que los niveles de CT y C-LDL están más elevados en hembras adultas, los niveles de C-HDL son más altos en machos adultos y los niveles de triglicéridos y colesterol VLDL no varían según sexo ni edad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Escobar Rivera ME. Valores bioquímicos sanguíneos relacionados con la nutrición en ganado brahman bajo condiciones de estabulación en Colombia. L.I. Universidad de Caldas; 2006. p. 454-7.
2. Nava Cuellar C, Díaz Cruz A. Introducción a la Digestión Ruminal. México: UNAM; 2001. Disponible en: http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/enlinea/Ruminal/digest_ruminal.htm [Consultado el 29 de junio de 2009].
3. Sommer H. The role of the metabolic profile test in the control of cattle feeding, Magyar Állatorvosok Lapja. Memorias del Segundo Seminario Internacional en reproducción y metabolismo de la vaca lechera. Manizales: Universidad de Caldas; 1999. p. 714-7.
4. Lehninger AL. Las fases moleculares de la estructura y función celular. Bacerlona: Ediciones Omega; 1982.
5. Newsholme EA, Leech AR. Bioquímica médica. Madrid, España: Interamericana- McGraw-Hill; 1986.
6. Ríos Roque F, Rodas Herrera MA, Infante Silva F, Sena Pineda YM. Bioquímica, "Ciclo de krebs y Glucolisis". Ediciones Q.F.B Emilse Concepción. Univ. Autónoma de Chapas 2009; 2:15.
7. Juárez Lagunés FI. Biohidrogenación ruminal. Fac. Med Vet y Zoot. México. Memorias 2004; 54-61. Disponible en: http://tiesmexico.cals.cornell.edu/courses/shortcourse1/documents/2_principios.ppt [Consultado el 18 de marzo de 2010].
7. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. Bioquímica de Harper. Panorama del metabolismo intermedio. México: Editorial el Mundo Moderno; 2000. p. 144-5.
8. Relling AE, Mattioli GA. Fisiología Digestiva y Metabólica de los Rumiantes. Argentina: U.N.L.P. Editorial Eulp; 2003. p. 23-55.
9. Rayssiguier Y, Mazur A, Gueux E. Plasma lipoprotein and fatty liver in dairy cows. Res Vet Sci 1988; 45:389-93.
10. Basoglu A, Sevinc M, Gokcen M. Peri and postparturient concentrations of lipid lipoprotein insulin and glucose in normal dairy cows. Turk Vet ve Hay Derg 1998; 22: 141-4.
11. Bauchart D. Lipid absorption and transport in Rumiantes. J Dairy Sci 1993; 76:3864-81.
12. Rayssiguier Y, Mazur A, Gueux E. Plasma lipoprotein and fatty liver in dairy cows. Res Vet Sci 1988; 45: 389-93.
13. Puppione DL. Implications of unique features of blood lipid transport in the lactating cow. J Dairy Sci 1978; 61: 651-9.

14. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute; 2001.
16. Yung DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 4th ed. AACCC Press; 1995.
17. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co; 1991.
18. Friedewald W, Levy R, Fredrickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18(6):499-502.
19. Villa NA, Mesa H, Gómez G, Ceballos A. Herramientas para diagnosticar los riesgos de la sobrealimentación en ganado brahmán de exposición. Sitio argentino de producción animal. Asocebu, Colombia, 2009; 1-5. Disponible en: http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/cabana/09-sobrealimentacion.pdf [Consultado el 30 de octubre de 2011].
20. Ochoa MF, Marchello JA. Bovine lipoprotein and apolipoprotein profiles influenced by sex and growth. *J Anim Sci* 1991; 69: 4030-8.
21. Ramírez Iglesia LN, Soto Belloto E, Morillo JD, Díaz de Ramírez A. Hematología y perfiles metabólicos en hembras peripartorientas con predominancia racial carora. *Unellez de ciencia y tecnología* 2001; Vol. especial: 73-78.
22. Sawadogo GJ, Oumarou AA, Sene M, Diop M. Effects of poor pasture conditions and type of feeding on some biochemical values of Gobra zebu in Senegal. *British Veterinary Journal* 1991; 147:538-44.
23. Tainturier D. Variations in blood composition in dairy cows during pregnancy and after calving. *Res Vet Sci* 1984; 37:129-31.
24. Henao Restrepo G, Galviz Goez RD, Cardona Bermúdez LM, Castro Henao NM. Relación entre pérdida de peso, perfil lipídico, y concentraciones plasmáticas de leptina en vacas cebu primerizas. *Rev Fac Nal Agr Medellín* 2010; 63(2): 5595-605.
25. Scaglione MC. Variaciones cronobiológicas de parámetros sanguíneos en bovinos. Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Colombia, 2006; 53-54.
26. Grummer RR. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 1993; 76(12):3882-96.
27. Van Den Top AM, Geelen MJ, Wensing TH, Wentink GH, Vant Klooster A, Beynen AC. Higher postpartum hepatic triacylglycerol concentration in dairy cows with free rather than restricted access to feed during dry period are associated with lower activities of hepatic glycerolphosphate acyl transferase. *J Nutr* 1996; 126(1):76-85.
28. Coppo NB, Coppo JA, Revidatti MA, Navamuel JM, Foranelli SA. Erythrogram modifications on half-bred zebu heifers supplemented with citrus pulp. *Rev Vet* 2003; 12/13: 6-9.
29. Villa NA, Ceballos A, Cerón D, Serna CA. Valores bioquímicos sanguíneos en hembras brahmán bajo condiciones de pastoreo. *Pesq Agropec Bras* 1999; 34(12):2339-43.
30. Rowlands GJ, Pocock RM. Statistical basis of the Compton metabolic profile test. *Vet Rec* 1976; 98:333-8.

RESPUESTA CELULAR PRODUCIDA POR UNA INFUSIÓN DE *Bursera* sp

Carlos Hernando Parga Lozano¹
Lizeth María Guardo Pereira¹
Marlòn David Acuña Arrieta¹

RESUMEN

Introducción: determinar los niveles de eosinófilos, linfocitos y neutrófilos producidos con una infusión de la planta medicinal *Bursera* sp. **Materiales y métodos:** se seleccionaron cinco individuos sanos. Se determinaron porcentajes de células blancas iniciales por hemoleucograma. Luego se les suministró una toma diaria de 5 g de la corteza del árbol *Bursera* sp, previo consentimiento informado. Posteriormente, se les realizó hemoleucograma a los 17 días (primer muestreo) y a los 31 días (segundo muestreo). **Resultados:** en la mayoría de los casos se cumple que al aumentar los eosinófilos y los neutrófilos, los linfocitos permanecen bajos. **Discusión:** estos resultados pueden indicar un efecto inmunomodulador de la infusión de la planta *Bursera* sp, especialmente sobre los linfocitos, mostrando a esta planta como una alternativa terapéutica para la inmunología de los trasplantes y en enfermedades autoinmunitarias, ya que se apreció una disminución de linfocitos cuando los neutrófilos y eosinófilos aumentaron; debido a la muestra pequeña así como a la adherencia incompleta de algunos de los individuos del estudio, es pertinente realizar estudios con una mayor muestra y con análisis adicionales, como inmunoglobulinas séricas y citometría de flujo, para determinar si la disminución de los linfocitos afectó a los Linfocitos T, B o ambos.

Palabras clave: *Bursera* sp, eosinófilos, inmunomodulador, linfocitos T, neutrófilos.

CELLULAR RESPONSE PRODUCED BY A *Bursera* sp INFUSION

ABSTRACT

Introduction: to determine the levels of eosinophils, lymphocytes and neutrophils produced with the *Bursera* sp. medicinal plant infusion **Materials and methods:** five healthy individuals were selected. Initially, white cells percentages were determined by cell blood count. Then, previous informed consent, they were given a daily intake of 5 g of *Bursera* sp tree bark. Subsequently, cell blood count was performed after 17 days (first sampling) and after 31 days (second sampling). **Results:** in most cases the increase in eosinophils and neutrophils, lymphocytes remained low. **Discussion:** these results may indicate an immunomodulatory effect of *Bursera* sp infusion especially on lymphocytes, showing this plant as a therapeutic alternative for transplant immunology and in autoimmune diseases since a decrease in lymphocytes was noticed when neutrophils and eosinophils increased. Due to the small sample and incomplete adherence to some of the individuals in the study, it is relevant to carry out studies with a larger sample and additional analysis such as serum immunoglobulins and flow cytometry to determine whether the decrease of lymphocytes affected the T lymphocytes, the B ones or both.

Key words: *Bursera* sp, eosinophils, immunomodulatory, neutrophils T, lymphocytes.

¹ Universidad del Sinú Cartagena, Departamento de Ciencias Básicas, Cartagena de Indias, Colombia. Grupo de Farmacoterapia e Inmunología – Categoría B Colciencias. Financiación institucional resolución 083 de 2007.

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han constituido una de las principales fuentes terapéuticas de muchas de las civilizaciones humanas, con aplicabilidad en muchas enfermedades, principalmente aquellas de tipo infeccioso y traumático (1). Aunque estas plantas eran de gran uso hasta el siglo XIX, con el advenimiento de la elaboración sintética de medicamentos en el siglo XX, fueron descartadas como terapias de primera línea y quedaron relegadas a ser tratamientos de tipo alternativo y de uso casi exclusivo de algunas pequeñas poblaciones indígenas, en América y África (1,2). Sin embargo, en las últimas décadas del siglo XX y primeros años del siglo XXI, Occidente ha vuelto la mirada nuevamente hacia las plantas medicinales, para buscar nuevas opciones terapéuticas menos tóxicas, con menor número de reacciones adversas y menos costosas que las actuales sintéticas (1,2). Entre ellas se destacan *Eucalyptus globulus* (actividad antibacteriana y antiviral), *Citrus paradisa* (actividad anti-fúngica), *Centella asiática* (contra el *L. leprae*) y también se presenta la actividad antiinflamatoria de la planta medicinal *Bursera* sp en Venezuela (3-14).

Colombia es un país que posee una gran riqueza en plantas medicinales utilizadas tradicionalmente por las personas de los municipios rurales y las comunidades indígenas (15,16). Existen varias instituciones encargadas ocupadas de esta iniciativa como la Escuela de Medicina Juan N Corpas, la Universidad Javeriana, la Universidad de Antioquia, la Universidad de Cartagena, entre otras muchas instituciones (5-16). Aunque el esfuerzo es encomiable aún se requiere de estudios profundos en los efectos que estas moléculas poseen sobre el sistema inmunitario, pues debido al desconocimiento básico sobre la respuesta inmunomodulatoria de estos compuestos no se han podido comprobar completamente sus efectos benéficos y adversos sobre el organismo, lo cual hace que esta área

del conocimiento se presente como una nueva alternativa de investigación en el campo fitoterapéutico en el país y en el mundo (17).

En Cartagena de Indias los únicos estudios de este modelo los ha desarrollado la Universidad de Cartagena, que viene trabajando durante la últimas dos décadas en la caracterización de la respuesta inmunológica de tipo alérgico desencadenada por los ácaros del polvo de habitación, obteniéndose resultados significativos como la clonación-secuenciación de varios alérgenos recombinantes del ácaro del polvo de habitación *Blomia tropicalis* y la respuesta inmunitarias de ellos a los frente a los anticuerpos de IgE específicos y a la proliferación de estos alérgenos hacia las células mononucleares de sangre periférica (18). Uno de estos alérgenos recombinantes obtenidos rBtM probó poseer una respuesta inmunomodulatoria similar a la generada por los alérgenos nativos, lo cual se muestra como una alternativa inmunoterapéutica de las enfermedades de tipo alérgico (18).

Además, en el año 2002 en la Universidad de Cartagena también se realizó un estudio sobre el efecto inmunomodulador de la planta *Tabebuia billbergii*, y se demostró por experimentos de linfoproliferación que los extractos de esta planta poseían la capacidad de modular la respuesta inmunitaria inhibiendo la proliferación celular de células mononucleares de sangre periférica, lo que presentó a estos extractos como potentes inmunomoduladores para su uso en terapia antitumoral y de trasplantes. De acuerdo con esto, el presente estudio se propuso estudiar la respuesta en sangre periférica de pacientes sometidos a terapia con una planta medicinal *Bursera* sp (17,18).

MATERIALES Y MÉTODOS

La corteza de la planta fue recolectada en el municipio de Santa Rosa y Villanueva, norte del departamento de Bolívar, Herbario

COL295450, No. catálogo 295450, colección 1940.

su variabilidad en el tiempo. La tabulación y porcentajes se hicieron en el software Excel 2007.

Se seleccionaron cinco individuos voluntarios que firmaron un consentimiento informado y a quienes se les explicó que el tratamiento sería igual al que usan tradicionalmente las poblaciones aledañas a la ciudad de Cartagena de Indias. Se les realizó un hemoleucograma para determinar los porcentajes de células blancas iniciales: porcentaje de linfocitos, eosinófilos y neutrófilos. Luego, a cada paciente se le suministró una toma diaria de 5 g de la corteza del árbol de *Bursera* sp, preparada en infusión con 100 mL de agua, calentándolo hasta ebullición. Posteriormente, se les tomó una muestra sanguínea para hemoleucograma a los 17 días (primer muestreo) y a los 31 días (segundo muestreo), después del comienzo del estudio, para determinar el porcentaje de los leucocitos medidos al inicio (linfocitos, eosinófilos y neutrófilos), para determinar

RESULTADOS

En la mayoría de los casos se cumple que cuando están aumentados los eosinófilos y los neutrófilos, los linfocitos están bajos. Esta tendencia, en los eosinófilos, se observó en dos de los individuos, que tuvieron un patrón de aumento de los niveles respecto de los iniciales en el primer muestreo (DSD001: de 3% subió a 9% y bajó a 5%; DMO005: de 4% subió a 8% y bajó a 6%) (Figura 1), que se presentaron por encima de los valores normales y luego bajaron en el segundo muestreo, pero se mantuvieron por encima de los valores normales. En uno de los individuos los niveles aumentaron en los dos muestreos con un máximo en el segundo muestreo (JCL003: de 4% subió a 8% y subió a 16%,) (Figura 1).

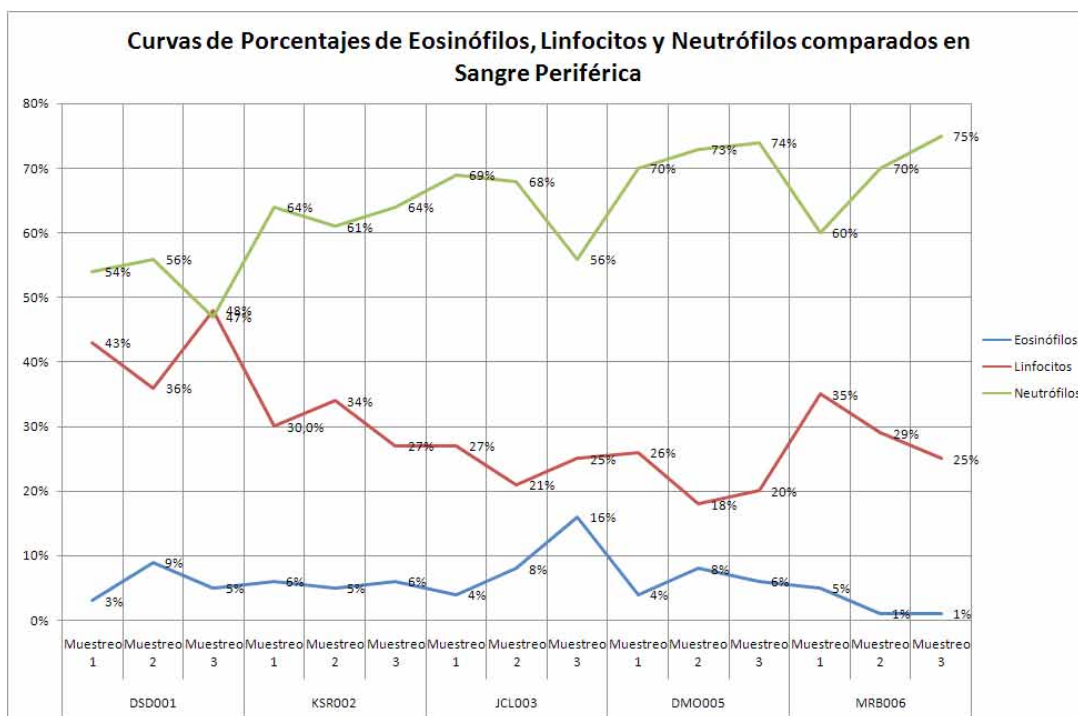


Figura 1. Medición de parámetros celulares por individuo y por muestreo.

En otro individuo se disminuyeron en el primer muestreo y luego aumentaron en el segundo muestreo con respecto a los niveles iniciales, pero nunca llegaron a los valores normales (KSR003: de 6% bajó a 5% y subió a 6%,) (Figura 1). Y por último, en solo uno de los individuos los niveles eosinofílicos comenzaron, inicialmente, con valores por encima de los normales y posteriormente disminuyeron en el primer y segundo muestreos, dentro de los valores normales (MRB006: de 5% bajó a 1% y mantuvo a 1%,) (Figura 1).

Respecto a los linfocitos, se obtuvieron valores por debajo de los iniciales antes y después del tratamiento. En el primer muestreo, los linfocitos disminuyeron en todos los individuos y en el segundo muestran patrones diversos (DSD001: 43%, 36%, 48%; KSR002: 30%, 34%, 27%; JCL003: 27%, 27%, 21%; DMO005: 26%, 18%, 20%; MRB006:35%, 29%, 25%) (Figura 1). Cabe mencionar que en la mayoría de ellos los valores se encontraron en niveles normales y que en algunos pacientes incluso se obtuvieron valores por debajo de los normales durante el tratamiento. Por último, los neutrófilos en la mayoría de los pacientes aumentaron en el primer muestreo, y luego cambió esta tendencia (DSD001: 54%, 76%, 47%; KSR002: 64%, 61%, 64%; JCL003: 69%, 68%, 56%; DMO005: 70%, 73%, 74%; MRB006:60%, 70%, 75%) (Figura 1).

DISCUSIÓN

Estos resultados pueden indicar un efecto inmunomodulador de la infusión de la planta *Bursera* sp, especialmente sobre los linfocitos, mostrando a esta planta como una alternativa terapéutica para la inmunología de los trasplantes y en enfermedades autoinmunitarias. Además, se presenta la respuesta de los neutrófilos y eosinófilos aumentada en casos de linfocitos

bajos, sugiriendo un aumento en la fagocitosis y citotoxicidad dependiente de anticuerpos, que es benéfica en casos infecciosos parasitarios y bacterianos.

Este estudio pretendió mostrar que con estudios inmunológicos se podría correlacionar la respuesta antiinflamatoria de los extractos de *Bursera* sp., los cuales probaron y presentaron unos resultados muy concordantes con estudios anteriores como el de Noguera *et al.* (19), donde se muestra a esta planta como candidato terapéutico en las enfermedades inflamatorias, comparado con estándares internacionales de actividad inflamatoria en ratones, ya que se describieron fitoquímicamente los compuestos Traducción: 3-Metilen-7,11,15-trimetilhexadeca-1-eno (neofitadieno) Ergost-5-eno-3beta-ol, 24S- estigmas-5,22E-dien-3beta-ol, 24S-Estigmas-5-en-3beta-ol y alfa-amarina. Nuestros resultados muestran una disminución de linfocitos cuando aumentaban los neutrófilos y eosinófilos en varios de los muestreos, lo que es interesante, pues se muestra con un perfil similar al reportado en la literatura sobre los corticosteroides, en donde se aprecia un aumento de neutrófilos y eosinófilos en sangre periférica cuando existe una disminución linfocitaria por la pérdida de la permeabilidad capilar asociada al tratamiento con este tipo de compuestos.

Aunque estos resultados son alentadores, debido a lo reducido de la muestra, se deben realizar estudios con mayor número de pacientes a los cuales se les suministre el tratamiento y, además, disminuir pérdidas en los resultados por adherencia incompletas. También se deben contemplar estudios séricos de inmunoglobulinas y citometría de flujo, para determinar si la disminución de los linfocitos afectó a los Linfocitos T, B o ambos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* 1999; 12(4):564-82.
2. Plaeger S. Clinical Immunology and Traditional Herbal Medicines. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2003; 10(3):337-8.
3. Song Z, Johanse H, Faber V, Moser C, Kharazmi A, Rygaard J, et al. Ginseng Treatment Reduces Bacterial Load and lung Pathology in Chronic *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia in Rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1997; 41(5):961-4.
4. Watanabe C, Wolfram S, Ader P, Rimbach G, Packer L, Maguire J, et al. The in vivo neuromodulatory effects of the herbal medicine ginkgo biloba. *PNES* 2001; 98(12):6577-80.
5. Márquez R. Alcaloides en la semilla de la *Tabernaemontana coronaria* (Apocynaceae) y evaluación de su actividad mutagénica. Tesis de grado de magíster. Fac. de Ciencias Universidad Javeriana. Santafé de Bogotá; 1999.
6. Torrenegra R, Pedrozo J. Estudio Químico de Plantas Colombianas de Familias Compuestas y Apocynaceae. *Colciencias*; 1984.
7. Cárdenas M, Piñeros J. Plantas medicinales (Farmacología Vegetal). *Terapéutica Clínica en Medicina Social* 2002; 33:7750.
8. Bailey D, Dresser G. Natural products and adverse drug interactions. *CMAJ* 2004; 170(10):1558.
9. Liu S, Dong W, Wu D, Luo H, Yu J. Protective effect of *Angelica sinensis* polysaccharide on experimental immunological in rats. *World Journal of Gastroenterology* 2003; 9(12):2786-90.
10. Kim Y, Ha J, Do J, Choi Y, Choo Y, Woo W, et al. In vitro immunomodulatory activity of Bo-yang-hwan-o-tang. *Immunopharmacol immunotoxicol* 2004; 26(4):631-44.
11. Auttachoat W, Chitsomboon B, Peachee V, Guo T, White K. Immunomodulation by Dok Din Daeng (*Aeginetia indica* Rox extracts) in female B6C3F1 mice: (I): stimulation of T cells. *Int Immunopharmacol* 2004; 4(10-11):1367-79.
12. Park W, Kim C, Lee Y, Kim Ch. Anti-inflammatory effects of a traditional Korean herbal formulation, Silsongami, consisting of seven medicinal herbal effect on hemolysis, neutrophil function, and gene expression iNOS and COX-2. *Vascul Pharmacol* 2004; 42(1):7-15.
13. Shan B, Yoshida Y, Sugiura T, Yamashita U. Stimulating activity of Chinese medicinal herbs on human lymphocytes in vitro. *Int J Immunopharmacol* 1999; 21(3):149-59.
14. Mosmann T, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunology Today* 1996; 17(3):138-146.
15. Fonnegra R, Jiménez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Ed. Universidad de Antioquia; 1975.
16. García-Barriga H. Flora Medicinal de Colombia. Imprenta Nacional Bogotá; 1975.
17. Parga-Lozano C, Gaitán R, Marrugo J. Furanonaftoquinonas aisladas de *Tabebuia billbergii* y Evaluación de su Actividad Inmunomoduladora sobre Células Mononucleares de Sangre Periférica. *Acta Médica Colombiana* 2002; 27(5):311.
18. Parga-Lozano C, Marrugo J, Hernández L. Respuesta proliferativa de células mononucleares de sangre periférica contra el alérgeno recombinante BtM del ácaro del polvo casero *Blomia tropicalis*. *Allergologia et Immunopathologia* 2004; 32(5):247.
19. Noguera B, Díaz E, García MV, Feliciano AS, López-Perez JL, Israel A. Anti-inflammatory activity of leaf extract and fractions of *Bursera simaruba* (L.) Sarg (*Burseraceae*). *J Ethnopharmacol* 2004; 92(1):129-33.



**ARTÍCULOS
DE
REVISIÓN**

HORMONAS REPRODUCTIVAS DE IMPORTANCIA VETERINARIA EN HEMBRAS DOMÉSTICAS RUMIANTES

Jackeline Franco¹
Luis Fernando Uribe Velásquez²

RESUMEN

En el presente trabajo se revisan las principales hormonas reproductivas en hembras domésticas rumiantes, considerando sus características e interacciones, además de los métodos de determinación y las concentraciones que se reportan de cada una de dichas hormonas, durante las diferentes fases del ciclo estral. El eje hipotálamo-pituitario-ovárico controla la actividad reproductiva, principalmente, a través de las interacciones entre la Hormona Folículo Estimulante (FSH), la Hormona Luteinizante (LH), el Estradiol (E_2) y la Progesterona (P_4). Durante la fase folicular, las gonadotropinas estimulan el desarrollo de los folículos, promoviendo la proliferación de las células de la granulosa por parte de la FSH; su pico está asociado al surgimiento de la onda folicular, después de la cual decrece la concentración plasmática de FSH, y da inicio a la desviación folicular. Esto permite al folículo dominante expresar receptores para la LH, además de producir inhibina y E_2 . El alto nivel circulante de E_2 induce la liberación de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) desde el hipotálamo, resultando en un pico de LH, de amplitud y frecuencia suficiente para estimular la maduración final del folículo y la posterior ovulación. Las altas concentraciones de E_2 influyen también sobre la presentación de los cambios fisiológicos y comportamentales durante el estro. La fase luteal está caracterizada por el predominio de la P_4 , cuya concentración se relaciona con el desarrollo del cuerpo

lúteo. Esta hormona es indispensable para el reconocimiento y mantenimiento de la preñez y sus perfiles pueden llegar a determinar si existe la predisposición de un animal a sufrir pérdidas embrionarias tempranas. Se considera que los incrementos o disminuciones en las concentraciones séricas de cada hormona marcan cambios en las fases del ciclo estral, y es fundamental conocer la actividad de dichas hormonas mediante la determinación de su concentración sanguínea normal para cada una de las etapas reproductivas.

Palabras clave: Hormona Folículo Estimulante (FSH), Hormona Luteinizante (LH), Progesterona (P_4), Estradiol (E_2), Radioinmunoanálisis (RIA), Inmunoanálisis Ligado a Enzima (ELISA).

REPRODUCTIVE HORMONES OF VETERINARY IMPORTANCE IN DOMESTIC RUMINANT FEMALES

ABSTRACT

The main reproductive hormones in domestic female ruminants are reviewed in this paper, including their characteristics, interactions and concentrations besides the determination methods and concentrations reported in each hormone during the different phases of the estrous cycle. The hypothalamus-pituitary-ovarian axis, controls reproductive activity, mainly, through interactions between the Follicle-stimulating

¹ Estudiante del Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia. Correo electrónico: jackframar@gmail.com

² Ph.D. Profesor Asociado Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia. Correo electrónico: lfuribe@ucaldas.edu.co

Hormone (FSH), Luteinizing Hormone (LH), Progesterone (P_4) and Estradiol (E_2). During the follicular phase, gonadotropin hormones stimulate follicle development, promoting the proliferation of granulosa cells on the FSH side. The FSH peak is associated with the emergence of the follicular wave after which, its plasmatic concentration decreases and the follicular deviation begins. This allows the dominant follicle to express LH-receptors and to produce inhibine and E_2 . The high level of flowing E_2 induces the release of Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) from the hypothalamus, resulting in a LH of enough amplitude and frequency to stimulate the final maturation of the follicle and the subsequent ovulation. High plasma concentrations of E_2 , also influence the appearance of physiological and behavioral changes during estrous. The luteal

phase is characterized by the dominance of P_4 , whose concentration is related to the development of the luteal body. This hormone is essential for pregnancy and its profiles recognition and maintenance, and it can even determine if there exist predisposition of an animal to suffer early embryonic loss. It is considered that increase or decrease in plasma concentration of each hormone, determine changes in the estrous cycle phases and, it is fundamental to know the activity of such hormones, by determining their normal blood concentration for each of the reproductive stages.

Key words: Follicle-stimulating Hormone (FSH), Luteinizing Hormone (LH), Progesterone (P_4), Estradiol (E_2), Radioimmunoassay (RIA), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).

INTRODUCCIÓN

En hembras rumiantes domésticas el eje hipotálamo-pituitario-ovárico controla la actividad reproductiva, regulando la interacción entre los mecanismos endocrinos y paracrinos, que a su vez involucran factores de crecimiento y otras sustancias, producidas localmente en los ovarios (1,2). Algunos factores ambientales, como el fotoperiodo, la nutrición y la condición corporal, también influyen profundamente la actividad reproductiva en animales domésticos (3,4,5,6). Durante un ciclo reproductivo normal se reclutan los folículos primordiales de una población establecida durante el desarrollo embrionario, de los cuales uno o más se seleccionan como folículos preovulatorios (2). Una vez seleccionado, se convierte en folículo dominante y madura hasta obtener la capacidad de ovular, mientras que los folículos subordinados sufren atresia (7,8,9); proceso que es consistente en pequeños y grandes rumiantes (2).

Dentro de las funciones primarias de los folículos se encuentran secretar hormonas esteroideas que regulan la conducta de las hembras durante el

estro, así como la morfología y función de los órganos reproductivos. Cuando un folículo en crecimiento secreta altas concentraciones de estradiol (E_2), se activa un pico de hormona luteinizante (LH) que inicia la ovulación y la posterior luteinización de las células de la granulosa y de la teca; las cuales, por la acción de enzimas, cambian la biosíntesis esteroide de los estrógenos a las progestinas, generando un cuerpo lúteo (CL) (1,10). La progesterona (P_4), producto primario del CL, es necesaria para la implantación normal y el mantenimiento de la preñez (11,12,13). Si no ocurre la preñez o falla en establecerse, hay regresión del CL en respuesta a la prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) secretada por el útero (11).

Teniendo en cuenta que los cambios en las concentraciones séricas de cada hormona marcan cambios en las fases del ciclo estral (14), es fundamental conocer la actividad de dichas hormonas mediante la determinación de su concentración sanguínea normal para cada una de las etapas reproductivas de las hembras, y así, poder establecer unos márgenes sobre los cuales se podría realizar un diagnóstico presuntivo de un desorden reproductivo.

HORMONAS GONADOTRÓPICAS

La fase folicular es un periodo corto del ciclo estral que comprende el proestro y el estro, delimitados por el inicio de la regresión del CL hasta la ovulación (14). Esta fase se caracteriza por la liberación de gonadotropinas, así como por el cambio en el predominio hormonal, al disminuir la P_4 y aumentar el E_2 (14,15).

Las gonadotropinas pertenecen a una familia de hormonas diméricas glicoproteicas, que comparten características estructurales, entre las que se encuentran la Hormona Folículo Estimulante (FSH) y la Hormona Luteinizante (LH) (16,17). Cada hormona es heterodimérica, lo que consiste en dos subunidades diferentes asociadas no-covalentemente; una subunidad- α y una subunidad- β . Mientras que la subunidad- α es común a todos los miembros de esta familia de hormonas glicoproteicas, cada subunidad- β tiene una secuencia diferente de aminoácidos, conteniendo 111 y 121 aminoácidos, la FSH y la LH, respectivamente (17), confiriendo así la especificidad biológica (16).

En ausencia de una estimulación gonadotrópica adecuada, los folículos no continúan su desarrollo más allá de la etapa antral temprana. En bovinos y

ovinos, el crecimiento de los folículos hasta 4 mm y 2 mm de diámetro, respectivamente, no parece requerir soporte gonadotrópico agudo (2), por lo que se consideran relativamente independientes de las gonadotropinas hasta esta etapa (18). En los estadios antrales, la FSH es necesaria para el crecimiento folicular, ya que promueve la proliferación de las células de la granulosa (3,4,10), desarrollando los folículos de 4 mm a 9 mm en las hembras bovinas (1,3), y esto impide la atresia folicular (7).

El pico de FSH plasmático está asociado con el día del surgimiento de la onda folicular (Figura 1) (7,9), cuando dicha concentración incrementa de 1,5 a 2 veces la concentración basal. En ovejas se han reportado picos de FSH entre 3 y 4 ng/mL (19,20,21) y en vacas hasta de 6 ng/mL (22). En bovinos, dicho pico se presenta aproximadamente de 12 a 24 horas antes de la emergencia de la onda (9,23). Teniendo en cuenta que en ruminantes se presentan múltiples ondas foliculares, se observa que las concentraciones basales de FSH que preceden a los picos relacionados con la onda ovulatoria son más altas que en las anovulatorias en ovinos (Figura 2,20,21) y en bovinos (24). Durante el periodo interovulatorio, se reportan concentraciones basales de la FSH que están relacionadas en la Tabla 1.

Tabla 1. Concentraciones basales plasmáticas de la Hormona Folículo Estimulante (FSH) durante el periodo interovulatorio en hembras ruminantes domésticas.

Especie	Concentración de la FSH (ng/mL)	Autor
Ovinos	1 - 2	(19,20,21)
Caprinos	5 - 10	(25)
Bovinos		
<i>B. indicus</i>	0,2 - 0,8	(26,27)
<i>B. taurus</i>	0,2 - 3	(22,28,29)

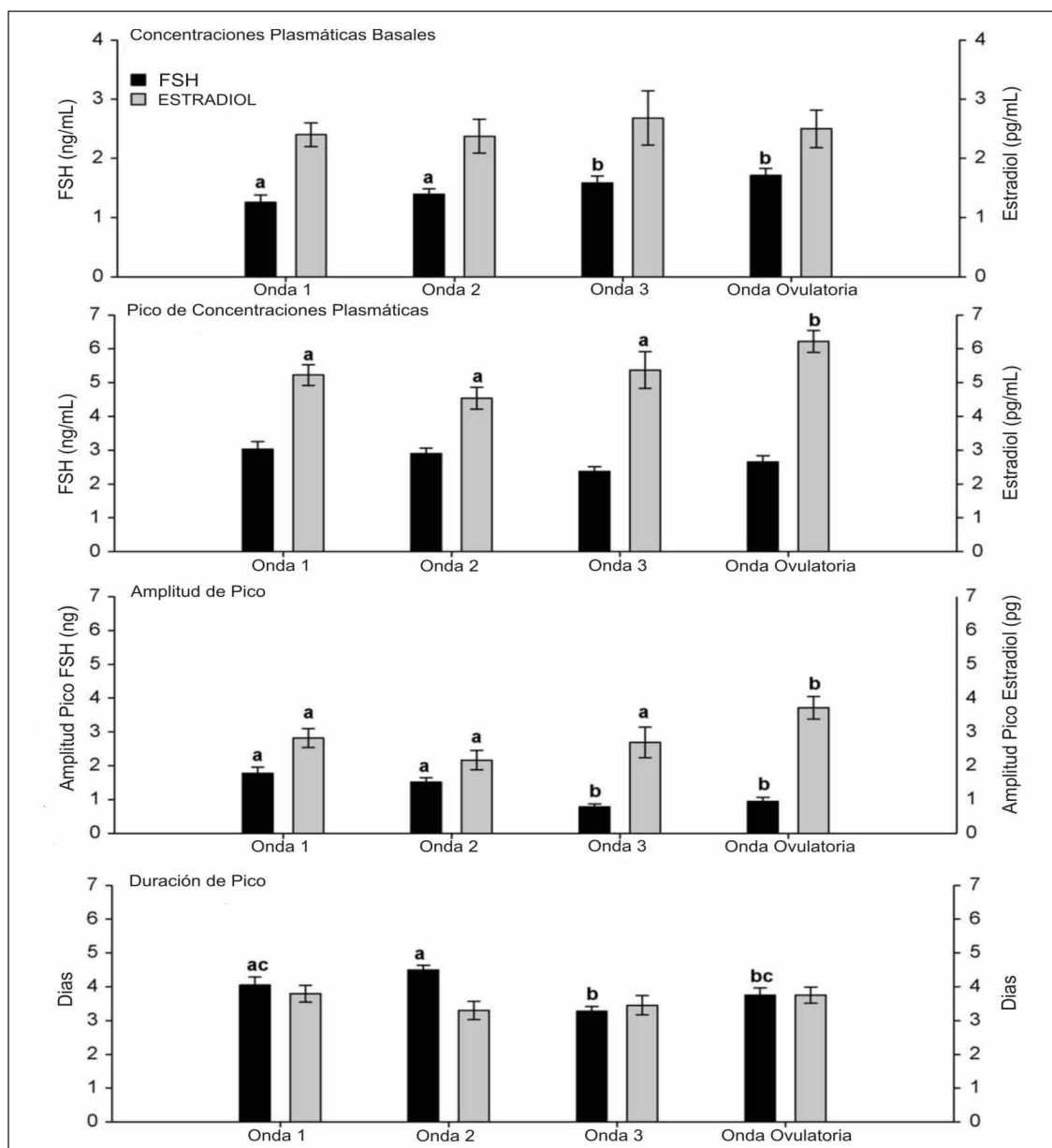


Figura 1. Comparación de las características de los picos en las concentraciones plasmáticas de Hormona Foliculo Estimulante (FSH) (barras negras) y Estradiol (barras grises) entre las diferentes ondas foliculares en el periodo interovulatorio de 19 ovejas Western White Face (Experimento 1). Los datos de las ondas foliculares 1 y 2 y de la onda ovulatoria en ovejas con tres (n=9) y cuatro (n=10) ondas foliculares en el periodo interovulatorio fueron retiradas del análisis. Los datos de la tercera onda folicular representan solo aquellas de animales con cuatro ondas foliculares en el periodo interovulatorio. a-c valores sin un superíndice común difieren (P<0,05; Adaptado 20).

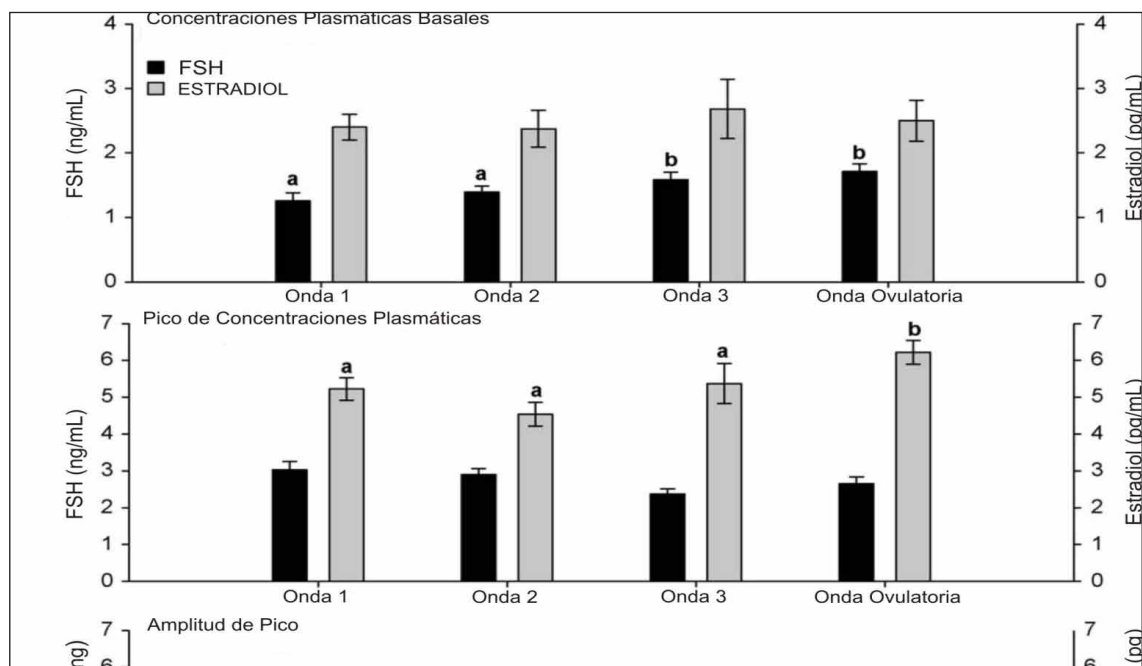


Figura 2. Picos de Hormona Folículo Estimulante (FSH) y desarrollo de los tres folículos dominantes (Promedio \pm SEM) durante 13 ciclos estrales bovinos con dos ondas foliculares. Los datos para cada onda fueron corregidos al día promedio del periodo interovulatorio donde el mayor folículo alcanzó 8,5 (inicio esperado de la desviación) OV-ovulación; FSH- Hormona Folículo Estimulante; LF-Folículo dominante (Adaptado de 22).

Dos días después del surgimiento de la onda folicular, decrece la concentración sanguínea de FSH y comienza la desviación folicular (14). Cuando el folículo dominante adquiere un diámetro de 8 a 10 mm en vacas (2,22) y de 3 a 5 mm en ovejas (2), expresa receptores de LH en las células de la granulosa y de la teca, y además, inicia la producción de inhibina y E_2 entre otros factores intrafoliculares (14,24,30,31); es en este momento cuando se transfiere la dependencia gonadotrópica del folículo de la FSH a la LH (1,30).

El patrón de secreción de la LH tiene tres características que se evidencian durante el ciclo estral. Dichas características son concentración, amplitud y frecuencia, las cuales varían durante el ciclo (24), ya que son altamente dependientes

de las concentraciones circulantes de P_4 y E_2 (32). Altas concentraciones de P_4 producidas por un cuerpo lúteo funcional suprimen la frecuencia de los pulsos de LH (33), mientras que la presencia de altas concentraciones de E_2 induce la liberación de Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) desde el hipotálamo, lo que resulta en un pico de LH (24), de amplitud y frecuencia suficiente para estimular la maduración final del folículo dominante y la posterior ovulación (1). El fenómeno de la ovulación es altamente variable entre razas y se presenta, aproximadamente, después del pico de LH a las 14 horas en ovejas (34); 26 a 28 horas en vacas (35) y 20 a 26 horas en cabras (36). Por este motivo, se toman como referencia en la Tabla 2 los valores presentados en las fases folicular y luteal durante el ciclo estral en ruminantes.

Tabla 2. Concentraciones plasmáticas de la Hormona Luteinizante (LH) durante las fases folicular y luteal del ciclo estral en hembras rumiantes domésticas.

Especie	Fase Folicular		Fase Luteal	
	Concentración de la LH (ng/mL)	Autor	Concentración de la LH (ng/mL)	Autor
Ovinos	0,5 - 5	(19,37,38)	0,2 - 0,7	(19,33,37,39)
Caprinos	4 - 15	(25,40)	0,05 - 1	(25,40,41,42)
Bovinos	6 - 10	(43,44)	0,05 - 0,4	(44,45,46,47)

Cabe resaltar que las concentraciones de la LH pueden variar ante ciertas situaciones, como la presencia del macho, principalmente en cabras, donde estimula la presentación de los pulsos e incrementa la concentración de esta hormona (41,42,48). Por otra parte, la frecuencia de los pulsos de la LH disminuye ante una alta concentración plasmática de P_4 durante la fase folicular, ya sea exógena (33,39) o endógena (43,49). Un pulso insuficiente de LH no estimula la ovulación ni el cambio en la dinámica celular intrafolicular, lo que puede provocar la formación de un quiste folicular (10,44,50). Por su parte, el E_2 también puede alterar la amplitud de la presentación del pulso de LH (49), que a su vez interfiere con la apropiada maduración y ovulación del folículo (51,52). Se sugiere entonces que la presentación del pico de la LH está determinada por la relación entre las concentraciones de P_4 y E_2 al momento de la inducción de dicho pico (44).

HORMONAS ESTEROIDEAS

El E_2 y la P_4 son hormonas esteroideas derivadas de un precursor común, el colesterol; el cual, en los folículos mayores, es catalizado y convertido a pregnenolona por la enzima P450 ($P450_{scc}$), localizada en el interior de la membrana mitocondrial celular (53). La pregnenolona posee dos residuos hidrofílicos, haciéndola más móvil a través de la célula que el colesterol. Lo anterior permite que la pregnenolona se

difunda fuera de la mitocondria hacia el retículo endoplasmático, donde es convertida a P_4 por la enzima 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β HSD) (54). La unión de la LH con sus receptores en las células de la teca conduce a la conversión de la P_4 a andrógenos, a través de una serie de reacciones catalíticas (55,56). Luego, los andrógenos se difunden a las células de la granulosa y son convertidos a estrona y E_2 por la acción de la enzima aromatasa ($P450_{arom}$) (53,57).

El aumento en la concentración periférica del E_2 es la característica principal del estro, la porción final de la fase folicular (14). El E_2 no solo tiene una acción local en los folículos ováricos, al favorecer el crecimiento de las células de la granulosa (3) y al influir sobre la actividad enzimática de la 3β -HSD (58), sino que también induce los cambios que se presentan en el tracto genital para facilitar el transporte espermático, la fertilización y la futura implantación del embrión (36). La secreción de sialomucina y sulfomucina, por parte de las células mucosas del cérvix, es estimulada por el E_2 , tornándola más líquida, de modo que sea fácilmente cruzada por los espermatozoides (15). Así mismo, el E_2 favorece la expresión de receptores para P_4 a nivel del útero y el istmo uterino (59). Además, ejerce un sistema de retroalimentación positivo sobre el eje hipotálamo-hipofisario, influyendo sobre la secreción de gonadotropinas, siendo responsable de la expresión del comportamiento estral, fundamental para la reproducción (15,24,36). Aunque la mayor cantidad circulante

de E_2 se presenta durante el estro, se puede observar que en hembras ovinas existen leves incrementos periódicos durante la fase luteal, unidos a los cambios en la población folicular (20,33,49,60,61). En la Tabla 3 se recopilan los valores reportados de E_2 durante el estro en hembras domésticas ruminantes.

Tabla 3. Concentraciones plasmáticas de Estradiol (E_2) durante la fase folicular del ciclo estral en hembras domésticas ruminantes.

Especie	Intervalos de concentración del pico de E_2 durante la fase folicular (pg/mL)	Autores
Ovinos	13 - 16	(33,49,62,63)
	5 - 7	(20,21,61,64)
Caprinos	22 - 28	(40)
	14 -15	(65,66)
	6 - 8	(28)
Bovinos	3 - 4	(43)
	2 - 3	(45,46,67)

Después de la ovulación, se da inicio a la fase luteal, el periodo más largo, ya que comprende aproximadamente el 80% del ciclo estral (14). En esta fase disminuye la concentración plasmática de E_2 , lo que resulta en la liberación de la acción luteotrófica de la LH (58), permitiendo que su pico luteinice las células de la teca y de la granulosa e inicie la formación del CL (68). Lo anterior es un proceso complejo, que involucra la remodelación del tejido estromal y vascular, y la transformación celular y bioquímica (69), favoreciendo la adquisición de las enzimas $P450_{sc}$ y 3β -HSD por parte de las células granulosas luteinizadas (54,70), lo que altera la esteroidogénesis al incrementar la biosíntesis de P_4 (54). El aumento inicial de la concentración plasmática de P_4 depende de la cantidad de tejido esteroideogénico y su capacidad de biosíntesis (69), lo que está relacionado con el tamaño del CL (71).

Dicho tamaño se incrementa a lo largo del desarrollo luteal, mediante el aumento de la vascularización, la hipertrofia de las células

de la granulosa luteinizadas y la hiperplasia de los fibroblastos del tejido conectivo (70). La tasa de crecimiento del CL es mayor en la etapa temprana de la fase luteal, donde el diámetro máximo se alcanza en bovinos, de 5 a 8 días después de la ovulación (54,71), y en ovejas y cabras, de 6 a 9 días (69,72). Después de los cuales, la concentración de P_4 presenta una fase estática, donde se mantiene constante hasta la regresión del CL (73). La actividad luteal se confirma cuando dos o más muestras consecutivas de plasma presentan concentraciones de P_4 superiores a 0,5 ng/mL en hembras caprinas (6) y a 1 ng/mL en hembras bovinas y ovinas (9,33,49), y se determina como el fin de la actividad luteal, cuando se encuentra la primera muestra con la concentración por debajo de esta línea base (6,33,49). Durante la preñez en hembras ruminantes domésticas, se observa que la concentración de P_4 se mantiene entre 5 y 15 ng/mL, aproximadamente (74,75,76,77). En la Tabla 4 se recopilan los valores reportados de P_4 durante el ciclo estral de hembras ruminantes domésticas.

Tabla 4. Concentraciones plasmáticas de Progesterona (P_4) durante el ciclo estral en hembras domésticas ruminantes.

Especie	Intervalos de concentración de P_4 (ng/mL)/ días del ciclo estral					Autores
	0 - 2	3 - 5	6 - 12	13 - 16	17 - 21	
Ovinos	0,5 - 1	2- 4	5 - 7	1 - 3		(33,39,49,61,78)
Caprinos	0,5 - 1	2 - 4	5 - 8	8	0,5 - 1	(25,41,66,72,79)
Bovinos	0,5 - 2	2	3 - 6	7 - 12	1 - 5	(46,47,71,80,81)

La P_4 tiene como blanco, principalmente, el eje hipotálamo-hipofisario y el tracto reproductivo (69), donde actúa después de unirse a su receptor intracelular específico (PR) (82). En los tejidos ováricos se han reportado PR, donde la P_4 contribuye con la angiogénesis folicular esencial para el desarrollo del folículo preovulatorio (83). En el útero, induce la quietud del miometrio, bloqueando el efecto inductor de receptores α -adrenérgicos del E_2 , cuya estimulación causa contracciones (69,84). La P_4 también promueve la proliferación de las células del endometrio para soportar la implantación del embrión y el desarrollo a término del feto (11,12,13,36). Este último, al elongarse, secreta interferón-tau (IFNt), lo que impide la expresión de receptores de E_2 y oxitocina, y por lo tanto, interfiere con los pulsos endometriales de $PGF_{2\alpha}$ responsables de desencadenar la luteólisis (11).

Aunque varios factores han sido implicados en las pérdidas embrionarias y fetales, la concentración de P_4 es la principal implicada en este desorden reproductivo (Figura 3,85). Los periodos más susceptibles de muerte embrionaria relacionada con la concentración de P_4 son: hasta 6 días después de la fertilización, cuando existen folículos persistentes a causa de bajas concentraciones de P_4 (86); entre los días 4 y 9 después de la fertilización, ya que si la P_4 no estaba presente durante el estro, el útero no cuenta con PR y hay excesiva circulación de $PGF_{2\alpha}$, lo que es embriotóxico y luteolítico (11,76); entre los días 14 y 17, falla el reconocimiento materno cuando la concentración de P_4 es baja y están presentes altos niveles de E_2 (85,87); y

entre los 28 y 42 días, la baja concentración de P_4 no favorece la placentación en progreso (88). Como las pérdidas embrionarias constituyen un problema en las explotaciones productivas (85), se ha buscado identificar los animales susceptibles mediante la determinación de sus perfiles sanguíneos de P_4 (76), ya que se han asociado dichos perfiles con una fase folicular corta y con un tiempo correcto de luteinización post-ovulación, lo que permite un adecuado mantenimiento de la preñez (89,90).

TÉCNICAS DE DETERMINACIÓN HORMONAL

Con el fin de poder establecer los perfiles hormonales en sangre, se han venido desarrollando múltiples técnicas de determinación como son el radioinmunoensayo (RIA), el inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA), el inmunoensayo de fluorescencia con resolución temporal (TRFI), el inmunoensayo de polarización fluorescente (FPI) y el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) (12). Estas técnicas emplean un aglutinante y un ligando, donde la cuantificación de una sustancia depende tanto de la saturación progresiva de un aglutinante específico para ella, como de la determinación de la distribución de sus fases unidas y libres (91). Esto se realiza empleando un sistema indicador de la unión, ya sea por fluorescencia (inmunofluorescencia), radioactividad (RIA) o por enzimas (ELISA) (92). Aunque CLIA y TRFI son más sensibles, no son prácticos para su uso en diagnóstico clínico, por

lo que las técnicas de ELISA y RIA son las más empleadas (12). La técnica de RIA se basa en la competencia, entre una hormona marcada con una no marcada, por un limitado número de sitios de unión en la molécula del anticuerpo (Ac), para lo cual se hacen reaccionar cantidades conocidas del Ac con cantidades conocidas de la hormona marcada con el isótopo marcador, variando solamente las concentraciones de la sustancia (hormona) presente en la muestra a analizar (93). Una vez transcurrido el tiempo óptimo de incubación para el ensayo, se separan las partes unidas y libres, generalmente mediante un lavado (94), y se realiza la determinación de la radioactividad residual en un equipo especialmente diseñado o contador de centelleo, de manera que a mayor radioactividad residual, es menor la concentración de la hormona en la muestra estudiada (91).

Por su parte, la técnica de ELISA consiste en la detección y cuantificación tanto de Ac como de antígenos (Ag). Utiliza placas de poliestireno con múltiples pocillos que se tapizan con el Ag o con el Ac. La reacción se revela añadiendo el sustrato, que al actuar sobre la enzima del conjugado da lugar a un color visible. La intensidad de dicho color es cuantificable mediante un colorímetro especial o lector de ELISA, el cual entrega la concentración de la hormona en cuestión (94). En la Tabla 5 se recopilan los datos de sensibilidad obtenidos en diferentes experimentos mediante las técnicas anteriormente relacionadas, donde se determinaron las concentraciones de las hormonas reproductivas en hembras domésticas ruminantes de importancia zootécnica mediante las técnicas anteriormente mencionadas.

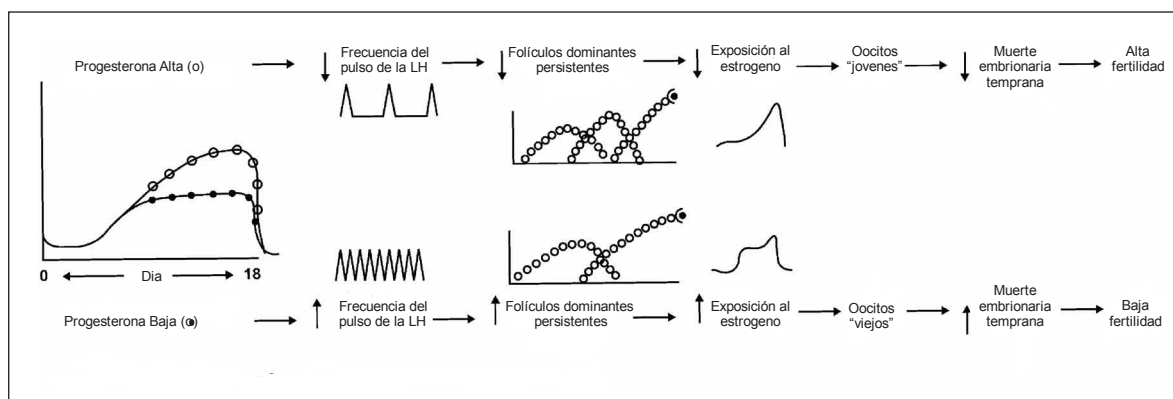


Figura 3. Efectos de los patrones de desarrollo folicular en la fertilidad de la vaca. LH- Hormona Luteinizante (Adaptado de 88).

CONCLUSIÓN

Como se puede observar, la concentración plasmática de cada hormona reproductiva es fundamental para el correcto desarrollo de su función, ya que una variación en alguna de ellas puede afectar el ciclo reproductivo. Por lo tanto, es importante conocer las concentraciones hormonales durante las diferentes fases del ciclo estral, con el fin de realizar diagnósticos que determinen la etiología de un problema

reproductivo. Por otra parte, la importancia de las determinaciones hormonales en los protocolos de sincronización radica en la necesidad de realizar tratamientos hormonales, que aseguren las concentraciones necesarias de dichas hormonas, para el desarrollo de folículos sanos, producto de una ovulación sincronizada y de promedios aceptables de preñez, que se traduzcan en un óptimo desempeño reproductivo.

Tabla 5. Hormonas de importancia reproductiva en hembras rumiantes utilizando diferentes ensayos con sus respectivas sensibilidades.

HORMONA	ESPECIE	TÉCNICA	SENSIBILIDAD	AUTOR
Hormona Folículo Estimulante	<i>Bos indicus</i>	RIA	66 pg/mL	26
			0,01 ng/mL	27
	<i>Bos taurus</i>	RIA	0,18 ng/mL	28
			0,01 ng/mL	29
			Caprinos	RIA
Ovinos	RIA	0,1 ng/mL	19,20,21	
Hormona Luteinizante	Bovinos	RIA	0,3 ng/mL	44
			0,04 ng/mL	45
	Caprinos	RIA	0,06 ng/mL	46,47
			0,3 ng/mL	40
			0,51 ng/mL	25
			0,06 ng/mL	41
			0,03 ng/mL	42
			0,1 ng/mL	19, 37
	Ovinos	RIA	0,3 µg/mL	33, 39
	Estrógeno	Bovinos	RIA	0,31 pg/mL
0,5 ng/mL				43
Caprinos		RIA	0,2 pg/mL	45, 46, 67
			5 pg/mL	40
			5,45 pg/mL	65
			8 pg/mL	66
			1 pg/mL	20, 21, 63
Ovinos		RIA	8 pg/mL	33, 49
			0,5 ng/mL	61
		ELISA	0,4 pg/mL	64
Progesterona	Bovinos	RIA	0,3 ng/mL	71
			0,03 ng/mL	80
			0,01 ng/mL	46
			0,02 ng/mL	47
	Caprinos	ELISA	0,35 ng/mL	81
			0,05 ng/mL	25
			0,1 ng/mL	41, 66, 79
			0,02 ng/mL	72
			0,1 ng/mL	33, 39, 78
			0,01 ng/mL	49
Ovinos	RIA	0,03 ng/mL	61	

BIBLIOGRAFÍA

1. Webb R., Armstrong DG. Control of ovarian function; effect of local interactions and environmental influences on follicular turnover in cattle: a review. *Livest Prod Sci* 1998; 53:95-112.
2. Hunter MG, Robinson RS, Mann GE, Webb, R. Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Anim Reprod Sci* 2004; 82-83:461-77.
3. Fortune J. The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Anim Reprod Sci* 2003; 78:135-63.
4. Webb R, Garnsworthy PC, Gong JG, Armstrong DG. Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. *J Anim Sci* 2004; 82E-Suppl: E63-E74.
5. De Santiago-Miramontes MA, Malpaux B, Delgadillo JA. Body condition is associated with a shorter breeding season and reduced ovulation rate in subtropical goats. *Anim Reprod Sci* 2009; 114:175-82.
6. Zarazaga LA, Gatica MC, Celi I, Guzmán JL, Malpaux B. Artificial long days and daily contact with bucks induce ovarian but not oestrous activity during the non-breeding season in Mediterranean goat females. *Anim Reprod Sci* 2011; 125:81-7.
7. Quirk SM, Cowan G, Harman RM, Hu CL, Porter DA. Ovarian follicular growth and atresia: the relationship between cell proliferation and survival. *J Anim Sci* 2004; 82E-Suppl: E40-E52.
8. Berisha B, Schams D. Ovarian function in ruminants. *Domest Anim Endocrinol* 2005; 29: 305-17.
9. Adams GP, Jaiswal R, Singh J, Malhi P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 2008; 69: 72-80.
10. Salvetti NR, Stangaferro ML, Palomar MM, Alfaro NS, Rey F, Gimeno EJ, et al. Cell proliferation and survival mechanisms underlying the abnormal persistence of follicular cysts in bovines with cystic ovarian disease induced by ACTH. *Anim Reprod Sci* 2010; 122:98-110.
11. Spencer TE, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim Reprod Sci* 2004; 82-83:537-50.
12. Basu A, Shrivastav TG, Maitra SK. A direct antigen heterologous enzyme immunoassay for measuring progesterone in serum without using displacer. *Steroids* 2006; 71:222-30.
13. Igwebuike UM. A review of uterine structural modifications that influence conceptus implantation and development in sheep and goats. *Anim Reprod Sci* 2009; 112:1-7.
14. Peter AT, Levine H, Drost M, Bergfelt DR. Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. *Theriogenology* 2009; 71; 1343-57.
15. Roelofs J, López-Gatius F, Hunter RHF, Van Eerdenburg FJCM, Hanzen C. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology* 2010; 74:327-44.
16. Bernard DJ, Fortin J, Wang Y, Lamba P. Mechanisms of FSH synthesis: what we know, what we don't, and why you should care. *Fertil Steril* 2010; 93:2465-85.
17. Kaiser UB. Gonadotropin Hormones. En: Shlomo M, ed. *The Pituitary*. Londres: ELSEVIER Inc; 2011. p. 205-260.
18. Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. An ultrasound-aided study of temporal relationships between the patterns of LH/FSH secretion, development of ovulatory-sized antral follicles and formation of corpora lutea in ewes. *Theriogenology* 2000; 54:229-45.

19. Zeleznik AJ. The physiology of follicle selection. *Reprod Biol Endocrinol* 2004; 2:31.
20. Toosi BM, Seekallu SV, Barrett DMW, Davies KL, Duggavathi R, Bagu ET, et al. Characteristics of peaks in serum concentrations of follicle-stimulating hormone and estradiol, and follicular wave dynamics during the interovulatory interval in cyclic ewes. *Theriogenology* 2010; 73:1192-201.
21. Seekallu SV, Toosi BM, Duggavathi R, Barrett DMW, Davies KL, Waldner C, et al. Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: comparison among estrous cycles with three or four follicular waves. *Theriogenology* 2010; 73: 670-80.
22. Ginther OJ, Beg MA, Bergfelt DR, Donadeu FX, Kot K. Follicle Selection in Monovular Species. *Biol Reprod* 2001; 65:638-47.
23. Butler ST, Pelton SH, Knight PG, Butler WR. Follicle-stimulating hormone isoforms and plasma concentrations of estradiol and inhibin A in dairy cows with ovulatory and non-ovulatory follicles during the first postpartum follicle wave. *Domest Anim Endocrinol* 2008; 35:112-9.
24. Forde N, Beltman ME, Lonergan P, Diskin M, Roche JF, Crowe MA. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Anim Reprod Sci* 2011; 124:163-9.
25. Suganuma C, Kuroiwa T, Tanaka T, Kamomae H. Changes in the ovarian dynamics and endocrine profiles in goats treated with a progesterone antagonist during the early luteal phase of the estrous cycle. *Anim Reprod Sci* 2007; 101:285-94.
26. Buratini J, Price C, Visintin JA, Bo GA. Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (BST) on ovarian follicular development in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Theriogenology* 2000; 54(3):421-31.
27. Castilho C, Garcia JM, Renesto A, Nogueira GP, Brito LFC. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Anim Reprod Sci* 2007; 98:189-96.
28. Kulick LJ, Kot K, Wiltbank MC, Ginther OJ. Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. *Theriogenology* 1999; 52:913-21.
29. Lane E, Sweeney T, Ryan M, Roche JF, Crowe M. Relationship between serum gonadotropins and pituitary immunoreactive gonadotropins and steroid receptors during the first FSH increase of the estrous cycle and following steroid treatment in heifers. *Anim Reprod Sci* 2009; 112:66-82.
30. Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. Selection of the Dominant Follicle in Cattle. *Biol Reprod* 1996; 55:1187-94.
31. Beg MA, Ginther OJ. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. *Reproduction* 2006; 132: 365-77.
32. Duggavathi R, Bartlewski PM, Barrett DMW, Rawlings NC. The temporal relationship between patterns of LH and FSH secretion, and development of ovulatory-sized follicles during the mid- to late-luteal phase of sheep. *Theriogenology* 2005; 64:393-407.
33. Uribe-Velásquez LF, Souza MIL, Correa-Orozco A. Efecto de las altas concentraciones de progesterona durante la fase luteal temprana sobre la secreción de LH y estradiol en ovejas. *Rev Vet Zoot* 2011 (en prensa).
34. Bartlewski PM, Baby TE, Giffin JL. Reproductive cycles in sheep. *Anim Reprod Sci* 2011; 12:259-68.
35. Sartori R, Barros CM. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 2011; 124: 244-50.
36. Fatet A, Pellicer-Rubio MT, Leboeuf B. Reproductive cycle of goats. *Anim Reprod Sci* 2011; 124:211-219.

37. Seekallu SV, Toosi BM, Zeigler A, Rawlings NC. Effects of estradiol and progesterone on circulating LH and FSH secretion, and ovarian antral follicle growth in anestrus ewes. *Small Rumin Res* 2010b; 91:178-85.
38. Rawlings NC, Cook SJ. LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. *Anim Reprod Sci* 1993; 30(4):289-99.
39. Uribe-Velásquez LF, Oba E, Souza MIL. Efeitos da progesterona exógena sobre o desenvolvimento folicular em ovelhas. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2008a; 60(1):58-65.
40. Leyva-Ocariz H. Serum LH, FSH, estradiol-17 β and progesterone profiles of native and crossbred goats in a tropical semiarid zone of Venezuela during the estrous cycle. *Anim Reprod Sci* 1995; 39:49-58.
41. Hawken PAR, Esmaili T, Jorre de St Jorre T, Martin GB. Do cyclic female goats respond to males with an increase in LH secretion during the breeding season? *Anim Reprod Sci* 2009; 112: 384-9.
42. Alvarez L, Ramos AL, Zarco L. The ovulatory and LH responses to the male effect in dominant and subordinate goats. *Small Rumin Res* 2009; 83:29-33.
43. Robinson RS, Hunter MG, Mann GE. Supra-basal progesterone concentrations during the follicular phase are associated with development of cystic follicles in dairy cows. *Vet J* 2006; 172: 340-6.
44. Hatler TB, Hayes SH, Ray DL, Reames PS, Silvia WJ. Effect of subluteal concentrations of progesterone on luteinizing hormone and ovulation in lactating dairy cows. *Vet J* 2008; 177: 360-8.
45. Ginther OJ, Shrestha HK, Beg M. Circulating hormone concentrations within a pulse of a metabolite of prostaglandin F_{2a} during preluteolysis and early luteolysis in heifers. *Anim Reprod Sci* 2010; 122: 253-8.
46. Ginther OJ, Fuenzalida MJ, Shrestha HK, Beg MA. Concomitance of luteinizing hormone and progesterone oscillations during the transition from preluteolysis to luteolysis in cattle. *Domest Anim Endocrinol* 2011; 40: 77-86.
47. Ginther OJ, Fuenzalida MJ, Pugliesi G, Hannan M, Beg M. Effect of luteinizing hormone oscillations on progesterone concentrations based on treatment with a gonadotropin-releasing hormone antagonist in heifers. *Domest Anim Endocrinol* 2011b; 40:119-27.
48. Bedos M, Flores J, Fitz-Rodríguez G, Keller M, Malpoux B, Poindron P, Delgadillo J. Four hours of daily contact with sexually active males is sufficient to induce fertile ovulation in anestrus goats. *Horm Behav* 2010; 58:473-7.
49. Uribe-Velásquez LF, Vélez-Marín M, Correa-Orozco A. Concentraciones plasmáticas de las hormonas esteroides y de LH en respuesta a la administración de prostaglandinas en ovejas Bergamacia. *Rev Cient FCV-LUZ* 2010; 20(5):512-8.
50. Hatler TB, Hayes SH, Anderson LH, Silvia WJ. Effect of a single injection of progesterone on ovarian follicular cysts in lactating dairy cows. *Vet J* 2006; 172:329-33.
51. Veiga-Lopez A, Gonzalez-Bulnes A, Tresguerres JAF, Dominguez V, Ariznavarreta C, Cocero, M.J. Causes, characteristics and consequences of anovulatory follicles in superovulated sheep. *Domest Anim Endocrinol* 2006; 30:76-87.
52. Bishop CV, Stormshak F. Non-genomic actions of progesterone and estrogens in regulating reproductive events in domestic animals. *Vet J* 2008; 176(3):270-80.
53. Payne AH, Hales DB. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. *Endocr Rev* 2004; 25: 947-70.

54. Díaz FJ, Anderson LE, Wu YL, Rabot A, Tsai SJ, Wiltbank MC. Regulation of progesterone and prostaglandin F2alpha production in the CL. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 191:65-80.
55. Liu YX, Hsueh AJ. Synergism between granulosa and theca-interstitial cells in estrogen biosynthesis by gonadotropin-treated rat ovaries: studies on the two-cell, two-gonadotropin hypothesis using steroid antisera. *Biol Reprod* 1986; 35:27-36.
56. Svechnikov K, Söder O. Ontogeny of gonadal sex steroids. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008; 22:95-106.
57. Young JM, McNeilly AS. Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction* 2010; 140:489-504.
58. Guo IC, Wu LS, Lin JH, Chung BC. Differential inhibition of progesterone synthesis in bovine luteal cells by estrogens and androgens. *Life Sci* 2001; 68:1851-65.
59. Valle GR, Cassali GD, Nogueira JC, Castro ACS, Reis AM, Cardoso FM, et al. Nuclear estrogen and progesterone receptors in the oviduct of heifers under natural and superovulated estrous cycles. *Anim Reprod Sci* 2007; 101:28-37.
60. Souza MIL, Uribe-Velásquez LF, Oba E, Gomes de Sa Filho O, De Amorim Ramos A. Secreção de esteóides ovarianos, em ovelhas mestiças de raças exploradas para corte, em distintos momentos reproductivos, no estado de Sao Paulo. *Ciência Animal Brasileira* 2008; 9(4):1107-13.
61. Letelier C, Contreras-Solis I, García-Fernández RA, Sánchez MA, García-Palencia P, Sánchez B. Effects of oestrus induction with progestagens or prostaglandin analogues on ovarian and pituitary function in sheep. *Anim Reprod Sci* 2011; 126: 61-9.
62. Joseph IBJK, Currie WD, Ravindra JP, Cook SJ, Rawlings NC. Oestradiol and the surge release of gonadotrophins in the ewe. *Anim Reprod Sci* 1994;34(3-4):217-30. Joseph IBJK, Ravindra JP, Rawlings NC. Oestradiol and the preovulatory surges of luteinising hormone and follicle stimulating hormone in ewes during the breeding season and transition into anoestrus. *Anim Reprod Sci* 1995; 40(4):291-8.
62. Shabankareh HK, Habibizad J, Sarsaifi K, Cheghamirza K, Jasemi VK. The effect of the absence or presence of a corpus luteum on the ovarian follicular population and serum oestradiol concentrations during the estrous cycle in Sanjabi ewes. *Small Rumin Res* 2010; 93: 180-5.
63. Błaszczuk B, Udała J, Gączarzewicz D. Changes in estradiol, progesterone, melatonin, prolactin and thyroxine concentrations in blood plasma of goats following induced estrus in and outside the natural breeding season. *Small Rumin Res* 2004; 51:209-19.
64. Uribe-Velásquez LF, Souza MIL, Osorio JH. Resposta ovariana de cabras submetidas a implantes de progesterona seguidos de aplicações de gonadotrofina coriônica equina. *R Bras Zootec* 2010; 39(6):1214-22.
65. Ginther OJ, Fuenzalida MJ, Shrestha HK, Beg M.A. The transition between preluteolysis and luteolysis in cattle. *Theriogenology* 2011; 75: 164-71.
66. Robker R, Richards J. Hormone-induced proliferation and differentiation of granulosa cells: a coordinated balance of the cell cycle regulators cyclin D2 and p27Kip1. *Mol Endocrinol* 1998; 12:924-40.
67. Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev* 2000; 80:1-29.
68. Sangha GK, Sharma RK, Guraya SS. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Rumin Res* 2002; 43:53-64.

69. Mann GE. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. *Anim Reprod Sci* 2009; 115:296-9.
70. Arashiro EK, Fonseca JF, Siqueira LGB, Fernandes CA, Brandao FZ, Oba E, Viana JH. Assessment of luteal function in goats by ultrasonographic image attribute analysis. *Small Rumin Res* 2010; 94:176-9.
71. Rekawiecki R, Nowocin A, Kotwica J. Relationship between concentrations of progesterone, oxytocin, noradrenaline, gene expression and protein level for their receptors in corpus luteum during estrous cycle in the cow. *Prostaglandins Other lipid mediat* 2010; 92:13-8.
72. Ishwar AK. Pregnancy diagnosis in sheep and goats : a review. *Small Rumin Res* 1995; 17: 37-44.
73. Henao G, Trujillo E. Dinámica folicular y función lútea durante la gestación temprana. Estudio de un caso en *Bos indicus*. *Rev Fac Nal Agr Medellin* 2003; 56:1779-88.
74. DeNicolo G, Parkinson TJ, Kenyon PR, Morel PCH, Morris ST. Plasma progesterone concentrations during early pregnancy in spring- and autumn-bred ewes. *Anim Reprod Sci* 2009; 111:279-88.
75. Ganaie BA, Khan MZ, Islam R, Makhdoomi DM, Qureshi S, Wani GM. Evaluation of different techniques for pregnancy diagnosis in sheep. *Small Rumin Res* 2009; 85:135-41.
76. Uribe-Velásquez LF, Oba E, Souza MIL. Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P4) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. *Arch Med Vet* 2008; 40:83-8.
77. Menchaca A, Rubianes E. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. *Theriogenology* 2001; 57:1411-19.
78. DosSantos RM, Goissis MD, Fantini DA, Bertan CM, Vasconcelos JLM, Binelli M. Elevated progesterone concentrations enhance prostaglandinF2alpha synthesis in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2009; 114:62-71.
79. Lüttgenau J, Ulbrich SE, Beindorff N, Honnens A, Herzog K, Bollwein H. Plasma progesterone concentrations in the mid-luteal phase are dependent on luteal size, but independent of luteal blood flow and gene expression in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2011; 125:20-9.
80. D'Haeseleer M, Simoens P, Van den Broeck W. Cell-specific localization of progesterone receptors in the bovine ovary at different stages of the oestrous cycle. *Anim Reprod Sci* 2007; 98:271-81.
81. Shimizu T, Miyamoto A. Progesterone induces the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) 120 and Flk-1, its receptor, in bovine granulosa cells. *Anim Reprod Sci* 2007; 102: 228-37.
82. Jenkin G, Young IR. Mechanisms responsible for parturition; the use of experimental models. *Anim Reprod Sci* 2004; 82-83:567-81.
83. Morris D, Diskin M. Effect of progesterone on embryo survival. *Animal* 2008; 2:1112-19.
84. Lüttgenau J, Beindorff N, Ulbrich SE, Kastelic JP, Bollwein H. Low plasma progesterone concentrations are accompanied by reduced luteal blood flow and increased size of the dominant follicle in dairy cows. *Theriogenology* 2011; 76:12-22.
85. Humblot, P. Monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology* 2001; 56:1417-33.
86. Inskeep E.K. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *J Anim Sci* 2004; 82E-Suppl: E24-E39.

87. Garmo RT, Martin AD, Thuen E, Havrevoll Ø, Steinshamn H, Prestløkken E, et al. Characterization of progesterone profiles in fall-calving Norwegian Red cows. *J Dairy Sci* 2009; 92: 4919-28.
88. Gorzecka J, Codrea MC, Friggens NC, Callesen H. Progesterone profiles around the time of insemination do not show clear differences between of pregnant and not pregnant dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2011; 123:14-22.
89. Ramírez NL. El uso del radioinmunoanálisis (RIA) para el mejoramiento de la eficiencia reproductiva. *Mundo Pecuario* 2009; 5:01-13.
90. Matamoros R, Gómez C, Andaur M. Hormonas de utilidad diagnóstica en Medicina Veterinaria. *Arch Med Vet* 2002; 34(2):167-82.
91. Karir T, Samuel G, Sivaprasad N, Venkatesh M. Comparative evaluation of various solid phases for the development of coated tube assays for the estimation of progesterone in human serum, bovine serum and bovine milk. *Appl Radiat Isot* 2009; 67: 1965-73.
92. Gómez E, Duato L, Domínguez G, Doménech A, Gómez M, Gutiérrez B. Compendio de guiones para clases teóricas en la asignatura Inmunología en Veterinaria III: técnicas inmunológicas. *Reduca* 2011; 3:94-121.

ACTUALIZACIÓN EN EL FUNCIONAMIENTO DE LA GLÁNDULA TIROIDES EN EL GATO DOMÉSTICO

SEGUNDA PARTE: HIPERTIROIDISMO FELINO

José Henry Osorio¹
Stefania Matheus²

RESUMEN

Objetivo. Actualizar conceptos sobre hipertiroidismo felino. **Materiales y métodos.** Se analizó la literatura disponible de los últimos 50 años en las bases de datos BBCS-LILACS, Fuente Académica, IB-PsycINFO, IB-SSCI, IB-SciELO, Scopus y Scirus, al igual que artículos históricos, textos y referencias citadas en trabajos públicos. **Resultados.** Se obtuvo información pertinente relacionada con los objetivos propuestos en la presente revisión, por lo cual puede clasificarse en 5 secciones a saber: etiología, fisiopatología, signos clínicos, diagnóstico y manejo. **Conclusión.** El hipertiroidismo felino es una enfermedad debida a concentraciones circulantes excesivas de T4, T3 o ambas. Es el trastorno endocrino más frecuente en el gato doméstico y afecta aproximadamente a 1 de cada 300 gatos, presentando complicaciones multisistémicas. Actualmente existen tratamientos médicos y quirúrgicos. El tratamiento médico es una alternativa conservadora que teniendo las instalaciones adecuadas tiene una efectividad de 90%, sin embargo dependiendo de la etiología de la enfermedad puede ser de mayor eficacia la tiroidectomía, por ejemplo en el caso de los tumores.

Palabras clave: hormonas, tiroides, gatos.

UPDATE IN DOMESTIC CAT THYROID GLAND FUNCTIONING SECOND PART: FELINE HYPERTHYROIDISM

ABSTRACT

Objective. To update concepts related to feline hyperthyroidism. **Materials and methods.** Information from available literature from the last 50 years including the BBCS-LILACS, Fuente Académica, IB-PsycINFO, IB-SSCI, IB-SciELO, Scopus and Scirus, databases as well as historical articles, texts and references cited in published papers was analyzed. **Results.** Pertinent information related to the objectives proposed in the present review was obtained and it can be classified in five sections as follows: etiology, physiopathology, clinical signs, diagnosis and management. **Conclusion.** Feline hyperthyroidism is a disease caused by high levels of circulating T4, T3 or both. It is the most common endocrine disorder in domestic cats and affects approximately 1 in 300 cats showing multisystem complications. Currently, there are both medical and surgical treatments. Medical therapy is a conservative alternative which given the appropriate facilities has an effectiveness of 90%. However, depending on the etiology of the disease, thyroidectomy may be more effective for example in the case of tumors.

Key words: hormones, thyroid, cats.

¹ Laboratorio de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Universidad de Caldas. Correo electrónico: jose.osorio_o@ucaldas.edu.co

² Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas.

INTRODUCCION

Se habló de hipertiroidismo felino por primera vez en 1979 y 1980 en la ciudad de Nueva York y Boston, y en las últimas décadas del siglo XX se convirtió en la enfermedad endocrina más común en los gatos, sin embargo en los países en vía de desarrollo no es tan notable la presencia de esta patología en el gato doméstico. Se cree que una de las razones es que los profesionales apenas son conscientes y tienen mayor conocimiento sobre la enfermedad, y que cada vez aumenta el número de gatos como mascota, al igual que la longevidad de los mismos; haciendo esto que cada vez se diagnostique en una mayor proporción esta patología clínica (1). La prevalencia en los hospitales de los Estados Unidos de Norteamérica se ha incrementado desde 0.06% en el periodo comprendido entre 1978-1982 hasta 0.3% en el periodo de 1993-1997 y sobre 20 años de prevalencia en un 2.1%. (2). El hipertiroidismo (tirotoxicosis) es un trastorno multisistémico debido a concentraciones circulantes excesivas de T4, T3 o ambas. Es el trastorno endocrino más frecuente en el gato doméstico (3-5). Afecta aproximadamente 1 de cada 300 gatos, con complicaciones como falla cardíaca, hipertensión y enfermedad renal crónica, el intervalo de edad es entre los 4 y 20 años; sin embargo, se han reportado casos desde los 8 meses de edad (3,6).

ETIOLOGÍA

La causa más frecuente del hipertiroidismo felino es la hiperplasia adenomatosa funcional (adenoma) con afectación de uno o ambos lóbulos tiroideos, sólo un porcentaje menor al 5% de los gatos con hipertiroidismo presenta adenocarcinomas malignos (5, 6). En aproximadamente el 70% de los gatos con hipertiroidismo, ambos lóbulos tiroideos se encuentran aumentados de tamaño, mientras que en el porcentaje restante sólo se observa un lóbulo agrandado (1, 7). Cuando se encuentra el tejido adenomatoso hiperplásico

de la glándula tiroides o de los nódulos, estos funcionan y secretan hormonas tiroideas de forma autónoma, produciendo tiroxina (T4) de forma excesiva, lo cual suprime la secreción de tirotropina (hormona estimulante de la tiroides (TSH)). Para conocer el origen de esta patología se puede realizar la prueba de estimulación de la hormona liberadora de tirotropina (TRH) o la prueba de supresión de triyodotironina (T3)(1, 8). En ocasiones se detecta un hipertiroidismo yatrógeno secundario a una suplementación excesiva con hormona tiroidea (6,11). Se ha propuesto que factores inmunológicos (inmunoglobulinas), factores nutricionales (yodo y bociógenos) o factores genéticos (mutaciones en genes de proteínas) pueden interactuar para alterar patológicamente la glándula tiroides desencadenando el hipertiroidismo en los gatos (1).

Autoinmunidad tiroidea: Esta posible causa de hipertiroidismo se comienza a estudiar basándose en la presentación bilateral de la hiperplasia tiroide, lo cual es un rasgo característico de la enfermedad de Graves, que es la causa más común de hipertiroidismo en humanos (1,6). Esta enfermedad es un trastorno autoinmunitario en el que los anticuerpos circulantes (inmunoglobulinas estimulantes de la tiroides (TSI)), se unen a los receptores de TSH imitando la acción de la TSH, de modo que se producen y secretan hormonas tiroideas en enormes cantidades. De igual forma las TSI son las que crean la hiperplasia tiroidea ya que estimulan el crecimiento de los tirocitos (1,10). Sin embargo, se realizó un experimento donde se determinaron las concentraciones intracelulares de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) en las células tiroideas funcionales de ratas Fisher incubadas con IgG extraída de suero de gatos con hipertiroidismo, y no se evidenció un aumento en las concentraciones de cAMP intracelular en las células de las ratas que fueron incubadas con IgG de gatos hipertiroideos en comparación con las IgG provenientes de gatos normales (10). Aunque esto no descarta por completo la teoría

ya que podría ser que los posibles activadores celulares del suero felino sólo sean activos sobre células felinas (1,8). Además se descarta la posibilidad de una etiología inmunológica debido a otros estudios realizados; entre ellos el más relevante es uno en el cual se clonó el TSH felino y se transfirió a una línea celular embrionaria de riñón, donde se esperaba que, como en los humanos con enfermedad de Graves, se activara la transducción de señal del cAMP por la actividad de la luciferasa. En este caso se utilizó suero o IgG purificada de 16 gatos con hipertiroidismo y no se observó activación alguna por parte de los sueros o IgG de estos gatos, lo cual sugiere la ausencia de autoanticuerpos estimulantes (1,8).

Factores epidemiológicos y nutricionales: se ha determinado que es menos probable la presentación de hipertiroidismo en las razas puras, entre ellas el Siamés el Himalayo, lo cual sugiere que el componente genético juega un rol importante dentro de ésta patología (11,12). La exposición a algunos agentes químicos ambientales como plaguicidas y herbicidas, al igual que productos químicos que se utilizan en los gatos entre ellos preparaciones tópicas contra parásitos, han demostrado ser un factor predisponente al desarrollo de esta patología (1,13). Entre estos agentes encontramos también los metales pesados (mercurio) e hidrocarburos clorados (bifenoles policlorados), componentes del humo de cigarrillo, desinfectantes, desodorizantes y componentes de manufactura como son los ftalatos, componentes policíclicos aromáticos, fenoles y dioxinas (11,14). Algunos estudios han determinado que la arena comercial para gatos puede aumentar el riesgo de hipertiroidismo ya que todas pueden contener agentes bociógenos, sin embargo se asocia que este factor es algo genérico pues todos los gatos de interior tienen un mayor cuidado y por lo tanto mayor expectativa de vida, pudiendo llegar más fácilmente a una edad avanzada donde se promueve la enfermedad (1,13). De igual forma la comida enlatada parece ser un factor predisponente y se

atribuye a sabores determinados como hígado, vísceras y pescado, ya que por lo general son productos que contienen concentraciones de yodo muy superiores a las requeridas por los gatos (6,14). También se incrimina a las latas abrefácil, las cuales vienen revestidas con plástico en el interior, este plástico contiene el compuesto polifenólico bisfenol A (BPA), el cual se sospecha es un antagonista de los receptores de la tiroides que actúan a nivel hipofisiario, aumentando por ende la secreción de TSH (1,14,15). Otros estudios han demostrado que el consumo de carne de pollo como suplemento dietario disminuye el riesgo de presentación esta enfermedad, sin embargo no se tiene especificado el mecanismo por el cual ocurre este suceso (9,11). Las isoflavonas de soya polifenólicas se encuentran en la mayoría de los alimentos para gatos tanto húmedos como secos, éstas inhiben la actividad 5'-desyodasa, que es la enzima encargada de convertir la T4 total en T3 biológicamente activa. Se realizaron experimentos donde los gatos que se les administraba mayor cantidad de isoflavonas de soya aumentaron las concentraciones de T4 total y T4 libre; sin embargo, las concentraciones de T3 no se ven notablemente alteradas (11, 16). Se considera que la ingesta de yodo en la dieta puede alterar las concentraciones de hormona tiroidea circulantes (12), se estima que los requerimientos de yodo para los gatos adultos son de 0.14 a 3.00 mg/kg de dieta seca, y en un estudio realizado se encontró que la concentración de yodo en un gran número de alimentos para gatos era 10 veces el indicado (14). Sin embargo, no existe relación entre la presentación de hiperplasia adenomatosa de la tiroides o un hipertiroidismo y un exceso o deficiencia de yodo en la dieta (1,9). Se postula que el desarrollo del bocio puede estar relacionado con una deficiencia de yodolactonas, las cuales son metabolitos del ácido araquidónico y del docosahexaenoico (DHA) que esta presentan en la glándula tiroides y se encargan de controlar la proliferación de las células tiroideas. La variación en el consumo del ácido araquidónico (ácido graso esencial),

puede influenciar notablemente la síntesis de las yodolactonas de la glándula tiroidea, desarrollando así el bocio nodular (11,17).

Biología molecular y factores genéticos. Existen diversos factores relacionados con la expresión anormal de la proteína G (proteína de unión al trifosfato de guanosina), la cual controla las concentraciones de cAMP en las células de la glándula tiroidea. La proliferación de las células tiroideas se presenta por los receptores de TSH-proteína G-AMP, por ende cualquier alteración en este paso de la transducción de señales puede desencadenar en bocio nodular tóxico (1,9). Las proteínas G pueden ser estimulantes (Gs) o inhibitorias (Gi) del cAMP en las células, normalmente estas se encuentran en equilibrio, pero si este equilibrio se altera y predominan las Gs o simplemente no se manifiestan las Gi se produce una sobreproducción de cAMP y por ende hay una hiperactivación de las células tiroideas. De igual forma se pueden presentar mutaciones tanto en las proteínas Gs como en el receptor TSH, ambas producen el mismo efecto de hiperactivar las células tiroideas (1).

Se analizaron tejidos de gatos hipertiroideos y se compararon las concentraciones de Gs y Gi con gatos eutiroideos. No se halló una diferencia significativa en las concentraciones de Gs, mientras que las concentraciones de Gi de los gatos hipertiroideos si se encontraron disminuidas de manera significativa a diferencia de los gatos eutiroideos. Lo cual ratifica que al igual que en los humanos las alteraciones de la proteína G desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de esta enfermedad (1). De igual forma se realizaron estudios en felinos para investigar las posibles mutaciones analizando nódulos hiperplásicos de los gatos hipertiroideos y se encontraron múltiples mutaciones las cuales se cree que activan el receptor TSH. Sin embargo no se demostró la forma en la que altera la actividad de la tiroidea, por ende las mutaciones no cobran real importancia en la patología del hipertiroidismo felino (1,11). En otro estudio

efectuado se encontraron mutaciones somáticas en la región transmembranal del exón 10 del gen TSHR en los adenomas y nódulos tiroideos de la hiperplasia adenomatosa de gatos diagnosticados con hipertiroidismo felino, confirmando aún más la etiología genética del hipertiroidismo (11). Factores como el sexo o el estado reproductivo (castrados o no), la exposición al humo, el número de gatos que viven en una casa, la frecuencia de vacunación, la ingesta de suplementos dietarios como para el control de las bolas de pelo o productos acidificantes de la orina no afectan ni predisponen a la presentación del hipertiroidismo (11,14).

FISIOPATOLOGÍA

El desarrollo del bocio nodular tóxico se caracteriza por células tiroideas que crecen y producen T3 y T4 de manera autónoma sin la estimulación por parte de la TSH. Comienza con un adenoma pequeño hiperfuncional, el cual activa solo un poco más la secreción de hormonas tiroideas. Dado que el adenoma crece se producen más hormonas y por ende disminuye la secreción de TSH; al crecer aún más el adenoma ya la secreción de la tiroidea es superior a lo normal y baja ostensiblemente la TSH, hasta que finalmente el adenoma muestra una función autónoma (11,17). El proceso de crecimiento del adenoma es lento, se han reportado casos donde existe la presencia de adenomas sin el desarrollo de hipertiroidismo, ya que suelen presentarse mucho tiempo antes de desenvolverse esta patología (11,18). Uno de cada 4-5 gatos presenta múltiples áreas de tejido tiroideo hiperfuncional ectópico e intratorácico cuando la tiroidectomía no pudo ser curativa (26, 19). Patología del riñón: El hipertiroidismo disminuye la resistencia vascular sistémica dilatando las arteriolas de la circulación periférica. Por esta disminución en la resistencia vascular se reduce el volumen efectivo estimulando así el sistema de renina-angiotensina-aldosterona

(20,21). Esto produce una retención de sodio para aumentar el volumen sanguíneo. El ritmo cardiaco puede ser 50 a 300% mayor en un paciente con hipertiroidismo, ya que aumenta la contractilidad ventricular izquierda, la fracción de eyección y el incremento en el volumen sanguíneo (22). Aunque aumente el hipertiroidismo la presión arterial no se ve afectada. Cerca de un 60% de la presión para la perfusión renal es transmitida por la capa capilar glomerular en los gatos eutiroideos, por lo tanto la hipertensión causa una hiperfiltración glomerular, lo cual contribuye a la esclerosis glomerular y a la progresión de enfermedad renal (20, 23, 24).

SIGNOS CLÍNICOS

Afecta principalmente a los gatos de edad intermedia o avanzada, con una media de 13 años de edad y un intervalo de 6 a 21 años. Sólo el 6% de los gatos con hipertiroidismo tiene menos de 10 años de edad cuando se establece el diagnóstico (4,12). Los signos clínicos del hipertiroidismo están relacionados con la secreción excesiva de hormonas tiroideas y con su efecto general de estimulación sobre diversos órganos y sistemas. Éstos corresponden al metabolismo basal acelerado una vez que aumenta el consumo de oxígeno de los tejidos y la sensibilidad a las catecolaminas, lo cual ocurre por el aumento del número y la afinidad por los receptores beta-adrenérgicos de la superficie celular. (3,25,26). La frecuencia y la gravedad de los signos clínicos son muy variables en los gatos con hipertiroidismo, y están influenciadas por la duración, la capacidad del organismo para superar las demandas impuestas por el exceso de hormona tiroidea y la presencia de otras enfermedades concomitantes en los animales de edad avanzada (4, 17). Los signos clínicos del hipertiroidismo muestran una evolución lentamente progresiva con un inicio poco aparente (4, 25). Así, el signo inicial más frecuente es la pérdida de peso progresiva que se acompaña a menudo de polifagia (12,

20). Dado que la mayor parte de los gatos afectados mantiene un buen nivel de apetito y de actividad física en relación con su edad, el propietario suele considerar que el gato está sano hasta que comienza a presentar pérdida de peso u otros signos clínicos (14, 21). En casos avanzados se observa anorexia, debido a la pérdida de peso y de masa muscular como consecuencia del excedido catabolismo proteico (3, 21). A menudo, los gatos afectados muestran hiperactividad y una actitud irritable o agresiva, lo que puede dificultar su exploración clínica. Son frecuentes la poliuria y la polidipsia, lo cual enmascara una insuficiencia renal crónica, ya que se aumenta la filtración glomerular por el exceso de hormona tiroidea, lo cual también se determina como un factor predisponente para las infecciones del tracto urinario (3, 9,18). En un estudio se encontró que el 12% de los gatos que presentaban hipertiroidismo tenían infección en el tracto urinario, con presencia de proteinuria en el urianálisis (25, 27). También están presentes signos clínicos que se observan con frecuencia las alteraciones gastrointestinales intermitentes; entre ellos la diarrea y la eliminación de heces voluminosas y de aspecto graso (28), lo cual ocurre secundario a la hipermotilidad intestinal, la polifagia y la mala absorción. Asimismo, el vómito es frecuente debido a la acción de la hormona tiroidea sobre la zona quimiorreceptora del gatillo y a la distensión gástrica aguda que se produce por la ingestión abundante y acelerada del alimento (29). En ocasiones se pueden producir hipertensión sistémica y hemorragias retinianas con desprendimiento de la retina (13). En 15% de los casos ocurre astenia muscular, la cual puede sobrevenir debido a la hipocalcemia y/o la deficiencia de tiamina (vitamina B1) inducidas por la tirotoxicosis, la hipocalcemia se presenta en 32% de los gatos hipertiroides ya que al aumentar las hormonas tiroideas aumenta la liberación de las catecolaminas, estimulando el movimiento de potasio desde el espacio extracelular al intracelular (25, 29). En 40% de los casos se presentan problemas dermatológicos, pudiendo existir alopecia y/o

avulsión pilar por el lamido excesivo provocado por el exceso de calor y los pelos enmarañados por falta de higiene ya que algunos gatos, al sentirse alterados no se acicalan como de costumbre (28).

DIAGNÓSTICO En todos los gatos de mediana y avanzada edad con historia de pérdida de peso se debe descartar el hipertiroidismo, principalmente cuando se evidencia la polifagia (3, 19). El examen físico generalmente revela una mala condición corporal, un pelaje opaco y un aumento de la glándula tiroides (3). Se debe palpar la glándula tiroides siempre que se sospeche de esta afección incluso más cerca de la cabeza ya que algunas veces los nódulos se pueden desplazar; por esto se debe palpar dos o tres veces a cada lado de la tráquea. El tamaño de la tiroides se clasifica de 0 a 5, un valor de cero es asignado cuando la glándula no es palpable y se asignan valores de 1, 2, 3, 4 y 5 para tamaños de 0.5, 0.75, 1.0, 1.5 y 2.0 cm respectivamente, además se asigna un valor de 6 cuando el tamaño es de 2.5 cm en adelante (3). *Exámenes de laboratorio:* Las alteraciones hematológicas más frecuentes son la eritrocitosis (47% de los casos), lo cual ocurre por el elevado consumo de oxígeno y por la estimulación beta-adrenérgica sobre la médula ósea elevando la eritropoyesis (3). El aumento de enzimas hepáticas (alanina aminotransferasa, fosfata alcalina y gamma glutamiltransferasa) ocurre en el 90% de los casos, principalmente por la desnutrición, la insuficiencia cardiaca congestiva o la anoxia hepática debido al efecto directo de las hormonas tiroideas en el hígado (3, 19).

Aproximadamente el 5% de los casos de hipertiroidismo presenta concentraciones séricas anormales de hormonas tiroideas al tiempo que se realiza la evaluación diagnóstica, lo que puede ser debido a que el proceso patológico está en una fase muy inicial, a la existencia de fluctuaciones diarias significativas en las concentraciones de las hormonas tiroideas o al efecto de algunas enfermedades tiroideas concomitantes (4, 11). En estos casos, en los

que todavía se sospecha de hipertiroidismo en función del cuadro clínico, se puede establecer diagnóstico mediante la determinación de la concentración de T4, volviendo a evaluar al animal al cabo de 3 a 6 semanas (30). La prueba de estimulación con TRH y la de supresión de T3 son alternativas (31).

T4 Total. Se puede diagnosticar el hipertiroidismo con base en una concentración alta de tetrayodotironina (T4T), donde el 90% de gatos hipertiroides presentan concentraciones séricas de T4T elevadas (32); aunque esta puede fluctuar continuamente dentro de los límites de referencia en gatos con hipertiroidismo leve (31,33). Como se dijo en la primera parte en la sección de hipotiroidismo se debe tener en cuenta que algunas enfermedades concurrentes disminuyen las concentraciones de T4T, lo cual afecta de manera significativa el diagnóstico ya que podrían ser gatos hipertiroides y que la T4T estuviera dentro del límite superior simplemente (31, 34). Sin embargo, no se han reportado casos donde la T4T se vea aumentada (por encima de los valores indicados) como consecuencia de alguna enfermedad subyacente; concluyendo que si la T4T se encuentra por encima, se considera un diagnóstico certero de hipertiroidismo. En la mayoría de los gatos hipertiroides la T4T se excede hasta 20 veces por encima del límite superior de referencia (5,33).

T3 Total. La determinación de triyodotironina (T3T) es menos certera que T4T para el diagnóstico de hipertiroidismo, con una sensibilidad de 83%. De tal forma que en un 17% de los gatos con hipertiroidismo presentan una concentración normal de T3T, además la T3T se localiza predominantemente dentro de las células, y la cantidad secretada por la tiroides a su vez es mínima (31, 33, 34). Tiene una especificidad de 96% en la cual gatos eutiroides presentan concentraciones elevadas de T3T. En definitiva medir T3T con T4T no presenta ninguna ventaja frente la determinación de T4T únicamente (31).

T4 Libre. Ocurre lo contrario que en el caso de T4T con las enfermedades concurrentes ya que se observan valores altos llevando a un diagnóstico de hipertiroidismo falso (31, 35). Cuando los gatos sufren de hipertiroidismo leve es de gran utilidad la determinación de T4L por diálisis, al igual que en los casos donde presentan enfermedades concurrentes que mantienen la T4T dentro de los límites de referencia (31, 35). Sin embargo, algunos gatos enfermos eutiroideos pueden presentar T4L aumentada (31, 34) La T4L debe medirse junto con la T4T para obtener un diagnóstico más certero. Si se encuentra la T4T dentro del límite superior y la T4L libre elevada se considera hipertiroideo. Sin embargo, si se encuentra la T4T baja y la T4L alta se asocia a enfermedad no tiroidea (5, 34) En un estudio realizado con 36 gatos hipertiroideos se encontró que todos tenían la fosfatasa alcalina elevada proveniente de la isoenzima osea, se ha demostrado que las hormonas T3 y T4 estimulan directamente la resorción osteoclástica del hueso, ya que la fosfatasa alcalina se encuentra en la membrana plasmática de los osteoblastos, al aumentar las concentraciones de T3 y T4 aumenta por ende las concentraciones de fosfatasa alcalina (31, 35, 36). De igual forma, el fosforo se encuentra en 20% a 50% de los casos aumentado por la misma resorción ósea que ocurre debido a la acción de las hormonas tiroideas (35, 36). Cabe recordar que las hormonas tiroideas se ven afectadas por los fármacos anteriormente mencionados en la sección de hipotiroidismo.

Técnicas de imagen. Los gatos con hipertiroidismo y miocardiopatía secundaria suelen presentar un aumento de tamaño del corazón que queda evidenciado en los estudios radiológicos y ecocardiográfico. Sin embargo, es importante tener en cuenta que puede existir un cuadro significativo de hipertrofia miocárdica concéntrica sin que se detecte una alteración de la silueta cardiaca en las radiografías torácicas, por lo que en estos casos el diagnóstico de miocardiopatía sólo se puede establecer mediante los hallazgos

ecocardiográficos (4). Las técnicas de imagen tiroideas con yodo radiactivo o con tecnecio 99m son útiles cuando se puede disponer de una gamma cámara. Estas técnicas determinan si la afectación de los lóbulos tiroideos es unilateral o bilateral, lo cual es un dato útil cuando se va a realizar tiroidectomía. También permiten detectar cualquier alteración en la posición de la glándula tiroides, así como los casos infrecuentes de tejido tiroideo ectópico anómalo en el interior del tórax o la presencia de metástasis distantes en los animales con carcinoma tiroideo funcional (4, 34).

Gammagrafía. Con la ayuda de esta herramienta es posible determinar la malignidad de los tumores, donde es característica la distorsión lobular; la actividad celular sobrepasa los límites de los lóbulos, la captación y absorción de los múltiples focos de radionucleótidos se extienden caudalmente hacia la entrada torácica; además, pueden observarse múltiples y extensos puntos de acceso, un patrón heterogéneo de captación irregular, márgenes espiculados así como patrones multifocales lineales en la entrada craneal al mediastino (37).

MANEJO

Tratamiento médico. La terapia farmacológica inhibe de manera reversible la producción de hormonas tiroideas. Sin embargo, es una alternativa práctica y conveniente para muchos pacientes (38, 39). Están indicados como preparación del gato con hipertiroidismo para la tiroidectomía quirúrgica, con objeto de mejorar su estado general y reducir el riesgo de complicaciones quirúrgicas (39, 40). Los fármacos antitiroideos también se recomiendan como tratamiento inicial en los gatos con hipertiroidismo e hiperazoemia concomitante, para determinar el posible deterioro significativo de la función renal tras el control médico del hipertiroidismo. Cuando no hay deterioro de la función renal al cabo de 3 a 4 semanas de tratamiento, se pueden considerar

la tiroidectomía quirúrgica o el tratamiento con yodo radiactivo (4, 41). Los fármacos antitiroideos también se pueden utilizar en el tratamiento a largo plazo del hipertiroidismo, especialmente cuando el propietario del animal rechaza el tratamiento quirúrgico (4, 40). En América los medicamentos más usados para el tratamiento del hipertiroidismo son el metimazol, el propiltiouracilo y el ipodato (42, 43). El propiltiouracilo fue el primer fármaco utilizado para el manejo del hipertiroidismo felino.

Es menos potente que el metimazol y requiere altas dosis (50 mg, cada 8-12 h) para normalizar las concentraciones de T4. Tiene muchos efectos adversos, entre ellos anemia hemolítica y trombocitopenia con diátesis, donde el 50% de los gatos tratados presentan estas alteraciones, por lo tanto su uso no es muy recomendable, dejando como primera opción al metimazol (43). El metimazol se concentra de forma activa en la glándula tiroides inhibiendo la producción y la síntesis de la enzima peroxidasa tiroidea (43, 44). La biodisponibilidad luego de la administración oral varía del 27% al 100%, con un promedio de 80%, alcanzando el pico de las concentraciones séricas 4 a 6 horas posteriores al suministro, con una vida media de 6 horas pero con un efecto farmacodinámico mayor de 20 h, debido a su gran capacidad de almacenarse en la glándula tiroides (39). Es recomendable para comenzar el metimazol una dosis inicial de 2.5 mg dos veces al día durante 15 días, y si no se observan efectos colaterales negativos se incrementa la dosis a 2.5 mg 3 veces al día durante otros 15 días. Se realiza medición de T4 y si se encuentra dentro del rango esperado se mantiene esta dosis durante 2 a 6 semanas para luego determinar si hay necesidad de otros ajustes. Siguiendo este protocolo se irá ajustando la dosis hasta llegar a máximo de 20 mg/día hasta que el paciente se encuentre en la mitad del rango de referencia de T4. Se debe realizar seguimiento cada 15 días durante los 3 primeros meses de tratamiento evaluando concentraciones séricas de T4, urea, creatinina y fosfato, al igual que

un cuadro hemático completo (41, 42). Otra forma de suministrar el metimazol es por vía transdérmica, en una presentación de organogel lecitina pleurónico (OLP). Se ha observado que a una dosis única el organogel no es bien absorbido. Sin embargo, a medida que se repite, su uso la absorción va aumentando, lo que implica que la remisión del hipertiroidismo tarde más tiempo, por otro lado los resultados obtenidos no muestran gran diferencia con la administración oral, al mismo tiempo que se observan menos efectos gastrointestinales negativos. La absorción percutánea varía según el vehículo y las interacciones entre el fármaco y la piel (44). Se utiliza una dosis de 2.5 a 10.0 mg de metimazol disueltos en OLP (50 mg/ml). Algunos gatos presentan escoriación en la zona de aplicación del metimazol (44). Si se va a realizar una intervención con radionúclidos se debe suspender el metimazol 2 semanas antes, ya que se aumenta la absorción de los radionúclidos en el tejido normal durante los 9 días posteriores a la suspensión, pudiendo desencadenar un hipotiroidismo iatrogénico a la administración de yodo radiactivo (44).

En estudios, se observaron efectos clínicos colaterales, no relacionados con la dosis de metimazol utilizada en el 18% de los gatos tratados, incluyendo anorexia (11%), vómitos (11%), letargia (9%), escoriación de la cara y el cuello (2%), sangrado (2%) e ictericia (2%) (42, 44). Se ha documentado miastenia gravis después del tratamiento con metimazol en 4 gatos. En 2 gatos, se utilizó prednisona para controlar la miastenia (43). Se ha reportado una disminución en la filtración glomerular luego de comenzar la terapia con metimazol, desencadenando insuficiencia renal crónica (43, 44), para ello debe tenerse especial precaución al iniciar la terapia, realizando antes una prueba de filtración glomerular, administrar el metimazol durante 30 días hasta que el animal se encuentre eutiroideo (concentraciones séricas de T4 estables) y medir de nuevo la filtración glomerular, de esta manera se toma una decisión en cuanto a la dosis adecuada del metimazol procurando mantener

un equilibrio entre las concentraciones séricas de T4 y la funcionalidad renal (42, 43). En el cuadro hemático se pueden observar alteraciones como eosinofilia, linfocitosis, leucopenia en los primeros dos meses de tratamiento. Sin embargo, estas son transitorias y no implican la suspensión del tratamiento. También se puede presentar trombocitopenia y agranulocitosis, las cuales se han observado durante los 3 primeros meses, y se debe suspender el metimazol de manera permanente. No obstante estas las variaciones sólo se muestran en un 83% de los casos (42). Pueden haber efectos inmunológicos, entre ellos la inducción de anticuerpos antinucleares (AAN) positivos. Pero se ha demostrado que las posibilidades de desarrollar AAN dependen de la duración del tratamiento y la dosis. A pesar de la presencia de estas alteraciones, no aparecen signos clínicos del síndrome "lupus-like" (dermatitis, poliartritis, glomerulonefritis, trombocitopenia, fiebre) ni de hemólisis (42).

Otro medicamento utilizado para el manejo del hipertiroidismo es el carbimazol, este es un profármaco del metimazol, que se convierte rápidamente luego de la administración oral. Su mecanismo de acción consiste en evitar la secreción de hormonas tiroideas. El carbimazol se utiliza en Europa pero no se consigue en Estados Unidos, es más seguro y eficaz que el metimazol, siendo por lo tanto el tratamiento de elección en los gatos de edad avanzada y en los que presentan enfermedades concomitantes (45). El carbimazol se administra inicialmente con una dosis de 5 mg PO cada 8 h. Las concentraciones séricas totales de tiroxina disminuyen hasta el intervalo de referencia al cabo de 3 a 15 días. Transcurridas 2 semanas es posible reducir la dosis en la mayor parte de los gatos hasta 5 mg PO cada 12 h, y esta dosis se sigue administrando durante el resto de la vida del animal. Es necesaria la evaluación periódica de la hormona tiroidea para confirmar que el hipertiroidismo está controlado adecuadamente. En algunos casos, es necesario el ajuste de la dosis para mantener el estado eutiroideo (4, 45).

Se ha reportado como tratamiento médico también el uso de ipodato de calcio oral y de dosis altas de yodo estable, así como la inyección percutánea de etanol en la glándula tiroides (39, 42, 46). El ipodato es un colecistográfico que lo que hace es inhibir la conversión de T3 a T4 al mismo tiempo que inhibe directamente la secreción de la hormona tiroidea (42,47). El ipodato es el único agente colecistográfico oral que ha sido evaluado para el tratamiento del hipertiroidismo en los gatos. En un estudio se demostró efectividad en el 66% de los casos, pero la elaboración de este fue discontinuada por la empresa manufacturera en 2001. El ácido iopanoico es el agente colecistográfico oral que ha reemplazado el uso de ipodato en los humanos, y por medio de un estudio, se demostró que era parcialmente efectivo en la disminución de la tirotoxicosis en los gatos, con el inconveniente de que disminuyen las concentraciones de T3 pero la T4 continúa aumentada luego de su uso. Sin embargo, los signos clínicos disminuyen al igual que se regulan las concentraciones de las distintas enzimas analizadas como la ALT y la FA (48).

La dosis del ácido iopanoico es de 100-200 mg/día (43). Como efectos adversos del ácido iopanoico se encuentran las alteraciones gastrointestinales, renales y raras veces es hallada trombocitopenia en el cuadro hemático de control (48).

Tratamiento con yodo radioactivo. Es un método seguro y eficaz en el abordaje terapéutico del hipertiroidismo. Éste tiene una efectividad del 90% donde normaliza la T4 en 1 a 2 semanas (34, 49) El radioisótopo utilizado con mayor frecuencia es el yodo 131 que posee una vida media de 8 días y que emite partículas beta y radiación gamma. Las partículas B causan la mayoría de lesiones tisulares (4). El mecanismo de acción consiste en destruir las células tiroideas sin afectar otros tejidos como las células paratiroides (42,50). Luego de ser ingerido, el yodo estable se convierte a yoduro en el tracto gastrointestinal y es absorbido a la

circulación; en la glándula tiroides el yoduro es concentrado o atrapado por los mecanismos de transporte activo de las células foliculares tiroideas resultando en yodo intracelular, donde las concentraciones son 10 a 200 veces más altas que en suero. Luego de que el yoduro se encuentra intracelular se oxida a yodo el cual se incorpora dentro de los residuos de tirosina de la tiroglobulina (organificación) para formar las hormonas tiroideas (T4 y T3). Como las células no diferencian el yodo estable del yodo radiactivo hay una gran facilidad para que actúe el yodo ¹³¹, aún cuando sólo se capta un 20-60% del yodo circulante, los remanentes se excretan por la orina y heces (50). Existen 3 métodos para establecer la dosis indicada.

El primero es estudiar la cinética de la glándula tiroides para estimar el porcentaje de yodo, la captación y la tasa de disipación de la glándula, además del uso de imágenes para preciar el peso de la glándula (50). El segundo consiste en la utilización de una dosis fija, la UOB rige una dosis de 110 MBq (3mCi) usada rutinariamente para el tratamiento de tumores de carácter benigno. Sin embargo, otros estudios reportan que un protocolo de dosis fija en 148e185 MBq (4e5 mCi) (51). En este caso no se estima el tamaño de la glándula ni de la neoplasia, éste método se usa sólo en pocos casos ya que se considera una dosis alta, exponiendo a los animales a una mayor radiación sin necesidad; así pues, se deja este método para enfermedades tiroideas severas. Tiene como ventaja la simplicidad y practicidad (50, 52).

El tercer método para calcular la dosis es determinar con base en sistemas de puntuación que toman en consideración la severidad de los signos clínicos, la talla de la glándula tiroides por palpación física o por resultados de imágenes, y la concentración de T4 en suero. De esta manera se establece si se usan dosis bajas, medias o altas. Por ejemplo si los signos clínicos son leves, presentan pequeños tumores y una concentración baja de T4 en suero, se utiliza una dosis de 3mCi; si los signos clínicos

son más severos, los tumores más grandes y la concentración de T4 en suero es alta, se utiliza una dosis media de 4 mCi; y en los gatos que presentan enfermedad tiroidea severa con condiciones extremas se puede suministrar una dosis de 5-6 mCi. La mayor ventaja de éste método es que el equipo de medicina nuclear no es requerido, el tiempo para determinar la cinética de la tiroides es eliminado y no se obliga realizar sedación, y además a diferencia de la dosis fija se aplicará lo necesario sin sobreexponer al paciente (50). Sin embargo, es preciso analizar que si el tejido tumoral es de carácter maligno se debe usar una dosis superior equivalente a 10-30 mCi, siendo necesario por ende un mayor tiempo de hospitalización (50). La administración puede ser intravenosa, oral o subcutánea, siendo esta última la preferida (50). Se recomienda realizar todos los exámenes de rutina para este tipo de procedimientos, al igual que se recomienda estabilizar primero al paciente con medicamentos antitiroideos y cardiacos (beta-bloqueadores) algunas semanas antes del procedimiento, los cuales deben suspenderse de 5 a 7 días antes del procedimiento (50).

Presenta pocos o ningún efecto adverso, no requiere anestesia, no depende de la localización del tejido tiroideo hiperfuncional, no corre riesgo de presentar hipoparatiroidismo como consecuencia y el porcentaje de recidiva es menor al 5% (50, 52). Presenta como desventaja el requerimiento de las instalaciones y los equipos apropiados para la utilización del yodo ¹³¹, los cuales son costosos y sofisticados (50). Es indispensable un tiempo de aislamiento, el cual es referido por la UOB o la legislación local relativa al uso de radioisótopos (51), el cual oscila entre 2 y 4 semanas. De igual forma, dependiendo de la cantidad de yodo aplicado se debe mantener al gato hospitalizado mientras se excreta debidamente. La alteración más grave que se presenta como consecuencia al uso del I ¹³¹ es el hipotiroidismo permanente, donde se observan signos clínicos entre los 2 y 4 meses posteriores a la radioyodación; sin embargo, éste suele presentarse en un escaso

porcentaje: Las alteraciones renales al igual que en los otros tratamientos suelen presentarse; es importante como se indicó anteriormente en el uso de fármacos antitiroideos, realizar un chequeo general del paciente a los 3 meses donde se evalúan las concentraciones séricas de T4, hemograma completo y pruebas de funcionalidad renal (42, 50).

Tratamiento quirúrgico. El objetivo de la tiroidectomía quirúrgica es eliminar el tejido tiroideo funcionalmente alterado (54). Es un tratamiento muy eficaz frente al hipertiroidismo felino, pero se puede acompañar de elevada morbimortalidad cuando los gatos no son evaluados y estabilizados adecuadamente antes de la intervención quirúrgica (38, 53). El tratamiento preoperatorio con carbimazol y propranolol permite controlar la producción excesiva de hormona tiroidea y protege el corazón de los efectos de este exceso. La dosis de propranolol es de 2.5 a 5.0 mg PO cada 8 h durante 7 a 14 días antes de la cirugía (4). Como alternativa para el propranolol, cuando se encuentran alteraciones cardíacas se pueden suministrar atenoles a dosis de 6.25 a 12.25 mg/gato una vez al día, 2 a 5 días antes de la cirugía (53). Hay que considerar con detalle el protocolo anestésico en los gatos con esta alteración, usando agentes que influyan de manera mínima en el ritmo cardíaco.

Se puede preanestesiarse con acepromacina a dosis de 0.1mg/kg/IM, inducirse con propofol a 2-4 mg/kg/IV, se procede a intubación endotraqueal y se mantiene la anestesia con isoflurano/oxígeno. Se mantiene con solución balanceada de electrolitos IV (10ml/kg/h) y durante el posquirúrgico (2-4ml/kg/h), para mantener una buena presión sanguínea y por ende una excelente perfusión renal (53). Se han propuesto varias técnicas quirúrgicas para la tiroidectomía unilateral y bilateral, como son la tiroidectomía extraescapular, la intraescapular, la extraescapular modificada, y la tiroidectomía

por etapas. Las técnicas quirúrgicas realmente no muestran diferencias entre sí, ya que la recidiva de la patología es escasa, algunos cirujanos recomiendan realizar la técnica de la tiroidectomía por etapas cuando no existe experiencia previa y se requiere ganar confianza. Sin embargo, para esta técnica se requieren dos procedimientos cada uno con su protocolo anestésico, lo cual aumenta el riesgo de la cirugía (53, 54). Entre las posibles complicaciones están el hipoparatiroidismo, el síndrome de Horner y la parálisis laríngea. La complicación más grave es la hipocalcemia asociada a la lesión o eliminación de las glándulas paratiroides. Dado que para el mantenimiento de la normocalcemia sólo es necesaria una glándula paratiroides, el hipoparatiroidismo es más frecuente en los gatos tratados mediante tiroidectomía bilateral. La hipocalcemia suele ser transitoria y se puede manifestar mediante signos clínicos como anorexia, vocalización, letargo, temblores musculares, tetania y convulsiones (6,53). Por lo tanto 24 horas después de realizar la tiroidectomía bilateral es recomendable medir el calcio sérico y si se encuentra dentro los límites establecidos es muy difícil que luego presente hipocalcemia, por lo contrario si se encuentra por debajo de 7mg/dl debe suplementarse inmediatamente con 1 a 2 ml de 10% de gluconato de calcio IV en 1 minuto si está presentando tetania. Puede mantenerse con 8 ml al 10% de gluconato de calcio en 120 ml de solución salina, administrando 15 ml/h. (53, 54).

CONCLUSIÓN

El hipertiroidismo felino es una enfermedad debida a concentraciones circulantes excesivas de T4, T3 o ambas. Es el trastorno endocrino más frecuente en el gato doméstico y afecta aproximadamente 1 de cada 300 gatos, con complicaciones multisistémicas. Actualmente existen tratamientos médicos y quirúrgicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Peterson ME, Ward CR. Aspectos etiopatológicos del hipertiroidismo felino. *Vet Clin Small Anim* 2007; 37: 633-645.
2. Rayalam S, Eizenstat LD, Davis RR, Hoenig M, Ferguson DC. Expression and purification of feline thyrotropin (fTSH): Immunological detection and bioactivity of heterodimeric and yoked glycoproteins. *Domestic Anim Endocrinol* 2006; 30 (3): 185-202.
3. Mori da Cunha MG, Pippi NL, Gomes K, Beckmann DV. Hipertireoidismo felino. *Ciencia rural* 2008; 38 (5):1486-1494.
4. Nelson RW, Couto GC. *Medicina interna de animales pequeños*. 2da ed. Buenos aires-República Argentina: Intermédica; 2000.p. 766-777.
5. Mooney CT. The effects of non-thyroidal factors on tests of thyroid function. *Small Animal Medicine and Feline Medicine Chapters* 2010; 28-30.
6. Panciera DL. *Manual of Small Animal Endocrinology*. 2nd ed. United Kingdom: British Small Animal Veterinary Association; 1998. p. 103- 113.
7. Patnaik AC, Lieberman PH. Feline Anaplastic Giant Cell Adenocarcinoma of the Thyroid. *Vet Pathol* 1979; 16: 687-692.
8. Merryman JI, Buckles EL, Bowers G, Neilsen NR. Overexpression of c-Ras in Hyperplasia and Adenomas of the Feline Thyroid Gland: An Immunohistochemical Analysis of 34 Cases. *Vet Pathol* 1999; 36:117-124.
9. Michael S. *Clinical medicine of the Dog and Cat* 2nd edition. Londres, InglaterraS: Manson Publishing Ltd; 2003.p. 364-389.
10. Nguyen LQ, Arseven OK, Gerber H, Stein BS, Jameson JL, Kopp P. Cloning of the Cat TSH Receptor and Evidence Against an Autoimmune Etiology of Feline Hyperthyroidism. *Endocrinology* 2002; 143 (2): 395-402.
11. Schenck PA. Effect of diet on development of feline hyperthyroidism. *Proceeding of the North American Veterinary Conference*. Orlando, Florida. 2005. p. 608-610.
12. De Wet CS, Mooney CT, Thompson PN, Schoeman JP. Prevalence of and risk factors for feline hyperthyroidism in Hong Kong. *J Feline Med Surg* 2009; 11(4):315-321.
13. Martin KM, Rossing MA, Ryland LM, DiGiacomo RF, Freitag WA. Evaluation of dietary and environmental risk factors for hyperthyroidism in cats. *J Am Vet Med Assoc* 2000; 217(6):853-856.
14. Edinboro CH, Scott-Moncrieff JC, Janovitz E, Thacker HL, Glickman LT. Epidemiologic study of relationships between consumption of commercial canned food and risk of hyperthyroidism in cats. *J Am Vet Med Assoc* 2004; 224(6):879-886.
15. Kupryianchuk D, Hovander L, Jones B, Lindqvist NG, Eriksson N, Bergman A. Hyperthyroidism, a new disease in cats - Is it caused by exposure to environmental organic pollutants?. *Organohalogen Compounds* 2009; 71: 2720- 2725.
16. Cerundolo R, Michel KE, Reisner LR, Phillips L, Goldschmidt M, Court MH, et al. Evaluation of the effects of dietary soy phytoestrogens on canine health, steroidogenesis, thyroid function, behavior and skin and coat quality in a prospective controlled randomized trial. *Am J Vet Res* 2010; 70(3): 353-360.
17. Gunn-Moore D. Feline Endocrinopathies. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 2005; 35 (1):171-210.
18. Watson SG, Radford AD, Kipar A, Ibarrola P, Blackwood L. Somatic mutations of the thyroid-stimulating hormone receptor gene in feline hyperthyroidism: parallels with human hyperthyroidism. *J Endocrinol* 2005; 186, 523-537.
19. Hans JP, Gerber H, Studer H, Becker DV, Mark E. Peterson. *Autonomy of Growth and of Iodine*

- Metabolism in Hyperthyroid Feline Goiters Transplanted onto Nude Mice. *Am Soc Clin Invest* 1987; 80: 491-498.
20. Van Hoek IM, Peremans K, Vandermeulen E. Effect of recombinant human thyroid stimulating hormone on serum thyroxin and thyroid scintigraphy in euthyroid cats. *J Feline Med Surg* 2009; 11: 309-314.
 21. Kratzsch J, Pulzer F. Thyroid gland development and defects. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2008; 22 (1): 57-75. Elwood CM, White RN, Freeman K, White M. Cholelithiasis and hyperthyroidism in a cat. *J Feline Med Surg* 2001; 3(4): 247-52.
 22. Langston CE, Reine NJ. Hyperthyroidism and the Kidney. *Clin Tech Small Anim Pract* 2006; 21(1): 17-21.
 23. Daminet S. Renal function and feline hyperthyroidism: should we care?. European Veterinary Conference Voorjaarsdagen. Amsterdam, Netherlands 2008.
 24. Brennan SF, Jones BR. Feline hyperthyroidism. *EJCAP* 2005; 15(2).
 25. Schenck PA, Calcium Homeostasis in Thyroid Disease in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 2007; 37 (4): 693-708.
 26. Mayer-Roenne B, Goldstein RE, Erb HN. Urinary tract infections in cats with hyperthyroidism, diabetes mellitus and chronic kidney disease. *J Feline Med Surg* 2007; 9:124-132.
 27. Ferguson DC. Thyroid Disease in Dogs and Cats. 56th ACVP and 40th ASVCP. Boston, USA; 2005.
 28. Ferguson DC, Caffall Z, Hoenig M. Obesity increases free thyroxine proportionally to nonesterified fatty acid concentrations in adult neutered female cats. *J Endocrinol* 2007; 194, 267-273.
 29. Zaninovich AA. Hormonas tiroideas, obesidad y termogénesis en grasa parda. *Medicina* 2001; 61: 597-602.
 30. Melián C. Diagnóstico de hipotiroidismo canino e hipertiroidismo felino. *Vector plus: miscelánea científico - cultural* 1999;13 : 4-18.
 31. Lien YH, Wu TJ, Huang HP. Evaluation of A Point-of-Care Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Determination of Basal Serum Total Thyroxine Concentration in Cats. *Journal of veterinary clinical sciences* 2008; 1(3): 86-88.
 32. Matamoros R, Gomez C, ANDAUR M. Hormonas de utilidad diagnóstica en Medicina Veterinaria. *Arch Med Vet* 2002; 34(2): 167-179.
 33. Shiel RE, Mooney CT. Pruebas de hipertiroidismo en gatos. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 2007; 671-691.
 34. Boretti FS, Sieber-Ruckstuhl NA, Gerber B, Luluha P, Baumgartner CC, Lutz H, et al. Thyroid enlargement and its relationship to clinicopathological parameters and T4 status in suspected hyperthyroid cats. *J Fel Med Surg* 2009; 11: 286-292.
 35. Archer FJ, Taylor SM. Alkaline phosphatase bone isoenzyme and osteocalcin in the serum of hyperthyroid cats. *Can Vet J* 1996; 37: 735-739.
 36. Harvey AM, Holt PE, Barr FJ, Rizzo F, Tasker S. Case report: Treatment and long-term follow-up of extrahepatic biliary obstruction with bilirubin cholelithiasis in a Somali cat with pyruvate kinase deficiency. *J Feline Med Surg* 2007; 9: 424-443.
 37. Ferguson DC. Endocrine Disruptors: Should We be Concerned in Veterinary Medicine? *Journal of the American Veterinary Medical*. Boston, MA, USA; 2005.
 38. Lécuyer M, Prini S, Dunn ME, Doucet MY. Clinical efficacy and safety of transdermal methimazole in the treatment of feline hyperthyroidism. *Can Vet J* 2006; 47(2): 131-135.
 39. Ward CR, Windham WR, Dise D. Evaluation of activation of G proteins in response to thyroid stimulating hormone in thyroid. *American Journal of Veterinary Research* 2010; 71 (6):643-647.
 40. Ferguson DC. The Effect of Stress on Thyroid Function and Diseases (and vice versa). 56th ACVP and 40th ASVCP. Boston, MA, USA; 2005.

41. Behrend. Actualización de los fármacos utilizados para tratar enfermedades endocrinas en pequeños animales. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 2006; 36: 1087-1105.
42. Trepanier LA. Medical Management of Feline Hyperthyroidism. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 2006; 21(1): 22-28.
43. Hoffmann G, Marks SL, Taboada J, Hosgood GL, Wolfsheimer KJ. Transdermal methimazole treatment in cats with hyperthyroidism. *J Feline Med Surg* 2003; 5(2): 77-82.
44. Rudas P, Rónai Z, Bartha T. Thyroid hormone metabolism in the brain of domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology* 2003; 29 (1): 88-96.
45. Adams WH, Daniel GB, Legendre AM. Investigation of the Effects of Hyperthyroidism on Renal Function in the Cat. *Can J Vet Res* 1997; 61: 53-56.
46. Zablith ACA. Tirotoxicose experimental em gatos: estudo ultra-sonográfico das alterações hepáticas e suas correlações com os níveis séricos das enzimas hepáticas, hormônios tiroideos e achados histológicos e citológicos. *Vet e zootec* 2012. 19. P.31-34.
47. Gallagher AE, Panciera DL. Effects and safety of iopanoic acid in cats administered levothyroxine. *J Feline Med Surg* 2009; 11: 69-75
48. Patnaik Ak. Feline anaplastic giant cell adenocarcinoma of the thyroid. *Vet Pathol* 1999; 16(6): 687-692.
49. Peterson ME. Radioiodine Treatment of Hyperthyroidism. *Clin Tech Small Anim Pract* 2006; 21:34-39.
50. Harvey AM, Hibbert A , Barrett EL, Day MJ, Quiggin AV, Brannan RM, Caney SMA. Scintigraphic findings in 120 hyperthyroid cats. *J Fel Med Surg* 2009; 11(2): 96-106.
51. Kaplan E. Primary hyperparathyroidism and concurrent hyperthyroidism in a cat. *Can Vet J* 2002; 43:117-119.
52. Flanders JA. Surgical options for the treatment of hyperthyroidism in the cat. *J Feline Med and Surg* 1999; 127-134.
53. Birchard SJ. Thyroidectomy in the Cat. *Clin Tech Small Anim Pract* 2006; 29-33.

ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA CONDICIÓN CORPORAL POSTPARTO EN VACAS DE CARNE

David Giraldo Arana¹
Luis Fernando Uribe Velásquez²

RESUMEN

El objetivo de esta revisión es describir el efecto de estrategias nutricionales y de manejo sobre la condición corporal y el desempeño reproductivo de vacas de carne. Las vacas de carne experimentan un balance energético negativo durante el postparto, perdiendo condición corporal. El desarrollo folicular, la tasa de preñez, la fertilidad, los intervalos parto-primer estro, parto-concepción e intervalo entre partos son superiores en vacas con condición corporal moderada durante el postparto, comparadas con vacas delgadas. La suplementación con lípidos de cadena larga poliinsaturados permite obtener una reanudación de la ciclicidad ovárica temprana, independiente de su contribución energética. La suplementación con proteína ayuda a mantener o mejorar la condición corporal durante el postparto, optimiza el medio ambiente ruminal y la eficiencia digestiva de los animales. El destete precoz y el amamantamiento restringido se han venido utilizando en sistemas de cría extensivos, ya que la aplicación de este tipo de estrategias es relativamente fácil. Estas actividades tienen efecto sobre el eje hipotálamo-hipófisis-ovario y reducen los requerimientos energéticos de la madre derivados de la producción de leche, permitiendo mejorar la condición corporal y la reiniciación de la actividad ovárica, además de

optimizar los resultados de tratamientos con progestágenos cuando son usados alternamente. En conclusión, una adecuada condición corporal postparto es esencial para garantizar el rendimiento reproductivo de vacas de carne. El uso de suplementación con lípidos y proteína durante el postparto mejora la condición corporal y optimiza el rendimiento reproductivo de vacas de carne. Estrategias de manejo como el destete precoz son efectivas, pero su uso se restringe solo cuando las fuentes nutricionales son escasas o la aplicación de estrategias nutricionales no es posible.

Palabras clave: condición corporal, anestro postparto, ácidos grasos poliinsaturados, proteína sobrepasante, destete precoz, amamantamiento restringido.

STRATEGIES TO IMPROVE POSTPARTUM BODY CONDITION IN BEEF CATTLE

ABSTRACT

The aim of this review is to describe the effect of nutritional and management strategies on body condition and postpartum reproductive and productive performance in beef cattle. Beef cattle

¹ Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia. Correo electrónico: davidgiar@hotmail.com

² Profesor Asociado, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas. Correo electrónico: lfuribe@ucaldas.edu.co

experience a negative energy balance during postpartum, losing body condition. Follicular development, pregnancy rate, fertility, intervals from labor-first estrus, labor-conception and labor interval are superior in cows with moderate body condition during postpartum compared to thin cows. Supplementation with long chain polyunsaturated lipids, allows earlier resumption of ovarian cyclicity, regardless their energetic contribution. Protein supplementation helps to maintain or improve body condition during postpartum, maximizing the ruminal environment and animal digestive efficiency. Early weaning and restricted sucking have been used in extensive breeding systems, since the implementation of such strategies is relatively easy. These activities have effects on the hypothalamic-pituitary-ovarian and reduce milk production thus allowing the

improvement of body condition and the restarting of ovarian activity, also optimizing the results of treatments with progestogens when they are used alternately. In conclusion, appropriate postpartum body condition is essential in order to ensure the reproductive performance of beef cattle. The use of lipid and protein supplementation during postpartum improves body condition and optimizes the reproductive performance of beef cattle. Management strategies such as early weaning are effective, but their use is restricted only when nutritional sources are scarce or the application of nutritional strategies is not possible.

Key words: body condition, postpartum anestrus, polyunsaturated fatty acids, bypass protein, early weaning, restricted sucking.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la demanda de productos de origen animal se ha incrementado en los trópicos, lo que hace urgente la búsqueda de nuevos descubrimientos con el objetivo de incrementar la producción de esta área (1). Debido a esto, los productores de ganado de carne son continuamente desafiados con la necesidad de mantener un sistema productivo sustentable (2), de forma tal que les permita obtener mayores beneficios económicos, al igual que una disminución en el impacto negativo del ambiente donde este se desarrolla.

En Colombia se presentan periodos lluviosos y secos bien definidos durante el año, lo que define una producción forrajera abundante en los meses de época de lluvias y escasos en época seca. El estrés del parto y los efectos combinados de crecimiento y primera lactación imponen requerimientos nutricionales que frecuentemente no son satisfactorios cuando las vacas se alimentan en pasturas de baja calidad

(3). Cuando las épocas de escasez de alimento coinciden con el pre o el postparto, las vacas pueden llegar a un balance energético negativo, razón por la cual disminuyen sus reservas energéticas (4).

Una de las habilidades más importantes de las vacas es su capacidad de usar las reservas energéticas corporales durante periodos de balance energético negativo (5). El consumo deficiente de energía, proteína, vitaminas y micro-macro minerales está asociado con un rendimiento reproductivo sub-óptimo, y el balance de energía es probablemente el factor nutricional más importante relacionado con una pobre función reproductiva en el ganado (6).

Los factores más importantes que afectan la viabilidad financiera de la ganadería de cría en carne son la reproducción y la nutrición (2). El principal objetivo de los sistemas de producción de cría es la obtención durante el periodo de un año una cría; por consiguiente, el rendimiento reproductivo del hato determina la eficiencia

total de la operación del sistema de cría (7,8). Existen fallas reproductivas que tienen una interacción directa con la nutrición, y estas pueden ser categorizadas en referencia con dos momentos:

1. Falla reproductiva preovulatoria, con posible influencia nutricional sobre el tiempo de retorno al estro, y
2. Falla reproductiva postovulatoria, donde la nutrición influye en la fertilización o supervivencia embrionaria y, por consiguiente, en la tasa de concepción (9).

En Colombia, dentro de los factores que afectan el desempeño reproductivo en la ganadería de carne, se pueden mencionar: la alta incidencia de anestro postparto que incrementa el intervalo parto-concepción y el intervalo entre partos; la pobre nutrición que reduce la fertilidad; las enfermedades infecciosas; el amamantamiento y la detección del estro (4). Comprender la relación existente entre la dieta y el estado nutricional, además de su interacción con la condición corporal al afectar la respuesta reproductiva, es esencial para el desarrollo de un programa de gestión con enfoque más integral de la nutrición y la reproducción (10). Por tanto, un objetivo importante para los sistemas de producción de carne es desarrollar programas de nutrición basados en los requerimientos del animal, para mantener o mejorar la eficiencia reproductiva de los hatos (2). Para lograr la eficiencia reproductiva máxima en un hato, los factores fisiológicos, nutricionales y de manejo deben estar perfectamente integrados, adaptados a las condiciones físicas y, lo más importante, ser completamente funcionales (11).

El objetivo de la presente revisión es recopilar y unificar información bibliográfica sobre estrategias que mejoren la condición corporal postparto, mostrando entonces los diferentes métodos de medición de condición corporal, la

importancia que tiene en la producción de carne y la aplicación de esta, así como reconocer las estrategias que han tenido mayor impacto en la corrección de la condición corporal postparto en vacas de carne.

1. MEDICIÓN DE CONDICIÓN CORPORAL

La medición de la condición corporal de un animal depende de determinados puntos anatómicos y los depósitos grasos que recubren a estos. Los puntos que generalmente son usados por los sistemas de medición de condición corporal son: la inserción de la cola, cadera, tórax, costillas y diferentes puntos de la columna vertebral (12,13) (Figura 1). Un sistema visual de puntuación de condición corporal desarrollado para ganado usa una escala de 1 a 9 (14,15), descrita para ganado de carne (12), o 1 a 5 (13,16), usada generalmente para ganado de leche (12), siendo 1 un animal emaciado y 9 o 5 (dependiendo la escala utilizada) un animal obeso. La Tabla 1 muestra un sistema de equivalencias entre escalas de medición de condición corporal (17).

Tabla 1. Correlación entre dos escalas diferentes de medición de condición corporal. Adaptado de Frasinelli et al., 2004 (17).

ESCALA DE 1 A 5.	ESCALA DE 1 A 9.
1	1
1,5	2
2	3
2,5	4
3	5
3,5	6
4	7
4,5	8
5	9

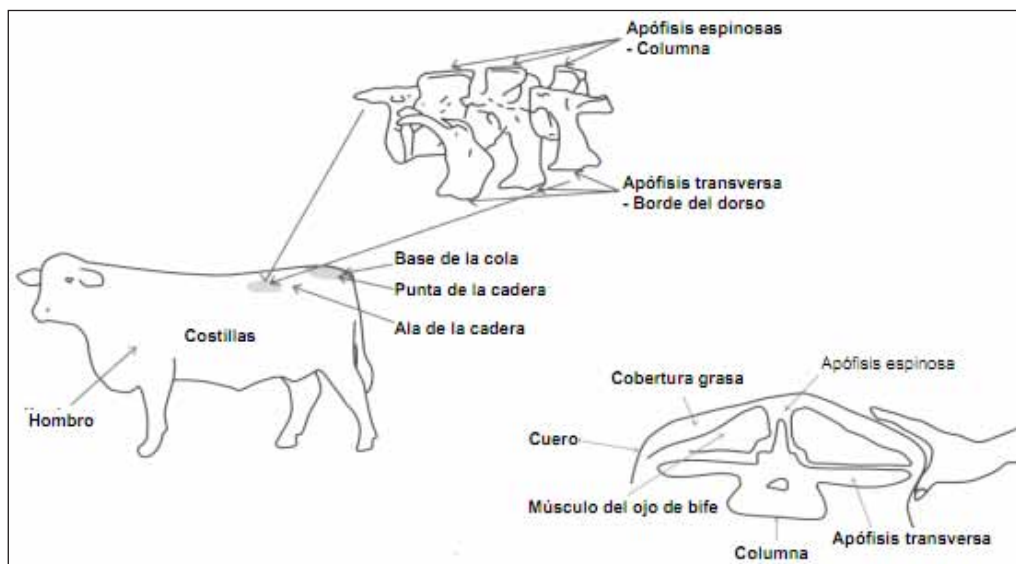


Figura 1. Áreas anatómicas utilizadas para la evaluación de la condición corporal en vacas de carne. Adaptado de Frasinelli et al., 2004 (17).

La puntuación de condición corporal es una herramienta que puede ser usada para monitorear los animales y determinar si su estado nutricional es adecuado o no (12); además, existe una relación lineal entre los cambios de condición corporal y cambios del peso vivo de las vacas (18), por lo que la evaluación de la condición corporal puede ser usado para monitorear las reservas corporales cuando exista una variación en su peso (12,19). La adopción de la práctica de medición periódica tanto del peso vivo como de la condición corporal de los animales, ya sea de forma independiente o en combinación, puede ser usada en animales vivos para medir o predecir la composición en canal de proteína, grasa y energía (19).

El uso de la medición de condición corporal tiene innumerables ventajas sobre otros métodos como peso, altura a la cruz y mediciones hormonales. Hay que tener en cuenta que la realización de esta actividad no requiere de instalaciones de contención, además, que puede ser realizada con mayor frecuencia (16). En la gran mayoría de las producciones bovinas de carne, la condición corporal no se emplea como una herramienta útil

para medir las reservas de energía, hecho que puede implicar inconsistencias en el desempeño reproductivo de las hembras y una reducción de la respuesta a programas de sincronización del estro y de la ovulación, así como a tratamientos superovulatorios (4).

2. LA CONDICIÓN CORPORAL EN EL POSTPARTO

El periodo postparto es una etapa crítica en el sistema productivo de cría, caracterizado por una pérdida progresiva de condición corporal durante su inicio. Esto es debido al aumento agudo de gasto energético en la producción de leche para su cría, además del consumo restringido de materia seca, lo que lleva al animal a un estado de balance energético negativo (20). El balance energético describe el estado de la energía corporal de un animal y es derivado de la diferencia entre la energía que se gasta y la energía que se consume. El déficit de energía puede ser suplido por un aumento en la eficiencia de la conversión alimenticia o a través de la movilización de reservas del animal (21).

El uso de la energía disponible en rumiantes tiene prioridades metabólicas. El orden de importancia es el siguiente: (i) metabolismo basal, (ii) actividad, (iii) crecimiento, (iv) reservas de energía, (v) preñez, (vi) lactación, (vii) reservas energéticas adicionales, (viii) ciclo estral e iniciación de preñez y (ix) reservas energéticas excedentes (22). Basado en esta lista de prioridades metabólicas, la función reproductiva se ve comprometida cuando la energía disponible se dirige hacia el cumplimiento de las reservas mínimas de energía y producción de leche (6,13).

El periodo postparto de vacas primíparas es más crítico comparado con vacas multíparas, ya que las hembras jóvenes tienen que continuar su crecimiento y reproducirse de forma simultánea, por lo que son extremadamente sensibles a cualquier limitación nutricional durante este periodo (23).

El estado de condición corporal varía mucho durante todo el ciclo productivo de una vaca, encontrándose periodos donde los requerimientos energéticos superan la cantidad que el animal es capaz o el ambiente le permite consumir. De igual manera, existen periodos en los cuales la situación es contraria, permitiéndole al animal almacenar energía en forma de depósitos grasos, que posteriormente se pueden utilizar. El patrón general del balance energético en un animal inicia negativo al momento del parto, continuando con el acentuado déficit en el estatus energético, el cual llega a un nadir o punto mínimo en la primera o segunda semana postparto o de lactación; de aquí en adelante se continúa con un incremento positivo y estable de dicho balance (24,25,21) hasta el momento que un nuevo ciclo reproductivo inicie.

La marcada diferencia entre el ingreso y el gasto de energía que se presenta en el postparto se hace evidente en los cambios tanto del peso como de la condición corporal, y varía a medida que la producción de leche aumenta y la bioquímica del tejido adiposo cambia, permitiendo el uso

de la energía almacenada durante el preparto en forma de grasa, que durante el postparto es una fuente de energía fundamental (26,27).

El aumento de la ingesta de nutrientes también induce la formación de reservas energéticas en forma de depósitos grasos, lo cual es un prerrequisito para restablecer la actividad ovárica en el postparto de las vacas. Incrementar la condición corporal postparto es requerido para reactivar el ciclo estral en vacas de primer parto y multíparas con anestro nutricional (3,28).

El intervalo entre parto comprende tanto la duración de la gestación como el intervalo parto-concepción, que a su vez está muy relacionado con el intervalo parto-primero estro (29). El intervalo desde el parto a la reiniciación de la actividad luteal es uno de los mayores determinantes de la viabilidad reproductiva y económica en una empresa ganadera de cría (18,30). Cuando las vacas presentan una condición corporal moderada al momento del parto y pueden mantener su peso y condición corporal en el postparto, disminuye el intervalo al primer estro, incrementa el desarrollo folicular y maximiza la fertilidad de estas (31). El estado de condición corporal postparto no solo afecta los resultados reproductivos, sino también la intensidad y efectividad de los comportamientos inherentes a la reproducción, como son la duración del estro y el número de servicios durante este, pues las vacas que tienen una condición corporal baja presentan un periodo de estro de menor duración y con un número inferior de servicios, comparado con vacas que tienen una condición corporal moderada, las cuales presentan un estro más duradero y con mayor número de servicios (32).

El rendimiento reproductivo óptimo en vacas de carne se alcanza cuando estas tienen una puntuación de condición corporal de 5 o cerca a este, en una escala de 1 a 9 (2,27). Frecuentemente, el rendimiento reproductivo óptimo en vacas de carne se encuentra limitado por una duración muy prolongada del anestro

postparto (3). Como es bien sabido, la condición corporal tiene una relación inversa con el tiempo de reanudación de la actividad ovárica postparto, por lo que un inadecuado consumo de nutrientes resulta en pérdida de peso, pérdida de condición corporal y, finalmente, en el cese del ciclo estral. Un anestro postparto prolongado es un factor limitante en la eficiencia reproductiva del ganado, particularmente en vacas *Bos indicus* y *Bos taurus* x *Bos indicus* de regiones tropicales, puesto que afecta de manera significativa la obtención de una cría anual (20).

La tasa de preñez y la actividad ovárica postparto son afectadas en vacas que han tenido un consumo restringido de energía antes o después del parto (33), pues la secreción de la LH (Hormona Luteinizante) y el crecimiento folicular parecen ser dependientes de la condición corporal de la hembra bovina (31). Las hembras que mantienen la condición corporal o que los cambios durante la etapa de postparto son moderados, tienen tasas de preñez superiores, comparadas con hembras que durante el postparto exhiben una calificación de condición corporal muy baja, extremadamente alta o que tienen variaciones muy marcadas de esta (30). Por esto, se debe manejar una condición corporal adecuada durante el parto y no permitir la pérdida de peso corporal en el postparto, para así disminuir el intervalo parto-primer estro, incrementar el desarrollo folicular y maximizar la tasa de preñez (31).

El incremento en la densidad de energía de la dieta aumenta el peso corporal y mejora la condición corporal, además, disminuye el intervalo parto-primer estro (18,28). Esto se puede explicar porque al incrementar el consumo de energía se disminuye la persistencia de folículos subordinados, aumentando de forma gradual la tasa de crecimiento, el tamaño y la persistencia de los folículos dominantes (28). Durante el periodo de anestro postparto, las vacas presentan una reactivación ovárica temprana y llegan a adquirir rápidamente su capacidad ovulatoria, entendida por la

expresión de receptores para la LH y la leptina en los folículos, pero esta se ve limitada por la pérdida de peso diaria y por la ausencia del pico preovulatorio de la LH (34). Este efecto es probablemente mediado por la reducción en la secreción de la GnRH (Hormona Liberadora de Gonadotropinas) endógena, pues la administración exógena de la GnRH a vacas con anestro nutricional induce la reactivación de la actividad ovulatoria (28,35,36).

3. SUPLEMENTACIÓN DE LÍPIDOS EN EL POSTPARTO

Una nutrición adecuada es crítica para obtener una función reproductiva exitosa. Un consumo inadecuado de energía y una pobre condición corporal pueden afectar negativamente la función reproductiva (37). Los lípidos son importantes moléculas que sirven como fuente de energía y son componentes críticos de la estructura física y funcional de las células (38). La suplementación grasa en vacas postparto es una alternativa efectiva para incrementar la densidad energética de la dieta (39) y mejorar el comportamiento productivo y reproductivo de las vacas de carne (40). Por estas razones, la suplementación de las dietas de rumiantes con lípidos adquirió interés en la década pasada. Para evitar una disminución en el consumo y la digestibilidad del forraje, el aporte de grasa total de la dieta de rumiantes no debe exceder el 4% de la materia seca consumida diariamente (39).

Un programa adecuado de suplementación energética garantiza el mantenimiento de una condición corporal adecuada en el postparto, lo que permite obtener una reanudación de la ciclicidad ovárica temprana y una mejora en el desempeño reproductivo del hato (40). Cuando se incluye grasa en la dieta de rumiantes, el principal objetivo es incrementar la concentración de energía de la ración y, de esta manera, asegurar el rendimiento del animal, ya que la alta densidad energética de las grasas permite mejorar la producción, el crecimiento y

la reproducción del ganado (38). Los animales que consumen suplementos grasos durante su postparto presentan tasas de preñez superiores en el siguiente ciclo (40). Además, el incremento del consumo de energía en el postparto mejora la tasa de preñez del primer estro postparto (3).

Los lípidos están presentes en la membrana celular, de los cuales los ácidos grasos poliinsaturados juegan un papel importante en la regulación de actividades de la membrana celular (38). La inclusión de lípidos en la dieta de vacas en postparto puede tener un efecto positivo en la reproducción de ganado de carne, independiente de su contribución energética (37,41). La suplementación de lípidos se ha visto asociada de forma positiva con una adecuada función reproductiva de tejidos importantes, incluyendo el hipotálamo, la hipófisis anterior, los ovarios y el útero (37). El suministro de grasa en la dieta, principalmente ácidos grasos poliinsaturados, reduce el intervalo a la primera ovulación postparto en bovinos de carne, lo que incrementa la concentración de progesterona durante la fase lútea del ciclo estral, modula la síntesis de prostaglandina en el útero y mejora la calidad y capacidad de desarrollo del oocito y del embrión (38).

Los mecanismos exactos por los cuales la suplementación con lípidos a vacas de carne durante el postparto mejoran los resultados reproductivos no están bien dilucidados (42). Es posible que los procesos reproductivos del ganado de carne se vean más influenciados por el tipo de grasa con que se suplemente a los animales y no por la suplementación de grasa en sí, teniendo principal importancia en estos procesos los ácidos grasos poliinsaturados. Esta situación representa un importante desafío para la nutrición de rumiantes y exige que estas no sean digeridas en el rumen, pues la digestión de los ácidos grasos por parte de la flora bacteriana en el rumen resulta en la lipólisis de TAG (Triacilgliceroles) y biohidrogenación de ácidos grasos insaturados, lo que reduce dramáticamente la cantidad de ácidos grasos

poliinsaturados que logran alcanzar el intestino delgado (38). Una alternativa para incrementar el flujo de ácidos grasos poliinsaturados hacia el duodeno es la suplementación con productos inertes no degradables en el rumen, como, por ejemplo, las sales de calcio de ácidos grasos (7).

Se ha especulado que los lípidos de la dieta actúan como agentes distribuidores de nutrientes que pueden cambiar el uso de la energía de un proceso metabólico a otro, incrementando con ello el potencial de las vacas para almacenar grasa corporal y ganar o mantener su condición corporal (43). La utilización de grasas, como una estrategia de suplementación energética en vacas de carne en el periodo de postparto, permite conseguir un peso y una condición corporal postparto adecuados a los 90 días de este periodo, cuando son comparados con animales que en su suplementación no tuvieron una inclusión de grasa como fuente energética (40). Sin embargo, la suplementación de ácidos grasos específicos en la dieta puede no compensar de forma efectiva el gasto energético del animal durante la lactación temprana, lo que se ve representado en los cambios que ocurren en el tejido adiposo, pues las exigencias de la lactancia y la bioquímica de tejido adiposo parece estar alterada en favor de la distribución de nutrientes hacia el tejido mamario para la síntesis de leche a expensas de las reservas grasas de la condición corporal (27,44).

Dietas que contienen un suplemento rico en ácido graso oleico permiten que la vaca presente un incremento en la producción de leche, mientras que si el suplemento es rico en ácido linoleico, la vaca va a mantener la condición corporal postparto (43). Una dieta rica en ácido linoleico, en vacas que al momento del parto presentaron una condición corporal pobre, incrementa las reservas palpables de tejido adiposo durante la lactación temprana (26,44), aunque esta estrategia de manejo no parece alterar la partición de nutrientes (26). De Fries et al. (41) reportaron que la suplementación de lípidos no influye positivamente en el

peso corporal de los animales durante la lactación temprana. En contraste, estos mismos investigadores mostraron un incremento en el estado de condición corporal, debido al aumento de las reservas de tejido adiposo en vacas que consumieron un suplemento graso. Quizás la demanda de nutrientes asociados con la lactación temprana enmascara los efectos potenciales de direccionamiento energético asociados con la suplementación de lípidos durante los primeros 60 días de lactación (26).

Animales suplementados con ácidos grasos experimentan una reducción en el consumo de materia seca, factor que es dependiente del tipo de grasa (45). La suplementación con ácidos grasos poliinsaturados no afecta la degradabilidad ruminal de forraje, pero sí disminuye el consumo de materia seca (46). Como consecuencia de la disminución del consumo de materia seca, se desarrolla una reducción en la ganancia de peso diaria, evidenciándose de manera más marcada en animales que son suplementados con ácidos grasos poliinsaturados de sobrepeso, comparado con animales que reciben suplemento de ácidos grasos saturados como el sebo o animales que no reciben suplemento graso (45,46). La disminución en el consumo de materia seca en animales suplementados con ácidos grasos poliinsaturados puede explicarse por factores fisiológicos como la palatabilidad de la dieta, reducción de la motilidad intestinal, aumento de la producción de colecistoquinina, incremento en la tasa de oxidación hepática y biohidrogenación ruminal de ácidos grasos (47,48).

El efecto de la suplementación grasa en el postparto de vacas de carne no se restringe solo a la mejora de su condición corporal y reactivación temprana de su ciclo reproductivo, sino que también implica un aumento considerable en la producción de leche y de carne de su cría en el periodo de lactancia (40,49). Sin embargo, el consumo de sebo disminuye tanto la cantidad de leche como el contenido de grasa en esta (49). La disminución de grasa en leche está asociada con cambios en el patrón de biohidrogenación

ruminal, que lleva a la acumulación de ácidos grasos *trans* en el rumen y a la inhibición de la síntesis de grasa en la glándula mamaria (50).

La suplementación con sebo o ácidos grasos poliinsaturados disminuye el contenido de la proteína en la leche, independientemente del tipo de grasa o de la base de alimentación. Cuando se suplementan con lípidos animales cuya alimentación está basada en alimentos energéticos como ensilaje de maíz, los reducidos niveles ruminales de NH_3 , además de la presencia de ácidos grasos poliinsaturados, reducen el crecimiento microbiano y, por ende, la disponibilidad de aminoácidos para la síntesis de proteína en la glándula mamaria (49).

La suplementación con ácidos grasos poliinsaturados beneficia la preñez temprana, particularmente del periodo en el que se espera se presente la luteólisis; incrementa la tasa de preñez en vacas inseminadas a tiempo fijo, independientemente de su aporte energético (7; 8), pues modula la producción de prostaglandinas (37); mejora el medio ambiente uterino e incrementa los niveles plasmáticos de progesterona (7). La suplementación con sales de calcio de ácidos grasos poliinsaturados durante 21 días pos inseminación es una alternativa para mejorar el rendimiento reproductivo de vacas de carne y promover la eficiencia en las operaciones del sistema productivo de cría (8).

Las respuestas a la suplementación con grasas en el postparto son inconsistentes (2,37). Hess (51) encontró una disminución significativa en la tasa de concepción al primer servicio, pasando de 50% en vacas no suplementadas a un 28,8% en vacas que recibieron suplementación grasa rica en ácido linoleico. Una vez que el ácido linoleico es absorbido por el sistema digestivo del animal, se transforma en el interior del organismo en ácido araquidónico, el cual es un precursor de prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$) (37), lo que potencialmente eleva la concentración de esta y posiblemente produce efectos adversos. Una elevada concentración de $\text{PGF}_{2\alpha}$ durante el día 4 a 9 del ciclo estral no solo causa luteólisis,

sino que además tiene un efecto embriotóxico directo (52), situación que puede explicar la baja tasa de concepción en el primer servicio de vacas de carne suplementadas con grasas ricas en ácido linoleico durante el postparto (2).

4. SUPLEMENTACIÓN DE PROTEÍNA EN EL POSTPARTO

Los requerimientos de proteína metabolizable en ganado de carne son influenciados por la edad y el estado de producción del animal (53). Los requerimientos de proteína metabolizable de ganado de carne se ven incrementados hasta en un 25% en la etapa del postparto (54). Después de llenar los requerimientos de consumo de proteína degradable en rumen, el suministro de proteína adicional, en forma de proteína sobrepasante, puede mejorar el rendimiento reproductivo en hembras de carne, debido a que: minimiza los cambios de peso y condición corporal en el postparto; acelera el inicio de la pubertad en novillas; disminuye el anestro postparto e incrementa la tasa de preñez (31,55,56,57); además, la suplementación con proteína sobrepasante a un nivel medio incrementa los niveles de la GnRH e induce la secreción de la LH en el postparto (23). La suplementación postparto con proteína no degradable en el rumen puede ser una estrategia efectiva para incrementar la cantidad suministrada de proteína metabolizable (53).

Los mecanismos exactos por los cuales la suplementación con proteína no digerible en rumen a vacas de carne durante el postparto mejoran los resultados reproductivos no están bien dilucidados (42), pudiéndose atribuir a procesos metabólicos y señales endocrinas (23), que pueden producir cambios en las funciones del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (57).

Con el aumento en la demanda de etanol también se incrementa la disponibilidad de subproductos de su industria como los granos secos de destilería, los cuales tienen un precio

más competitivo en comparación con otras fuentes de proteína y energía (58). Durante el proceso de fermentación de granos, solo el almidón es extraído, por lo que después de la fermentación, aproximadamente una tercera parte de la materia seca original del grano, se recupera, conteniendo en sí el resto de nutrientes asociados al grano de forma más concentrada. Por ejemplo, el contenido de proteína cruda se incrementa aproximadamente de un 9% en el grano original a un 27% en el residuo de destilería. Una elevada fracción de la proteína contenida en los granos de destilería escapa a la fermentación ruminal, porque el gluten del grano no es removido durante el proceso industrial (59), siendo equivalente a un 60-70% del total de contenido de proteína (60).

Con respecto al aporte energético, el componente principal de los granos secos de destilería es la grasa, con aportes promedio de 12% (42), lo que equivale a un contenido hasta tres veces mayor en comparación con el valor de esta en el grano original, incrementando finalmente el tránsito de ácidos grasos insaturados hacia el duodeno (61). Los suplementos proteicos que poseen también altos contenidos de grasa, pueden ir en detrimento del rendimiento de la vaca (62,63). Inclusiones en la dieta de granos secos de destilería superiores al 30% se ha asociado típicamente con una disminución de la cantidad de ingesta de materia seca (61,64), lo cual se ha atribuido al elevado contenido de grasa y sulfuro de la dieta (58). Sin embargo, Leupp et al. (64) mostraron que la inclusión de granos secos de destilería como sustituto de maíz, incrementó la digestibilidad postruminal de la proteína cruda, encontrando digestibilidad de 55,6% para una dieta con 0% de inclusión y 67,3% de digestibilidad para una dieta con 60% de inclusión, lo que compensa la disminución de la digestibilidad ruminal y afecta positivamente la digestibilidad total.

Engel et al. (42) reportaron que la suplementación en el postparto de vacas de carne, con granos secos de destilería, o cáscaras de soya, mantiene

la condición corporal por encima de 5 (escala 1 a 9) desde el momento del parto, hasta el destete. Además, encontraron una tasa de preñez superior en vacas que fueron suplementadas con granos secos de destilería (94%), comparado con vacas que fueron suplementadas solo con cáscaras de soya (84%).

Las respuestas a la suplementación con grasas en el postparto son inconsistentes (2,37), mientras la suplementación con soya ha mostrado los resultados más consistentes (63). La soya cruda posee un elevado contenido de proteína y tiene un elevado valor energético, debido a su alto contenido de grasa (62).

La inclusión de soya en la dieta de vacas postparto resulta en una menor pérdida de peso y una mayor ganancia de condición corporal (63), presumiblemente porque el suministro de soya alivia la deficiencia de amoníaco (NH_3) proporcionado por el consumo de pasturas con bajo contenido de proteína cruda (62).

La harina de algodón extruida contiene una alta concentración de proteína cruda (30,6%) y, por consiguiente, puede ser usada como un suplemento de fuente proteico para ganado de carne que consume un forraje con inadecuado contenido de proteína cruda, además que aparentemente el aporte energético adicional de la harina de algodón, debido a su elevado contenido de grasa, es necesario para minimizar las pérdidas de peso y condición corporal (65).

La suplementación en el postparto de vacas de carne con harina de algodón extruida es una estrategia efectiva para minimizar la pérdida de peso corporal y condición corporal durante el postparto (65). Winterholler et al. (65) reportaron una pérdida de condición corporal de 0,33 unidades durante el postparto temprano de vacas de carne. Sin embargo, esta pérdida tiene una diferencia significativa en comparación con los resultados obtenidos por Steele et al. (62) en un trabajo previo, en el cual reportaron una pérdida más dramática de 1,66 unidades de

condición corporal en vacas que no recibieron un suplemento proteico.

Varios autores reportaron resultados positivos con respecto a la condición corporal y rendimiento reproductivo en vacas de carne que recibieron suplementación con fuentes proteicas durante el postparto. Oliveira Filho et al. (11) reportaron que el suministro postparto de un suplemento a base de soya, con 3000 Kcal de energía digestible y 16% de proteína cruda, mantiene la condición corporal de vacas durante los primeros 15 días postparto. De manera similar, Steele et al. (62) reportaron que vacas que no fueron suplementadas con proteína durante el postparto, perdieron 59,2 kg más de peso vivo y 1,2 unidades de calificación de condición corporal, comparadas con vacas que sí recibieron suplementación de proteína durante el postparto.

Triplett et al. (66) reportaron que el suministro de un suplemento proteico durante el periodo postparto, con 56,4% de proteína sobrepasante en relación con el total de proteína cruda, incrementó la tasa de concepción del primer servicio en un 28,4% en comparación con vacas que recibieron durante el mismo periodo un suplemento con solo 38,1% de proteína sobrepasante. Sin embargo, en este mismo estudio las vacas que recibieron una suplementación con un contenido de 75,6% de proteína sobrepasante no presentaron alguna mejoría de la función reproductiva, en comparación con las que recibieron suplemento con 56,4% de proteína sobrepasante.

Existen reportes negativos con respecto al suministro de proteína sobrepasante, pues consumos elevados de esta se han visto relacionados con alteraciones en la fertilidad de vacas, tanto de carne como de leche. Los mecanismos fisiológicos por los cuales el exceso de proteína tiene efectos negativos sobre la función reproductiva, con la consecuente elevación de los niveles plasmáticos de úrea y amoníaco, conllevan a la exposición de los

efectos tóxicos de estos metabolitos sobre los oocitos, el embrión y el medio ambiente uterino (9,67); además, se encuentra una disminución de las concentraciones séricas de la FSH (Hormona Folículo Estimulante) y la LH y el contenido de estas mismas hormonas en la glándula pituitaria, comparados con los niveles basales encontrados en vacas que recibieron una cantidad media o baja de suplemento proteico. Esto sugiere que durante el periodo de suplementación de proteína sobrepasante en altos niveles, se presenta un cambio en las funciones del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Estos eventos reproductivos pueden alterarse por vía endocrina y factores metabólicos, y pueden ser asociados con cambios en la síntesis, almacenamiento y secreción de gonadotropinas por parte de la pituitaria anterior o alteraciones en la dinámica folicular (57).

5. AMAMANTAMIENTO RESTRINGIDO Y DESTETE PRECOZ

Los dos mayores factores que regulan la duración del periodo de anestro postparto son: la succión realizada por el ternero mientras se alimenta de leche y el consumo de nutrientes por parte de la madre, antes y después del parto. La succión realizada por el ternero tiene un efecto inhibitorio en la secreción pulsátil de la GnRH durante el periodo de postparto temprano, pues envía una señal al eje hipotálamo-hipófisis-ovario, sobre el estado metabólico del animal. A su vez, la disminución en la secreción de la GnRH causa la reducción de la secreción pulsátil de la LH y extiende la duración del periodo anovulatorio postparto en vacas de carne (68).

En un sistema de cría convencional, los terneros son destetados cuando tienen entre 180 y 220 días de edad (69,70). El destete precoz es definido como la separación del ternero y su madre, con una edad inferior a los 180 días (69). El amamantamiento restringido y el destete precoz, usualmente entre el día 70 a 90

postparto, son recomendados para incrementar el rendimiento reproductivo en sistemas de producción extensivos (71,72,73).

La aplicación de un destete precoz exige un monitoreo casi permanente durante los primeros días posteriores a la separación del ternero con su madre, pues la tasa de morbilidad y mortalidad de terneros que inician el consumo de materia seca inmediatamente, o incluso antes del momento del destete, es menor en comparación a los animales que no comen por 24 a 48 horas posteriores al destete; además, el consumo de alimento es el primer indicador de que el ternero se encuentra saludable. El consumo de alimento balanceado al inicio del programa es bajo, y representa entre el 1 y el 1,5% del peso vivo del ternero y se va incrementando de forma gradual, hasta llegar a un nivel de consumo en 14 días, de aproximadamente 2,5% del peso vivo (69). Una estrategia adecuada para que la transición de los terneros al momento del destete sea más fácil, es pre-acondicionar a los animales 3 o 4 semanas antes del destete con un *Creep Feeding* (Figura 2), que es un alimentador selectivo por categoría animal, el cual se ha visto exitosamente usado para estimular el consumo de alimentos sólidos y reducir progresivamente la dependencia nutricional y social de la madre (69,74).

La frecuencia de amamantamiento afecta el intervalo desde el parto hasta la primera ovulación, siendo este más corto en vacas a las que se les restringe el amamantamiento de sus crías, y más largo en vacas que tienen un amamantamiento *ad libitum* (75). No solamente la nutrición determina el retorno de la actividad reproductiva de la hembra bovina, pues la presencia del ternero también tiene un importante efecto en la reiniciación de la ciclicidad ovárica (72). Los efectos del amamantamiento restrictivo en el reinicio de la actividad ovárica se debe a la interrupción de la inhibición realizada por la succión sobre el eje hipotálamo-hipófisis-ovario o por la reducción en los requerimientos de energía de la producción de leche (73).

El destete precoz se utiliza principalmente en épocas cuando la comida es escasa o muy costosa, así como en épocas cuando se encuentra en riesgo la capacidad reproductiva de las hembras, debido a un elevado requerimiento de nutrientes por la lactación o una pobre calidad de la dieta que consume (69). El destete precoz incrementa el peso y la condición corporal de las vacas durante el postparto, siendo este efecto más pronunciado en vacas primerizas, además que tiene efecto acumulativo en el rendimiento reproductivo futuro (72). Esta herramienta es usada para maximizar las oportunidades de preñez durante la época reproductiva y concentrar los nacimientos en el periodo de mayor disponibilidad de comida (75). La aplicación del destete precoz, antes de iniciar o en la fase temprana de la estación de monta, no es una estrategia de manejo común. Usualmente

en este punto del ciclo productivo es considerada una herramienta de último momento para solucionar un problema que se encuentra más frecuentemente relacionado con una nutrición inadecuada antes o después del parto (69).

El destete precoz (76) y la restricción del amamantamiento con plantillas nasales durante 7 o 14 días (71,73) (Figura 3) ejercen un efecto positivo en la recuperación de condición corporal, debido a que las demandas energéticas para producción de leche son reducidas. De Castro et al. (76) encontraron que vacas a las cuales se les realizó destete precoz, tuvieron un incremento de 0,5 y 1 unidades de condición corporal, a los 1 y 2,5 meses postparto, respectivamente, en comparación con vacas que tuvieron un amamantamiento *ad libitum* en condiciones de pastoreo similares.



Figura 2. Terneros lactantes, bajo suplementación con sistema *Creep Feeding*.

El uso de plantillas nasales en terneros induce la ovulación en una proporción significativa de animales; sin embargo, una proporción importante de estos animales falla en la reanudación de ciclos estrales en intervalos

regulares. Esto se puede explicar porque el uso de plantillas nasales restringe la succión, pero no los efectos de la presencia del ternero, por lo que este tratamiento podría ser considerado un "estímulo intermedio" (71).



Figura 3. Ternero bajo amamantamiento restringido con plantilla nasal (fotografía cortesía MSc. María Carolina Villani Miguel, Brasil).

La respuesta en la reiniciación de la actividad luteal en vacas de carne, con respecto al destete precoz o a la separación temporal de los terneros y sus madres, es muy variado, además, son influenciadas por las reservas energéticas del animal (71,77). Alvarez Rodríguez et al. (75) reportaron que vacas que se manejaron con amamantamiento restringido (una vez al día por 30 minutos) mantuvieron tanto el peso vivo, como la condición corporal durante los primeros 3 meses postparto, mientras que las vacas que se manejaron con amamantamiento *ad libitum* perdieron casi un 4% del peso corporal inicial, a lo largo del mismo periodo. Vaz y Lobato (72) mostraron diferencias al momento de realizar el destete convencional, en promedio de 7,4% del peso corporal y de 0,47 unidades de condición corporal (escala de 1 a 5) a favor de vacas con destete precoz. En este mismo estudio obtuvieron una tasa de preñez de 86,34% en vacas con destete precoz, comparada con una tasa de 55,45% en vacas con destete convencional.

Para reducir la duración del anestro postparto en vacas de carne, alternativas como estrategias de manipulación de amamantamiento y tratamientos hormonales están disponibles (76).

Las respuestas reproductivas a la restricción de succión del ternero a través del uso de plantillas nasales es variable (71), situación que se logra mejorar cuando esta herramienta es aplicada junto con tratamientos de progestágenos, lo que los convierte en una excelente herramienta cuando los vientres se encuentran en condiciones nutricionales deficientes, como las que se presentan durante un período de sequía o en vacas primíparas, en las que la lactancia deprime profundamente la actividad reproductiva (78).

La asociación del destete precoz con tratamientos con progestágenos resulta en una mayor proporción de vacas que reanudan su actividad ovárica al inicio de la época de monta (76). La respuesta a esta estrategia conjunta es dependiente del momento en que estas se combinan y del balance energético de las vacas. En un estudio realizado por Vittone et al. (78), en el que realizó un destete precoz en diferentes momentos en relación con un tratamiento con progestágenos, encontraron que en vacas de baja condición corporal, la mayor tasa de ovulación se obtuvo cuando se realizó el destete al momento de iniciar el tratamiento con progesterona. En cambio, cuando se realizó el destete 10 días antes del tratamiento hormonal, la tasa ovulatoria

fue menor y aún más baja cuando se realizó al finalizar el tratamiento. En el mismo trabajo, estos investigadores encontraron que las vacas de baja condición corporal son las que presentan una mayor respuesta al destete, ya que este mejora su balance energético. En el caso de vacas de alta CC, sin importar el momento en que el destete sea realizado con relación al uso de sincronización con progesterona, no tiene un efecto significativo sobre la fertilidad de estas.

6. CONCLUSIONES

La medición de la condición corporal en vacas de carne durante el postparto es una herramienta válida para la medición de las reservas energéticas del animal durante este periodo, siendo útil para predecir el desempeño

reproductivo durante el siguiente ciclo, esto debido a la estrecha relación que tiene con la duración del anestro postparto, intervalo parto concepción, intervalo entre partos, desarrollo folicular, tasa de preñez y fertilidad. El uso de la suplementación con alimentos ricos en lípidos poliinsaturados o proteína durante el postparto, mejora la condición corporal y optimiza el rendimiento reproductivo de vacas de carne, ya sea actuando directamente sobre el estatus energético del animal o sobre el eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Estrategias de manejo como el amamantamiento restringido o el destete precoz son efectivas y mejoran los resultados de tratamientos con progestágenos cuando estos son aplicados de forma simultánea, pero su uso se restringe solo cuando las fuentes nutricionales son escasas o la aplicación de estrategias nutricionales no es posible.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ezanno P. Dynamics of a tropical cattle herd in a variable environment: a modeling approach in order to identify the target period and animals on which concentrating management efforts to improve productivity. *Ecol Model* 2005; 188: 470-82.
2. Hess BW, Lake SL, Scholljegerdes EJ, Weston TR, Nayigihugu V, Molle JDC, et al. Nutritional controls of beef cow reproduction. *J Anim Sci* 2005; 83: E90-E106.
3. Ciccioli NH, Wettemann RP, Spicer LJ, Lents CA, White FJ, Keisler DH. Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine function and reproductive performance of primiparous beef cows. *J Animal sci* 2003; 81:3107-20.
4. Correa A, Uribe-Velásquez LF. La condición corporal como herramienta para pronosticar el potencial reproductivo en hembras bovinas de carne. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín* 2010; 63(2):5607-19.
5. Ayres H, Machado R, De Souza J, Garcia C, Gonçalves C, Sampaio P. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. *Livest Sci* 2009; 123:175-9.
6. Jones AL, Lamb GC. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. *Theriogenology* 2008; 69:107-15.
7. Lopes CN, Scarpa AB, Cappellozza BI, Cooke RF, Vasconcelos JLM. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on reproductive performance on *Bos indicus* beef cows. *J Anim Sci* 2009; 87:3935-43.
8. Lopes CN, Cooke RF, Reis MM, Peres RFG, Vasconcelos JLM. Strategic supplementation of calcium salts of polyunsaturated fatty acids to enhance reproductive performance of *Bos indicus* beef cows. *J Anim Sci* 2011; 89:3116-24.
9. Roche JR, Burke CR, Meier S, Walker CG. Nutrition x reproduction interaction in pasture-based systems: is nutrition a factor in reproductive failure? *Anim Prod Sci* 2011; 51:1045-66.
10. Cassady JM, Maddock TD, DiCostanzo A, Lamb GC. Initial body condition score affects hormone and metabolite response to nutritional restriction and repletion in yearling postpuberal beef heifers. *J Anim Sci* 2009; 87:2262-73.
11. Oliveira Filho BD, Toniollo GH, Oliveira AFD, Viu MAO, Ferraz HT, Lopes DT, et al. The effect of offering an energy and protein supplement to grazing canchim beef cows either postpartum or both pre- and postpartum on lipid blood metabolites and folliculogenesis. *Anim Reprod Sci* 2010; 121:39-45.
12. Dominguez MM. Effects of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows. *Theriogenology* 1995; 43:1405-18.
13. Maciel AB. Proposta de avaliação da condição corporal em vacas Holandesa e Nelore. Botucatu, 2006. Dissertação (Mestrado). UNESP Botucatu, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-graduação em Zootecnia.
14. Whitman RW. Weight change, body condition and beef-cow reproduction. Fort Collins, 1975. Dissertation (Post Doctorate). Colorado State Univ. College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences.
15. Nicholson MJ, Butterworth MH. Grille de notation de l'état d'engraissement des bovins zebus. Addis-Abeba: Centre international pour l'élevage en Afrique; 1989. p. 7-9.
16. Houghton P, Lemenager R, Horstman L, Hendrix K, Moss G. Effects of body composition, pre- and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. *J Anim Sci* 1990; 68:1438-46.

17. Frasinelli CA, Casagrande HJ, Veneciano JH. La condición corporal como herramienta de manejo em rodeos de cría bovina. INTA- Estación Experimental Agropecuaria San Luis, Información Técnica 2004; 168.
18. Lalman DL, Keisler DH, Williams JE, Scholljegerdes EJ, Mallett DM. Influence of postpartum weight and body condition change on duration of anestrus by undernourished suckled beef heifers. *J Anim Sci* 1997; 75:2003-8.
19. Fiems LO, Van Caelenbergh W, Vanacker JM, De Campeneere S, Seynaeve M. Prediction of empty body composition of double-muscled beef cows. *Livest Prod Sci* 2005; 92:249-59.
20. Montiel F, Ahuja C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Anim Reprod Sci* 2005; 85:1-26.
21. Berry DP, Veerkamp RF, Dillon P. Phenotypic profiles for body weight, body condition score, energy intake, and energy balance across different parities and concentrate feeding levels. *Livest Sci* 2006; 104:1-12.
22. Short RE, Adams DC. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. *Can J Anim Sci* 1988; 68:29-39.
23. Kane KK, Creighton KW, Petersen MK, Hallford DM, Remmenga MD, Hawkins DE. Effects of varying levels of undegradable intake protein on endocrine and metabolic function of young post-partum beef cows. *Theriogenology* 2002; 57:2179-91.
24. Beam SW, Butler WR. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J Dairy Sci* 1998; 81:121-31.
25. De Vries MJ, Van der beek S, Kaal-lansbergen LMTE, Ouweltjes W, Wilmink JBM. Modeling of energy balance in early lactation and the effect of energy deficits in early lactation on first detected estrus postpartum in dairy cows. *J Dairy Sci* 1999; 82:1927-34.
26. Lake SL, Scholljegerdes EJ, Atkinson RL, Nayigihugu V, Paisley SI, Rule DC, et al. Body condition score at parturition and postpartum supplemental fat effects on cow and calf performance. *J Anim Sci* 2005; 83:2908-17.
27. Lake SL, Scholljegerdes EJ, Nayigihugu V, Murrieta CM, Atkinson RL, Rule DC, et al. Effects of body condition score at parturition and postpartum supplemental fat on adipose tissue lipogenic activity of lactating beef cows. *J Anim Sci* 2006; 84:397-404.
28. Bossis I, Wettemann RP, Welty SD, Vizcarra J, Spicer LJ. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. *Biol. Reprod* 2000; 62:36-1444.
29. Sullivan TM, Micke GC, Perry VEA. Influences of diet during gestation on potential postpartum reproductive performance and milk production of beef heifers. *Theriogenology* 2009; 72:1202-14.
30. Renquist BJ, Oltjen JW, Sainz RD, Calvert CC. Relationship between body condition score and production of multiparous beef cows. *Livest Sci* 2006; 104:147-55.
31. Lents CA, White FJ, Ciccioli NH, Wettemann RP, Spicer LJ, Lalman DL. Effects of body condition score at parturition and postpartum protein supplementation on estrous behavior and size of the dominant follicle in beef cows. *J Anim Sci* 2008; 86:2549-56.
32. Flores R, Looper ML, Rorie RW, Lamb MA, Reiter ST, Hallford DM, et al. Influence of body condition and bovine somatotropin on estrous behavior, reproductive performance, and concentrations of serum somatotropin and plasma fatty acids in postpartum Brahman-influenced cows. *J Anim Sci* 2007; 85:1318-29.

33. Freetly HC, Nienaber JA, Brown-Brandl T. Partitioning of energy during lactation of primiparous beef cows. *J Anim Sci* 2006; 84:2157-62.
34. Giraldo CA, Oliveira M, Ruiz ZT. Efecto de la variación en el peso y la condición corporal, y la expresión de receptores de leptina y hormona luteinizante, sobre la anovulación posparto en vacas cebú (*Bos indicus*). *Rev Colomb Cienc Pecu* 2008; 21:228-38.
35. Bishop DK, Wettemann RP. Pulsatil infusión of gonadotropin-releasing hormone initiates luteal activity in nutritionally anestrous beef cows. *J Anim Sci* 1993; 71:2714-20.
36. Vizcarra JA, Wettemann RP, Braden TD, Turzillo AM, Nett TM. Effect of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) pulse frequency on serum and pituitary concentrations of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone, GnRH receptors, and messenger ribonucleic acid for gonadotropin subunits in cows. *Endocrinology* 1997; 138(2).
37. Funston RN. Fat supplementation and reproduction in beef females. *J Anim Sci* 2004; 82:E154-E161.
38. Santos JEP, Bilby TR, Thatcher WW, Staples CR, Silvestre. Long chain fatty acids of diets as factors influencing reproduction in cattle. *Reprod Dom Anim* 2008; 43(2):23-30.
39. Hess BW, Moss GE, Rule DC. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *J Anim Sci* 2008; 86:E188-E204.
40. Espinoza-Villavicencio JL, Ortega-Pérez R, Palacios-Espinosa A, Guillén-Trujillo A. Efecto de la suplementación de grasas sobre características productivas, tasas de preñez y algunos metabolitos de los lípidos en vacas para carne en pastoreo. *Arch Med Vet* 2010; 42:25-32.
41. De Fries CA, Neuendorff DA, Randel RD. Fat supplementation influences postpartum reproductive performance in Brahman cows. *J Anim Sci* 1998; 76:864-70.
42. Engel CL, Patterson HH, Perry GA. Effect of dried corn distillers grains plus soluble compared with soybean hulls, in late gestation heifers diets, on animal and reproductive performance. *J Anim Sci* 2008; 86:1697-708.
43. Bottger JD, Hess BW, Alexander BM, Hixon DL, Woodard LF, Funston RN, et al. Effects of supplementation with high linoleic or oleic cracked safflower seeds on postpartum reproduction and calf performance of primiparous beef heifers. *J Anim Sci* 2002; 80:2023-30.
44. Lake SL, Weston TR, Scholljegerdes EJ, Murrieta CM, Alexander BM, Rule GE, et al. Effects of postpartum dietary fat and body condition score at parturition on plasma, adipose tissue, and milk fatty acid composition of lactating beef cows. *J Anim Sci* 2007; 85:717-30.
45. Araujo DB, Cooke RF, Hansen GR, Staples CR, Arthington JD. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on performance and physiological responses of growing cattle after transportation and feedlot entry. *J Anim Sci* 2010; 88:4120-32.
46. Cooke RF, Bohnert DW, Moriel P, Hess BW, Mills RR. Effects of polyunsaturated fatty acid supplementation on ruminal in situ forage degradability, performance, and physiological responses of feeder cattle. *J Anim Sci* 2011; 89:3677-89.
47. Darckley JK, Klusmeyer TH, Trusk AM, Clark JH. Infusion of long-chain fatty acids varying in saturation and chain length into the abomasum of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1992; 75:1517-26.
48. Allen M. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating cattle. *J Dairy Sci* 2000; 83:1598-624.
49. Onetti SG, Grummer RR. Response of lactating cows to three supplemental fat sources as affected by forage in the diet and stage of lactation a meta-analysis of literature. *Anim Feed Sci Technol* 2004; 115:65-82.

50. Bauman DE, Griinari JM. Regulation and nutritional manipulation of milk fat low-fat milk syndrome. *Livest Prod Sci* 2001; 70:15-29.
51. Hess BW. Supplementing Fat to the Cow Herd. En: Proceedings the range beef symposium, (28° : 2003 : Mitchell, NE). *Memories of: Proceedings the range beef symposium XVIII*. Mitchel; 2003. p. 156-165.
52. Inskeep EK. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *J Anim Sci* 2004; 82:E24-E39.
53. Encinias AM, Lardy GP, Leupp JL, Encinias HB, Reynolds LP, Caton JS. Efficacy of using a combination of rendered protein products as an undegradable intake protein supplement for lactating, winter-calving, beef cows fed bromegrass hay. *J Anim Sci* 2005; 83:187-95.
54. NRC. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 7th rev. ed. Washington, DC: Natl. Acad. Press; 1996.
55. Rakestraw J, Lusby KS, Wettemann RP, Wagner JJ. Postpartum weight and body condition loss and performance of fall-calving cows. *Theriogenology* 1986; 26(4):461-73.
56. Sasser RG, Williams RJ, Bull RC Ruder CA, Falk DG. Postpartum reproductive performance in crude protein-restricted beef cows: return to estrus and conception. *J Anim Sci* 1988; 66:3033-39.
57. Kane KK, Hawkins DE, Pulsipher GD, Denniston DJ, Krehbiel CR, Thomas MG, et al. Effect of increasing levels of undegradable intake protein on metabolic and endocrine factors in estrous cycling beef heifers. *J Anim Sci* 2004; 82:283-91.
58. Radunz AE, Fluharty FL, Day ML, Zerby HN, Loerch SC. Prepartum dietary energy source fed to beef cows: I. effects on pre- and postpartum cow performance. *J Anim Sci* 2010; 88:2717-28.
59. Stock RA, Lewis JM, Klopfenstein TJ, Milton CT. Review of new information on the use of wet and dry milling feed by-products in feedlot diets. *American Society of Animal Science*; 2000.
60. Erickson GE, Klopfenstein TJ, Adams DC, Rasby RJ. *Corn processing Co.products manual. A review of current research on distillers grains and corn gluten*. Nebraska corn board – IANR. Nebraska; 2005. p. 3-11.
61. Vander Pol KJ, Luebbe MK, Crawford GI, Erickson GE, Klopfenstein TJ. Performance and digestibility characteristics of finishing diets containing distillers grains, composites of corn processing coproducts, or supplemental corn oil. *J Anim Sci* 2009; 87: 639-52.
62. Steele LD, Banta JP, Wettemann RP, Krehbiel CR, Lalman DL. Drought-stressed soybean supplementation for beef cows. *Prof Anim Sci* 2007; 23:358-65.
63. Banta JP, Lalman DL, Krehbiel CR, Wettemann RP. Whole soybean supplementation and cow age class: Effects on intake, digestion, performance, and reproduction of beef cows. *J Anim Sci* 2008; 86:1868-78.
64. Leupp JL, Lardy GP, Karges KK, Gibson ML, Caton JS. Effects of increasing level of corn distillers dried grains with soluble on intake, digestion, and ruminal fermentation in steers fed seventy percent concentrate diets. *J Anim Sci* 2009; 87:2906-12.
65. Winterholler SJ, Lalman DL, Hudson MD, Goad CL. Supplemental energy and extruded-expelled cottonseed meal as a supplemental protein source for beef cows consuming low-quality forage. *J Anim sci* 2009; 87:3003-12.
66. Triplett BL, Neuendorff DA, Randel R D. Influence of undegraded intake protein supplementation on milk production, weight gain, and reproductive performance in postpartum Brahman cows. *J Anim Sci* 1995; 73: 3223-29.

67. Leroy JL, Van Soom A, Opsomer G, Goovaerts IG, Bols PE. Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part II. Mechanisms linking nutrition and reduced oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. *Reprod Domest Anim* 2008; 43:623-32.
68. Wettemann RP, Lents CA, Ciccioioli NH, White FJ, Rubio I. Nutritional and suckling mediated anovulation in beef cows. *J Anim Sci* 2003; 81:E48-E59.
69. Rasby R. Early weaning beef calves. *Vet Clin Food Anim* 2007; 23:29-40.
70. Enriquez D, Hotzel MJ, Ungerfeld R. Minimising the stress of weaning of beef calves: a review. *Acta Vet Scand* 2011, 53:28.
71. Quintans G, Vazquez AI, Weigel KA. Effect suckling restriction with nose plates and premature weaning on postpartum anestrus interval in primiparous cows under range conditions. *Anim Reprod Sci* 2009; 116:10-8.
72. Vaz RZ, Lobato JFP. Effects of the weaning age of calves on somatic development and on reproductive performance of beef cows. *R. Bras. Zootec* 2010; 39:1058-67.
73. De Castro T, Ibarra D, Rodriguez M, Valdez L, Benquet N, Rubianes E. Resumption of postpartum ovarian cyclicity after different suckling manipulation treatments in primiparous beef cows. *Anim Prod Sci* 2011; 51:111-4.
74. Blanco M, Villalba D, Ripoll G, Sauerwein H, Casasús I. Effects of preweaning concentrate feeding on calf performance, carcass and meat quality of autumn-born bull calves weaned at 90 or 150 days of age. *Animal* 2008; 2:779-89.
75. Álvarez-Rodríguez J, Palacio J, Sanz A. Metabolic and luteal function in winter-calving Spanish beef cows as affected by calf management and breed. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2010; 94:385-94.
76. De Castro T, Ibarra D, Valdez L, Rodriguez M, Benquet N, Garcia-Lagos F, et al. Effects of early weaning and progesterone-estradiol treatments on postpartum reproductive efficiency of grazing anestrus beef cows. *Anim. Reprod* 2006; 3(4): 396-402.
77. Bishop DK, Wettemann RP, Spicer LJ. Body energy reserves influence the onset of luteal activity after early weaning of beef cows. *J Anim Sci* 1994; 72:2703-8.
78. Vittone JS, Aller JF, Otero G, Scena C, Alberio R.H, Cano A. Destete precoz y desempeño reproductivo en vacas tratadas con progesterona intravaginal. *Arch Zootec* 2011; 60(232):1065-76.

NORMAS EDITORIALES

La revista BIOSALUD es una publicación de periodicidad anual editada en la Universidad de Caldas cuya vocación es la publicación de artículos originales, de revisión, de reflexión y de reportes de caso asociados con diferentes temas de la salud humana; esta publicación ha sido concebida también como una tribuna de opinión sobre diferentes temas relacionados con las políticas y la problemática de la salud y de la investigación en salud en Colombia.

La revista ha sido catalogada en la categoría B por el Sistema Nacional de Indexación y homologación de revistas especializadas de CT+I (Publindex), desde el año 2008, con una vigencia de dos años.

DEFINICIÓN DE CADA UNO DE LOS TIPOS DE ARTÍCULOS QUE SE PUBLICAN EN LA REVISTA

1. Artículo de investigación científica y tecnológica: es un documento que presenta de manera detallada los resultados obtenidos a partir de un proyecto de investigación. Este artículo debe contener: el título, el resumen en español e inglés, una introducción, los materiales y métodos, los resultados obtenidos y la discusión.
2. Artículo de reflexión: es un documento que presenta un análisis personal y crítico de los resultados de una investigación sobre la base de fuentes originales
3. Artículo de revisión: documento en el cual se hace un análisis y presentación del estado del arte relacionado con un tópico de investigación específico; en este documento se deben resaltar los aportes de los autores en la ampliación de la frontera del conocimiento sobre el tema específico; este documento debe contener al menos 50 referencias provenientes de artículos originales.
4. Artículo corto: es un documento en el que se hace un avance de los resultados obtenidos en el desarrollo de una investigación y que por el impacto de dichos resultados es importante hacer una publicación de los mismos antes de finalizado el proceso investigativo.
5. Reporte de caso: es aquel escrito en el que se presentan los resultados de una situación particular en la cual se dan a conocer hallazgos nuevos, metodologías nuevas o terapias nuevas, asociado con una revisión corta y crítica del estado del arte a nivel mundial de casos similares presentados.
6. Revisión de tema: es el documento en el cual se hace una actualización sobre un tema específico, acompañado además de un análisis de los datos obtenidos para la realización de dicha revisión.
7. Editorial: documento escrito por el editor o cualquier miembro del comité editorial o por una persona invitada por el editor. El editorial puede estar relacionado con problemas actuales en el campo de la salud, en la educación en salud o también un análisis de nuevos hallazgos en el campo de la investigación biomédica.
8. Carta al editor: es un documento enviado al editor por los lectores de la revista en el cual se hacen críticas, se refutan resultados o se hacen reseñas relacionados con artículos publicados en números anteriores de la revista y que a juicio del comité editorial es importante su conocimiento por la comunidad científica.

9. Reseñas bibliográficas: sección de la revista en la que se hacen comentarios sobre publicaciones recientes realizadas por la comunidad científica de la Facultad de Ciencias para la Salud en particular y por publicaciones realizadas a nivel nacional o mundial.

Para la presentación de los diferentes artículos se debe tener en cuenta los requisitos de uniformidad para manuscritos presentados a revistas biomédicas (normas Vancouver), extraídas de: International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirement for Manuscript Submitted to Biomedical Journal: Writing and editing for Biomedical Publications, updated February, 2006, IN: <http://www.icmje.org/>

ASPECTOS A TENER EN CUENTA ANTES DE LA REMISIÓN DE MANUSCRITOS:

Originalidad

Cualquier artículo enviado a la revista para su publicación debe ser inédito y los autores de dicho artículo deben remitir al director de la revista un documento escrito en el cual dan su consentimiento para la publicación del mismo en caso de que éste haya sido evaluado satisfactoriamente; en dicho consentimiento los autores también darán fe de que dicho artículo no ha sido publicado total o parcialmente en otra publicación escrita o electrónica, esto con el fin de no infringir las leyes relacionadas con derechos de autor.

Sin embargo, es posible hacer una segunda publicación en el mismo idioma de la primera publicación o en un segundo idioma cuando: hay consentimiento de los directores de ambas revistas; la prioridad de la primera publicación se respete por al menos una semana; el grupo de lectores sea diferente; la segunda publicación refleje fielmente la información e interpretaciones de la primera.

En la segunda versión a pie de página, se informará a los lectores que dicho artículo ya ha sido publicado parcial o totalmente en otra publicación, citándose dicha publicación; el permiso para la segunda publicación debe ser gratuito.

Protección de identidad de sujetos sometidos a estudio

Cuando en una investigación se hayan hecho estudios en humanos, se debe evitar al máximo la descripción de detalles que sirvan para identificar una persona o personas sujetos de estudio; está prohibido hacer la publicación de nombres de pacientes, iniciales, números de historias clínicas, fotografías, genealogías o datos personales que puedan lesionar su derecho a la intimidad; si dichos datos es necesario publicarlos, se requiere el consentimiento escrito de dichas personas; en dicho consentimiento debe constar que se conoce y entiende el manuscrito a publicar y están de acuerdo con la publicaciones de las descripciones o imágenes que se hagan allí relacionadas con las personas en cuestión, incluso si el material sujeto de posible identificación va a estar disponible por Internet luego de su publicación. Este consentimiento informado debe ser remitido junto con el manuscrito para su revisión.

Asimismo cuando en los experimentos se utilizan animales y humanos se debe indicar si los procedimientos seguidos están en concordancia con las normas de los comités de ética médica y animal de la institución patrocinadora de la investigación y con la declaración de Helsinki de 1975, actualizada en el año 2000; para el caso de los animales de experimentación se debe indicar si se siguieron los lineamientos relacionados con el uso y cuidado de los animales de laboratorio.

REQUISITOS PARA LA PREPARACIÓN Y REMISIÓN DE MANUSCRITOS

Principios generales

El texto de los artículos producto de la observación y la experimentación usualmente está dividido en secciones como: introducción, materiales y métodos, resultados y discusión; los artículos extensos necesitan ser divididos en subsecciones especialmente en los resultados y la discusión con el fin de hacer más comprensible su contenido. Otros artículos como por ejemplo: reportes de caso, revisiones, artículos de reflexión y editoriales, probablemente requieren de otros formatos.

El uso del doble espacio en todas las porciones del manuscrito y de márgenes adecuadas, hacen posible que editor y revisores editen el texto línea a línea, agregando comentarios o dudas directamente en el manuscrito. Si los manuscritos son remitidos por vía electrónica, dicho artículo también debe ser escrito a doble espacio ya que también debe ser impreso para su revisión y edición.

La numeración de las páginas también es otro aspecto importante para que los evaluadores y el editor puedan referenciar porciones específicas de los manuscritos. Cada sección del manuscrito debe ir en páginas separadas de la siguiente manera:

Página del título

Debe incluir la siguiente información:

- Título del artículo: debe ser conciso y fácil de entender.
- Nombres de los autores y afiliación institucional.
- Nombre de la sección de la institución a la cual los autores están inscritos, con el correspondiente nombre de dicha institución.
- Correspondencia para los autores: debe contener: dirección, número telefónico, fax y dirección de correo electrónico del autor responsable del manuscrito; también el autor debe colocar si desea que su dirección electrónica sea publicada.
- Nombre y dirección de los autores a quienes se les puede solicitar reimpresiones.
- Fuente o fuentes de los recursos que sirvieron para financiar la investigación.

Resumen y palabras clave

Debe estar en la página siguiente a la página del título. Debe incluirse el resumen en español e inglés. Debe contener un resumen corto de la introducción, los materiales y métodos, los resultados y la discusión, enunciando cada uno de estos apartados antes del contenido de los mismos. Se deben enfatizar aspectos nuevos e importantes

del estudio u observaciones, los procedimientos básicos, hallazgos principales, en lo posible con sus significancias estadísticas y las principales conclusiones. La extensión no debe ser mayor de 300 palabras.

No debe incluir información o aspectos que no son contemplados en el texto, abreviaturas, referencias al texto o citas bibliográficas. Debe redactarse en tercera persona.

Ya que los resúmenes son las partes citadas en muchas bases de datos, se requiere especial cuidado en la redacción de los mismos de modo que el resumen refleje fielmente el contenido de los artículos.

Pueden incluirse entre 3 a 10 palabras clave en español e inglés; éstas pueden ser también frases cortas que capturen los tópicos principales del artículo. Las palabras clave son importantes para la indexación del artículo en las bases de datos. Deben usarse las palabras clave listadas en el Medical Subject Headings (MeSH) del Index medicus: <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>, para las palabras en inglés. Para las palabras clave en español utilizar la página electrónica de la biblioteca virtual en salud; descriptores en ciencias de la salud:

http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IsisScript=../cgi-bin/decserver/decserver.xis&interface_language=e&previous_page=homepage&previous_task=NULL&task=start

Si no hay palabras disponibles para términos recientemente introducidos, ellos pueden ser usados.

Introducción

La introducción contiene un contexto del estudio en el cual se justifica el problema a estudiar, cual es el propósito u objetivos de la investigación; el estado del arte sobre el asunto a investigar apropiadamente referenciado, pero no se deben incluir datos o conclusiones de la investigación a publicar.

Materiales y métodos

Se deben describir aquí las alternativas metodológicas utilizadas para llegar a los resultados obtenidos, no se deben incluir datos producto de la aplicación de dichos métodos; se deben describir claramente los mecanismos de selección de las personas sujetas a observación o de los animales de experimentación, incluyendo los criterios de inclusión. Algunas de las variables utilizadas deben explicarse, por ejemplo la razón por la cual se prefieren individuos de ciertas edades o sexo; en el caso de que se usen variables como etnicidad o raza, se deben enumerar los criterios de clasificación y justificar su relevancia.

Se deben identificar los métodos de medición, los equipos utilizados dando el nombre del fabricante y dirección entre paréntesis. Los procedimientos deben ser enunciados de manera que permitan la reproducción de los mismos por otros investigadores; estos métodos deben ser adecuadamente referenciados y en caso de que ellos hayan sufrido

modificaciones explicar la razón por la cual se han hecho estas modificaciones y además evaluar sus limitaciones. Se deben identificar drogas o sustancias químicas usadas; en el caso de las drogas se debe incluir su nombre genérico, dosis y ruta de administración. Los autores que someten manuscritos de revisión deben incluir una sección describiendo los métodos usados para localizar, seleccionar, extraer y sintetizar datos. Estos métodos deben también ser presentados de manera concisa en el resumen.

Los métodos estadísticos utilizados en el análisis de la información deben ser descritos con suficiente detalle, cuando sea posible cuantificar los hallazgos y presentar ellos con indicadores apropiados de mediciones de error o incertidumbre (intervalos de confianza); se deben definir los términos estadísticos, las abreviaciones y muchos de los símbolos utilizados; se debe especificar el programa estadístico de computación utilizado.

Resultados

Se deben presentar en una secuencia lógica, enunciando los hallazgos principales y más importantes primero. No se deben repetir en el texto todos los datos de las tablas o ilustraciones. Material suplementario o adicional y los detalles técnicos deben ser colocados en un apéndice que no interrumpa el flujo del texto; estos apéndices solo se publicarán en la versión electrónica de la revista.

Los resultados numéricos no solo se deben expresar en porcentaje sino también en números absolutos y se deben explicar los métodos estadísticos usados para analizar los mismos. Se deben restringir las tablas y figuras a aquellas necesarias para la argumentación y valoración de la discusión. No se deben duplicar datos en tablas y gráficas.

Discusión

Enfatizar los aspectos nuevos e importantes del estudio y las conclusiones que surgen de ellos. No repetir datos dados en la introducción o en los resultados. En los estudios experimentales es útil comenzar la discusión resumiendo brevemente los principales hallazgos, posteriormente explicando el porqué de estos resultados; se debe hacer una comparación y contrastación de los resultados con otras investigaciones relevantes; enumerar las limitaciones de la investigación y explorar las implicaciones de los hallazgos para futuras investigaciones y para la práctica clínica si es posible.

Relacionar las conclusiones con los hallazgos del estudio pero evitar afirmaciones y conclusiones que no se puedan confirmar con los datos suministrados; en particular no se deben hacer afirmaciones sobre los beneficios económicos a menos que los manuscritos incluyan datos económicos apropiados y análisis; enunciar hipótesis nuevas si ellas están adecuadamente sustentadas, pero es necesario indicar claramente que estas son hipótesis.

Bibliografía

En los artículos de revisión, se deben utilizar principalmente artículos originales como referencias; evitar el uso de resúmenes como referencias; en caso de que una referencia

no haya sido publicada aún se debe indicar que está “en prensa”; los autores deben obtener un permiso escrito para citar tales artículos así como también verificar que ellos han sido aceptados para su publicación, en caso de que una referencia no haya sido publicada se debe citar en el texto como “observaciones no publicadas” con el consentimiento escrito de la fuente.

Evitar las citas de “comunicaciones personales” a menos que ellas sean una fuente de información esencial no disponible a partir de una publicación, en este caso el nombre de la persona y la fecha de comunicación deben ser citados en paréntesis en el texto. Para un artículo científico, los autores deben obtener permiso escrito y confirmación de la veracidad de la fuente de una comunicación personal.

Las referencias deben ser numeradas consecutivamente en el orden en el cual ellas son mencionadas en el texto. Se deben identificar las referencias en el texto, tablas y leyendas con números arábigos entre paréntesis. Las leyendas citadas en tablas o figuras deben ser numeradas de acuerdo a la secuencia establecida en el texto. Los títulos de las revistas deben ser abreviados de acuerdo al estilo usado en Index Medicus, para lo cual se debe consultar la lista de revistas indexadas por MEDLINE o SCIELO:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=journals>

La citación de los autores de una publicación referenciada se debe hacer de la siguiente forma: apellidos en minúsculas, iniciales de los nombres; cada autor debe ir separado por una coma; se deben citar todos los autores de dicha referencia.

Con el fin de tener una presentación uniforme de las referencias, se seguirán las normas del comité internacional de editores de publicaciones periódicas médicas, las cuales pueden ser consultadas en:

http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Artículos de Revistas:

Proporcionar primer apellido e iniciales de los nombres de cada uno de los autores, título, revista, año de publicación, volumen, número entre paréntesis (si es necesario) y páginas. Incluya sólo seis autores y si hay más de seis colocar después del sexto autor la abreviatura “et al.”.

Soberón GA, Naro J. Equidad y atención de salud en América Latina. Principios y dilemas. Bol Of Sanit Panam 1985; 99(1):1-9.

March F, Coll P, Guerrero RA, Busquets E, Cayla JA, Prats G, et al. Predictors of tuberculosis transmission in prisons: an analysis using conventional and molecular methods. AIDS 2000; 14:525-535.

Si el autor es una institución colocar el nombre de esta en vez de los nombres individuales.

Cuando no hay autor: Cancer in South Africa [editorial]. S Afr Med J 1994; 84:15.

Libros:

Proporcionar primer apellido e iniciales de los nombres de cada uno de los autores o editores, título del libro, número de edición, lugar, editorial, fecha y, si es necesario las páginas después de la abreviatura p.

Monson RR. Occupational epidemiology. 2nd Edition. Boca Ratón, Fl: CRC Press; 1990.

White Kl., Henderson MH, eds. La epidemiología como una ciencia fundamental. New York: Oxford University Press; 1976. p. 35-37.

Capítulo de libro:

Allison RF, Dowling WI, Munson FC. The role of the health services administrator and implications for education. In: Commission on Education for Health Administration, eds.

Education for health administration. Vol. 2. Ann Arbor, MI: Health Administration Press; 1975.

Antó JM. Los métodos cuantitativos y cualitativos en la salud pública. En: Martínez FN,

Antó JM, Castellanos PL, Gili M, Marset P, Navarro V. Salud Pública. Madrid: McGraw-Hill, Interamericana; 1998.

Sitios en Internet:

American Center Society [Internet]. Disponible en: <http://www.cancernet.nci.nih.gov/dictionary.html> . Consultado Febrero de 2000.

Las comunicaciones personales deben ser indicadas en el cuerpo del texto, entre paréntesis, no en notas de pie de página, indicando fecha e institución de quien da la comunicación.

No deben incluirse como referencias: documentos no publicados, incluso si han sido presentados en conferencias o congresos; artículos enviados para publicación que no han sido aceptados y resúmenes. Si es absolutamente necesario citar fuentes no publicadas, estas deben ser mencionadas en el texto entre paréntesis o en una nota de pie de página.

La manera apropiada de citar como referencia otro tipo de material no considerado arriba, debe ser consultada en los sitios de Internet ya indicados.

Las tablas

Las tablas deben ser concisas con el nivel adecuado de detalle y precisión, para ello es deseable incluir datos más que texto. Cada tabla debe ir en una hoja separada, debe estar adecuadamente identificada y en el orden de su primera citación en el texto; cada tabla debe tener un título corto; no utilizar líneas horizontales o verticales; cada columna debe tener un encabezado corto o abreviación; cuando sea necesario se deben colocar notas aclaratorias al pie de la tabla; se deben explicar todas aquellas

abreviaturas no comunes; se pueden utilizar los siguientes símbolos secuencialmente para dichas explicaciones: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡. Identificar medidas estadísticas de variación como desviación estándar y el error estándar de la media. Asegurarse de que todas las tablas se han citado en el texto.

Ilustraciones o figuras

Las figuras todas ellas de muy buena calidad deben ser fotografiadas y escaneadas o remitidas como fotografías digitales, también es necesario enviarlas en formato JPEG o GIF, de modo que puedan ser publicadas en la versión electrónica de la revista. Las placas de rayos X, las escanografías, ecografías u otras imágenes diagnósticas, así como también microfotografías deben ser enviadas en blanco y negro, y también en formato digital.

Cada figura debe ir en una página aparte y debe tener un título con una numeración consecutiva de acuerdo con el orden en el que se citó en el texto; debe tener además una leyenda que haga énfasis en los que se quiere mostrar. Si en las figuras o fotografías hay símbolos, flechas, números o letras para identificar partes de la misma, estos símbolos deben referenciarse y explicarse claramente en la leyenda de la figura. Si se incluyen fotografías de personas estas no deben permitir la identificación de la misma o en caso contrario deben ir acompañadas del consentimiento escrito de la persona que aparece en dicho documento.

Unidades de medida

Se prefiere las unidades métricas (metros, kilogramos o litros) o sus múltiples decimales; la temperatura debe estar en grados Celsius, la presión sanguínea en milímetros de mercurio; en los resultados de parámetros sanguíneos no utilizar unidades SI exclusivamente sino las unidades alternativas de medida (ejemplo: mg/dl., mm/h. mm³, etc).

Símbolos y abreviaciones

Usar solamente las abreviaciones más comunes; evitar abreviaciones en el título; el término completo de una abreviación debe preceder dicha abreviación la primera vez que se utiliza en el texto con la abreviación entre paréntesis.

Envío del manuscrito

El manuscrito puede ser enviado en formato físico y electrónico al director de la revista, al Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad de Caldas A.A. 275, Manizales-Caldas-Colombia; se debe incluir el nombre de la persona responsable del contenido del artículo, con la dirección para la recepción de correspondencia y para el envío de los manuscritos que requieren correcciones. El manuscrito también puede ser enviado al E-mail: labmicro@ucaldas.edu.co, revistascientificas@ucaldas.edu.co

Proceso de evaluación

El comité editorial en cabeza de su director, realiza una selección de los artículos que se considera pueden hacer parte de la revista. Posteriormente, se somete el artículo a un grupo de evaluadores (mínimo 2) idóneos en el tema para su respectivo análisis. Dichos pares determinan la pertinencia de la publicación del material.

Reserva de derechos

Si el manuscrito es aceptado para publicación los derechos de reproducción serán de la Universidad de Caldas. El manuscrito debe ir acompañado de la carta o comunicación original en la cual se otorga permiso para reproducir texto, figuras o cualquier otro material que tenga reserva de derechos. Los autores son responsables de los contenidos, juicios y opiniones de cada uno de los artículos.

AUTHOR GUIDELINES

The BIOSALUD Journal is an annual publication of Universidad de Caldas, whose objective is the publication of original, revision, and reflection articles, as well as case reports associated with different subjects related to human health. This publication has also been conceived as a tribune of opinion on different subjects related to the policies and the health problems and the health researched carried out in Colombia.

The journal has been catalogued in the B category by the National System of Indexing and homologation of specialized journals of CT+I (Publindex), since 2008, for a two-year period.

DEFINITION OF EACH TYPE OF ARTICLE PUBLISHED IN THE JOURNAL

1. Scientific and technological research article: it is a document that presents in detail the results obtained from a research project. This article must contain: title, summary in English and Spanish, introduction, materials and methods, results and discussion.
 2. Reflection article: it is a document that presents a personal and critical analysis of the research results, based on original sources.
 3. Revision article: a document in which the state of the art of a specific research topic is analyzed and presented. This document must highlight the contributions of the authors in the extension of the knowledge on the specific topic. It must contain at least 50 references from original articles.
 4. Short article: it is a document in which an advance of the results obtained in the development of a research project are presented, must be to their impacts, making their publication essential before the investigative process is finalized.
 5. Case report: it is a writing in which the results of a particular situation appear, since they are considered to be new findings, methodologies, or therapies, associated with a short and critical revision of the state of the art at a worldwide level of similar cases that have been presented.
 6. Subject revision: it is the document in which a specific subject is updated, accompanied by an analysis of the data collected for said revision.
 7. Editorial: a document written by the editor or any member of the Editorial Committee or by guest invited by the publisher. The editorial can be related to present problems in the health field, health education, as well as an analysis of new findings in the biomedical research.
 8. Letter to the editor: it is a document sent to the editor by the readers of the journal in which critics are made, results are refuted or reviews related to articles published in previous numbers of the journal, that according to the Editorial Committee, their knowledge by the scientific community is considered important.
 9. Bibliographical reviews: a section of the journal in which commentaries on recent publications are made by the scientific community of the Faculty of Health Sciences in particular, and by publications made at national or worldwide level.
- For the submission of different articles, the following requirements for the uniformity of the manuscripts presented to biomedical journals (Vancouver norms) should be followed. These have been extracted from: International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirement for Manuscript Submitted to Biomedical Journal: Writing

and editing for Biomedical Publications, updated February, 2006, IN: <http://www.icmje.org/>

ASPECTS TO CONSIDER BEFORE THE SUBMISSION OF MANUSCRIPTS:

Originality

Any article sent to the journal for its publication must be unpublished and the authors must send to the director of the journal a written document in which they give their consent for its publication, in case that it was satisfactorily evaluated; in this consent the authors will also give faith that said article has not been published totally or partially in another written or electronic publication, in order to avoid infringing copyright laws.

Nevertheless, it is possible to make a second publication in the same language of the first publication or in a second language when: there is consent on part of the directors of both journals; the priority of the first publication is respected by a week; the group of readers is different; the second publication faithfully reflects the information and interpretations of the first.

In the second version, as a footnote, the readers will be informed that this article has already been published partially or totally in another journal, mentioning said journal; the permission for the second publication must be gratuitous.

Protection of the identity of the subjects of study

When a research study involves humans, the description of details should be avoided as much as possible, that might lead to the identification of a person or persons subjects of study. The use of patients' names, initials, clinical history numbers, photographs, genealogies or personal data that might injure their right to privacy are prohibited; if it is necessary to publish said data, the written consent of these people is required. Said consent must guarantee that the manuscript is known and understood, and that they agree with the publications of the descriptions or images made with the related people, even if the material subject to possible identification is going to be available on the Internet after its publication. This informed consent must be sent along with the manuscript for its revision.

In addition, when the experiments require the use of animals and humans, it should be indicated if the procedures are in agreement with the norms of the medical ethics and animal committees of the sponsoring institution and with the Declaration of Helsinki of 1975, updated in 2000. For the specific case of animal experimentation, it should be indicated if the norms related to the use and care of the laboratory animals were followed.

REQUIREMENTS FOR THE PREPARATION AND SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

General principles

The text of articles product of the observation and experimentation are usually divided in sections such as: introduction, materials and methods, results and discussion. The extensive articles specially need to be divided in subsections in the results and the discussion with the purpose of being more comprehensible. Other articles such as: case reports, revisions, reflection articles and editorials, probably require other formats.

The use of double space throughout the manuscript, as well as suitable margins, allow the editor and reviewers to edit the text directly line by line, adding commentaries or doubts in the manuscript. If the manuscripts are sent via e-mail, this article also must be doubled space, since it must also be printed for its revision and edition.

The page numbers is another important aspect, so that the reviewers and the editor can reference specific portions of the manuscripts. Each section of the manuscript must be separated in the following way:

Title page

It must include the following information:

- Title of the article: it must be concise and easy to understand.
- Names of the authors and institutional affiliation.
- Name of the section of the institution to which the authors are enrolled, with the corresponding institutional name.
- Correspondence for authors: it must contain: address, telephone number, fax and electronic mail address of the author responsible for the manuscript. In addition, the author must state if he/she wishes their electronic address to be published.
- Name and address of the authors to whom reimpresions can be solicited.
- Source or sources of the resources that served to finance the investigation.

Abstract and key words

It must be on the following page after the title page. The abstract must be in English and in Spanish. It must contain a short summary of the introduction, materials and methods, results and discussion, enunciating each of these sections before their contents. New and important aspects of the study or observations must be emphasized, as well as the basic procedures, main findings, wherever possible with their statistical significances and the main conclusions. The extension should not exceed 300 words.

It should not include information or aspects that are not contemplated in the text, bibliographical abbreviations, references to the text or citations. It must be written in third person.

Since the abstracts are the parts mentioned in many databases, special care is required in their writing, so that it faithfully reflects the content of the articles.

3 to 10 key words in English and Spanish should be included. They can also be short phrases that capture the main topics of the article. Key words are important for the indexation of the article in databases. The key words used should be listed in the Medical Subject Headings (MeSH) of the Medicus Index: <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>, for the key words in English. For the key words in Spanish, use the electronic page of the virtual health library; *descriptores en ciencias de la salud*:

http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decsserver/?IsisScript=./cgi-bin/decsserver/decsserver.xis&interface_language=e&previous_page=homepage&previous_task=NULL&task=start

If there are no words available for recently introduced terms, they can be used.

Introduction

The introduction contains a context of the study in which the problem is justified, what is the intention or objectives of the research; the state of the art on the subject being studied should be appropriately referenced, but data or conclusions of the research being published should not must be included.

Materials and methods

The methodological alternatives used are should be described here to reach the obtained results. Data product of the application of these methods should not be included. The mechanisms of selection of the subjects of study observed or of the animals experimented on should be clearly described, including the inclusion criteria. Some of the variables used must be explained, for example, the reason why individuals of certain ages or sex were preferred; in case variables such as ethnicity or race are used, their classification criteria must be enumerated, and their relevance should be justified.

The measurement methods, the equipment implemented should be identified, including the name of the manufacturer and its address in parentheses. The procedures must be enunciated so that they can be reproduced by other researchers. These methods must be adequately referenced, and in case they have undergone modifications, the reason why these modifications were made must be explained, in addition to evaluating their limitations. The drugs or chemical substances should be identified; in the case of drugs, their generic name, dosage and administration route must be included.

The authors who submit their manuscripts must include a section describing the methods implemented to locate, select, extract and synthesize data. These methods must also be presented in a concise way in the abstract.

The statistical methods used in the analysis of the information must be described with sufficient detail, whenever possible the findings must be quantified and presented with the appropriate indicators of measurements of error or uncertainty (confidence

intervals); the statistical terms, abbreviations and many of the symbols used should be defined. The statistical computerized program implemented should be specified.

Results

They must be presented in a logical sequence, enunciating the main and most important findings first. All the data in the charts or illustrations should not be repeated in the text. Additional material and the technical details must be placed in an appendix that does not interrupt the flow of the text; these appendices will only be published in the electronic version of the journal.

The numerical results not only are must be to express in percentage but also in absolute numbers and the statistical methods used are must be to explain to analyze such. The charts and figures to those necessary for the argumentation and valuation of the discussion are must be to restrict. To charts data in and graph are not must be to duplicate.

Discussion

Emphasizing the new and important aspects of the study, as well as the conclusions derived from them. Information should not be repeated in the introduction or the results. In the experimental studies, it is useful to begin the discussion briefly summarizing the main findings, and later explaining the reason for these results. A comparison and contrast of the results with those of other relevant researches must be carried out. The limitation of the research must be enumerated, as well as exploring the implications of the findings for future researches, and for the clinical practice whenever possible.

It is important to relate the conclusions with the findings of the study, but avoiding affirmations and conclusions that cannot be confirmed with the enclosed data; particularly, affirmations regarding economical benefits should not be expressed, unless the manuscript includes appropriate economical information and analysis. New hypotheses should be enunciated if they are adequately backed up, but it is necessary to clearly indicate that they constitute hypotheses.

Bibliography

Revision articles must implement original articles as references, avoiding the use of abstracts as references. In case that a reference hasn't been published yet, it must be indicated that it is "in process"; the authors must obtain a written permit to reference such articles, as well as verifying that the articles have been accepted for its publication. And in case a reference has not been published, it should be identified as "unpublished observations" with the written consent of the source.

Avoid the references of "personal communication", unless they are a source of essential information unavailable from a publication, in this case, the name of the person and the date of the mail should be referenced in parentheses in the text. For a scientific article, the authors must obtain written permission and confirmation of the source of said communication.

The references must be consecutively numbered in the order in which they are mentioned in the text. The references, charts and legends in the text must be identified with Arabic numbers in parentheses. The legends mentioned in charts or figures must be numbered according to the sequence established in the text. The titles of journals must be abbreviated according to the style used in the Medicus Index, consulting the list of the journals indexed by MEDLINE or SCIELO:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=journals>

The citation of the authors of a referenced publication must be done in the following manner: last names in lower case letters, initials of the first names. Each name must be separated by a comma; all the authors of said reference must be mentioned.

With the purpose of having a uniform presentation of the references, the norms of the international committee of medical periodic publication publishers will be followed, which can be consulted in:

http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Journal Articles:

Provide last name and initials of the first names of each of the authors, title, journal, year of publication, volume, number in parentheses (if necessary) and pages. Include only six authors and if there are more than six, after the last one place the abbreviation "et al."

Soberón GA, Naro J. Fairness and health attention in Latin America. Principles and dilemmas. *Bol of Sanit Panam* 1985; 99 (1): 1-9.

March F, Coll P, Guerrero RA, Busquets and, Cayla JA, Prats G, et al. Predictors of tuberculosis transmission in prisons: an analysis using conventional and molecular methods. *AIDS* 2000; 14:525 - 535.

If the author is an institution, place its name instead of the individual names.

When there is no author: Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84:15.

Books:

Provide last name and initials of the names of each of the authors or publishers, book title, edition number, place, editorial, date and, if necessary, the pages after the abbreviation p.

Monson RR. Occupational epidemiology. 2nd Edition. Boca Ratón, FL: CRC Press; 1990.

White KI., Henderson MH, eds. Epidemiology as a fundamental science. New York: Oxford University Press; 1976. p. 35-37.

Book chapter:

Allison RF, Dowling WI, Munson FC. The role of the health services administrator and implications for education. In: Commission on Education for Health Administration, eds. Education for health administration. Vol. 2. Ann Arbor, MI: Health Administration Press; 1975.

Antó JM. The quantitative and qualitative methods in public health. In: Martinez FN, Antó JM, Castellanos PL, Gili M, Marset P, Navarrese V. Public health. Madrid: McGraw-Hill, Inter-American; 1998.

Internet Sites:

American Center Society [Internet]. Available at: <http://www.cancernet.nci.nih.gov/dictionary.html> . Consulted February 2000.

Personal communications must be indicated in the body of the text, in parentheses, not as footnotes, indicating date and institution of whom communicates.

The following do not have to be included as references: unpublished documents, even if they have been presented in conferences or congresses; articles sent for publication that have not yet been accepted and abstracts. If it is absolutely necessary to mention unpublished sources, these must be mentioned in the text in parentheses or in a footnote.

The appropriate way to mention other types of material not considered above, must be consulted on the internet sites already indicated.

Charts

The charts must be concise with the suitable level of detail and precision, for said purpose, it is desirable to include data instead of text. Each table must go on a separated page, adequately identified and in the order of its first reference in the text. Each table must have a short title; horizontal nor vertical lines should be used; each column must have a short heading or an abbreviation. When necessary, explanatory notes must be placed at the end of the table; all the uncommon abbreviations must be explained; sequentially use the following symbols for these explanations: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡. Identify statistical measures of variation as standard deviation and the mean standard error. Make sure that all the charts have been mentioned in the text.

Illustrations or figures

All the figures must be of an excellent quality, and they must be photographed and scanned or sent as digital photographs, it is also necessary to send them in JPEG or GIF format, so that they can be published in the electronic version of the journal. The x-rays plates, the scanographs, ultra sounds, or other diagnostic images, as well as microphotographs must be sent in black and white, and in digital format.

Each figure must be placed on a separate page and must have a title with a consecutive numeration in agreement with the order in which it was mentioned in the text; they must also have a legend that emphasizes what they are showing. If in the figures or photographs there are symbols, arrows, numbers or letters to identify their parts, these symbols must be referenced and explained clearly in the legend of the figure. If photographs of people are included, these cannot allow the identification of the people, or in the other case, they must be accompanied by the written consent of the person who appears in said document.

Units of measurement

Metric units are preferred (meters, kilograms or liters) or their multiple decimals; the temperature must be in degrees Celsius, the blood pressure in millimeters of mercury; in the results of sanguineous parameters SI units should not be used exclusively, but instead, the alternative units of measurement (example: mg/dl., mm/h. mm³, etc).

Symbols and abbreviations

The most common abbreviations should only be use. Avoid abbreviations in the title; the complete term of an abbreviation must precede it the first time that it is used in the text with the abbreviation in parentheses.

Shipment of the manuscript

The manuscript can be sent in physical and electronic format to the director of the journal, at Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad de Caldas A.A. 275, Manizales-Caldas-Colombia. The name of the person responsible for the content of the article must be included, with the address for the reception of correspondence and the shipment of manuscripts that require corrections. The manuscript can also be sent to the following e—mails: labmicro@ucaldas.edu.co, revistascientificas@ucaldas.edu.co

Process of evaluation

The Editorial Committee led by its director, selects the articles that are considered to be included in the journal. Afterwards, the article is evaluated by at least 2 professionals with experience in the subject for its respective analysis. These pairs determine the pertinence regarding the publication of the manuscript.

Reserved rights

If the manuscript is accepted for publication the reproduction rights will belong to Universidad de Caldas. The manuscript must be accompanied of the letter or original communication in which permission is granted to reproduce text, figures or any other material that has reserved rights. The authors are responsible for the contents, judgments and opinions of their articles.

FORMATO DE SUSCRIPCIÓN

Nombre / Name	
Cédula / Identification number	
Dirección / Address	
Ciudad / City	
Departamento / State	Código Postal / Zip Code
País / Country	
Teléfono / Phone Number	
Profesión / Profession	
Institución / Employer	
Correo Electrónico / E-mail	
Dirección de envío / Mailing Address	

Suscriptores Nacionales por un año. (1) Ejemplar

Se debe consignar en Bancafé, cuenta de ahorros No. 255050114 código 00HD005
Promoción e indexación de publicaciones científicas.

Mayores informes:

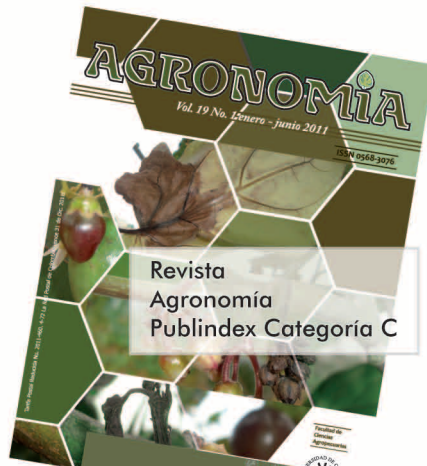
Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados
Universidad de Caldas. Calle 65 N° 26 - 10
A.A. 275 Manizales - Colombia
Tel: 8781500 ext. 11222
Fax: 8781500 ext. 11622
E-mail: revistascientificas@ucaldas.edu.co

Último ejemplar recibido / Last issue mailed:

Año/Year Volumen/Volume Número/Number Fecha / Date



Ventas, suscripciones y canjes
Vicerrectoría de Investigaciones y
Postgrados
Universidad de Caldas
Sede Central
Calle 65 No. 26 - 10
A.A. 275
Teléfonos: (+6) 8781500
ext. 11222
e-mail:
revistascientificas@ucaldas.edu.co
Manizales - Colombia



Revista
Agronomía
Publindex Categoría C



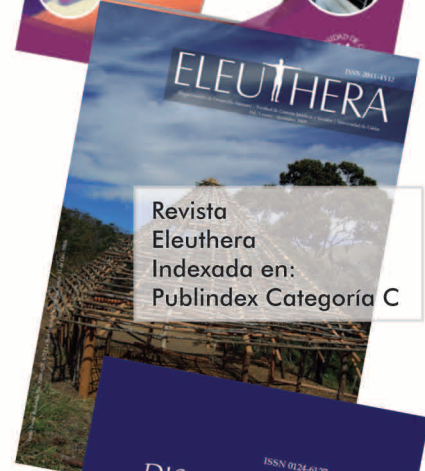
Revista
Cultura y Droga



Revista
Luna Azul (On Line)
<http://lunazul.ucaldas.edu.co>
Indexada en:
Publindex Categoría A2
Index Copernicus, DOAJ



Revista
Biosalud
Indexada en:
Publindex Categoría B
Lilacs



Revista
Eleuthera
Indexada en:
Publindex Categoría C



Revista
Discusiones Filosóficas
Indexada en:
Publindex Categoría A2
Philosopher's Index
SciELO
Ulrich's Periodicals Directory

Revistas

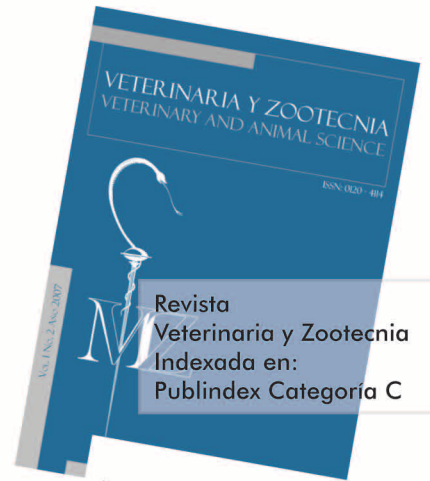




Revista
Boletín Científico
Museo de Historia Natural
Indexada en:
Publindex Categoría A2
SciELO



Revista Colombiana de
las Artes Escénicas



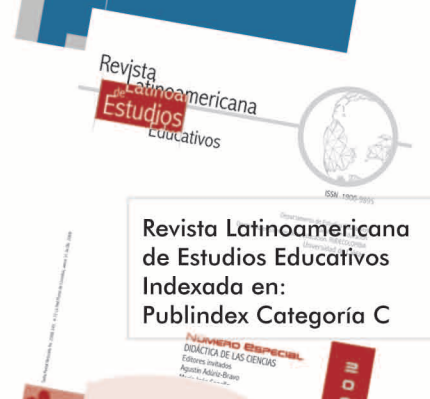
Revista
Veterinaria y Zootecnia
Indexada en:
Publindex Categoría C



Revista
Hacia la promoción
de la Salud
Indexada en:
Publindex Categoría A2
Lilacs
SciELO



Revista
Jurídicas
Indexada en:
Publindex Categoría C
DialNet



Revista Latinoamericana
de Estudios Educativos
Indexada en:
Publindex Categoría C



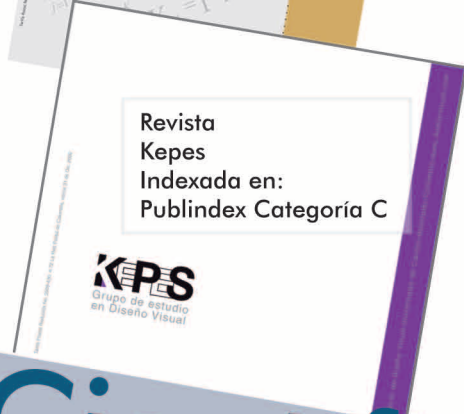
Revista
Vector
Indexada en:
Publindex Categoría C



Revista de Antropología
y Sociología (Virajes)
Indexada en:
Publindex Categoría C



Revista
Universidad de Caldas



Revista
Kepes
Indexada en:
Publindex Categoría C



Revista Latinoamericana
de Estudios de Familia

Científicas



w w w . 4 - 7 2 . c o m . c o



LA RED POSTAL DE COLOMBIA

› Línea de Atención al Cliente Nacional ‹
01 8000 111210

Esta revista se terminó de imprimir
en el mes de julio de 2012
en el Taller de Capital Graphic
Universidad de Caldas
Manizales - Colombia