

AREA TEMATICA: **SALUD ANIMAL**

**Estudio del estrés como factor etiopatogénico de alteraciones reproductivas: un modelo de inducción de estrés en bovinos mediante la aplicación de adrenocorticotrofina.**

Belotti EM<sup>1,2,4</sup>, Stassi AF<sup>1,2,3</sup>, Díaz PU<sup>1,2,3</sup>, Allassia MA<sup>6</sup>, Gareis NC<sup>1,2,4</sup>, Bertoli J<sup>5</sup>, Quercia E<sup>7</sup>, Matiller V<sup>1,2,3</sup>, Salvetti NR<sup>1,2,3</sup>, Ortega HH<sup>1,2,3</sup>.

[belottiem@hotmail.com.ar](mailto:belottiem@hotmail.com.ar) y [antonelastassi@hotmail.com](mailto:antonelastassi@hotmail.com)

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada.

<sup>2</sup>ICiVet-Litoral, UNL-CONICET. <sup>3</sup>CONICET. <sup>4</sup>ANPCyT.

<sup>5</sup>Cátedra de Producción de Leche. <sup>6</sup>Práctica Hospitalaria de Grandes Animales.

<sup>7</sup>Profesional de actividad privada.

“Análisis de los componentes de la cascada inflamatoria asociados con la ovulación y estudio del estrés como factor etiopatogénico de alteraciones reproductivas bovinas”. Financiado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT). Proyecto PICT 2011-1274. Director: Dr. Hugo H. Ortega.

La enfermedad quística ovárica (EQO) es una de las causas principales de infertilidad en vacas lecheras. En esta y otras enfermedades reproductivas se ha postulado que existe una falla en la ovulación debido a una alteración en el mecanismo inflamatorio local que la desencadena, hipótesis que propone al estrés como uno de los principales factores etiopatogénicos<sup>3</sup>. Mediante ensayos in vitro, se ha comprobado una liberación de cortisol folicular en respuesta a adrenocorticotrofina (ACTH), que afectaría negativamente el proceso inflamatorio mencionado<sup>1</sup>.

En base a estos datos es que planteamos un modelo de inducción de estrés a través de la administración de ACTH previo a la ovulación en bovinos<sup>2</sup>. Se realizó el protocolo de sincronización de celos G6G-Ovsynch en 6 vacas Holando Argentino y se llevó a cabo el seguimiento de la dinámica folicular ovárica mediante ecografía transrectal<sup>4</sup>. Se aplicaron 100 UI de ACTH, intramuscular, cada 12 horas a partir del día 15 del protocolo y durante todo el proestro hasta el momento esperado de ovulación (día 18 en este protocolo), momento en el cual se realizó ovariectomía bilateral por flanco izquierdo para posteriores análisis de hormonas en el líquido folicular, así como también obtención de células de la granulosa y de la teca del mismo. En cuanto al tejido, se realizarán diferentes pruebas de biología molecular (Western Blot, IHQ, PCR, RT-PCR) tanto en teca, como en granulosa, en busca de expresión de diferentes genes de moléculas pro-inflamatorias, como así también anti-inflamatorias.

Además, se extrajeron muestras de sangre para mediciones de cortisol sérico cada 2 hs desde la primera aplicación de ACTH durante 12 hs totales.

Los valores de cortisol sérico (medido por el método ECLIA) fueron:

0h=18,21nmol/l;

1h=253,92nmol/l;

2hs=253,64nmol/l;

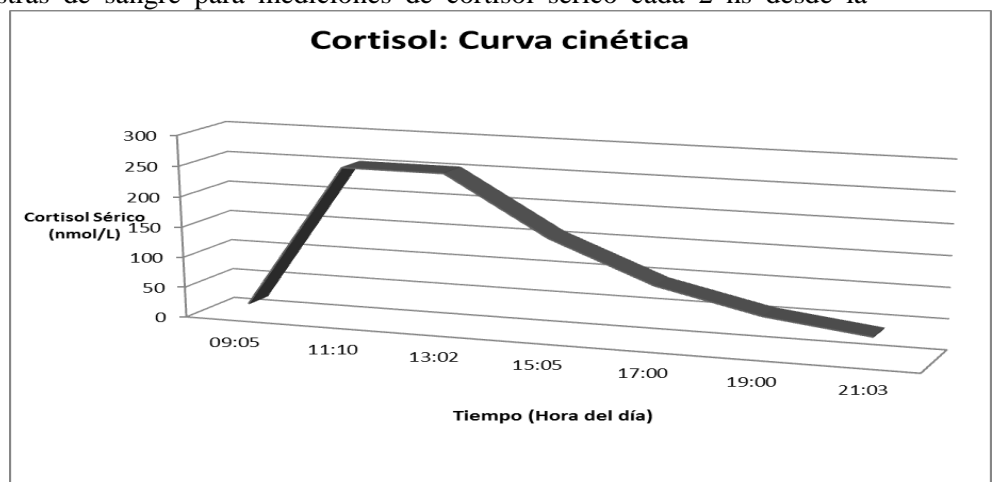
3hs=159,8nmol/l;

4hs=95,49nmol/l;

5hs=58,78nmol/l;

6hs=38,91 nmol/l,

los cuales muestran una



AREA TEMATICA: **SALUD ANIMAL**

cinética con una concentración máxima a las 4 horas posteriores a cada administración de ACTH. La dinámica folicular demostró que la sincronización hormonal se adapta al modelo de inducción de estrés con ACTH.

En esta etapa del trabajo, se observaron niveles de cortisol compatibles con situaciones estresantes de la rutina de ordeño de las vacas. Por todo esto, y teniendo en cuenta los resultados que se obtengan posteriormente en las pruebas de biología molecular, este modelo permitirá evaluar la relación entre el proceso inflamatorio y el de anovulación como base de la etiopatogenia de la EQO.

**Bibliografía:**

- 1-**Amweg AN, Paredes AH, Salvetti NR, Lara HE, Ortega HH.** (2011) "Expression of melanocortin receptors mRNA, and direct effects of ACTH on steroids secretion in the bovine ovary." *Theriogenology* 75(4): 628-637.
- 2-**Ortega HH, Palomar MM, Acosta JC, Salvetti NR, Dallard BE, Lorente JA, Barbeito CG, Gimeno EJ.** (2008) "Insulin-like growth factor I in ovarian follicles and follicular fluid of cows with spontaneous and induced cystic ovarian disease." *Res Vet Sci.* 84(3): 419-427.
- 3-**Richards JS, Liu Z, Shimada M.** (2008) "Immune-like mechanisms in ovulation." *Trends Endocrinol Metab.* 19: 191-196.
- 4-**Sirois J, Fortune JE.** (1988) "Ovarian follicular dynamics during estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography." *Biol Reprod.* 39: 308-317.