



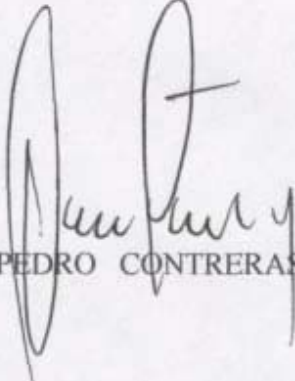
UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
Facultad de Ciencias Veterinarias
Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias

**Concentraciones Plasmáticas de Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄) de vacas
lecheras en periodo seco y al inicio de lactancia, con balance
energético normal y negativo**

Tesis de Grado presentada como parte
de los requisitos para optar al Grado de
**LICENCIADO EN MEDICINA
VETERINARIA**

Adolfo Emilio Robles Manosalva
Valdivia Chile 1998

PROFESOR PATROCINANTE



PEDRO CONTRERAS

PROFESOR COLABORADOR

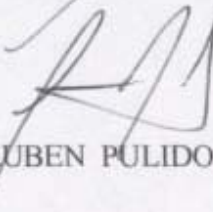


FERNANDO WITWER

PROFESORES CALIFICADORES



MARCOS MOREIRA



RUBEN PULIDO

FECHA DE APROBACION

Junio 08, 1998

INDICE GENERAL

MATERIA	PAGINA
1.-RESUMEN.....	1
2.-SUMMARY.....	2
3.-INTRODUCCION.....	3
4.- MATERIAL y METODO.....	11
5.-RESULTADOS.....	17
6.-DISCUSION.....	26
7.-BIBLIOGRAFIA.....	31
8.-ANEXOS.....	36
AGRADECIMIENTOS.....	42

Quiero dedicar en forma especial este trabajo a mis Padres y Hermanas, con todo el cariño y amor que se merecen.

1. RESUMEN

A fin de establecer el efecto del balance energético sobre los niveles de triyodotironina (T_3) y tiroxina (T_4) en vacas friesian, fueron seleccionadas las muestras de sangre de vacas con balance energético normal (30 vacas en periodo seco y 30 vacas al inicio de lactancia) y con balance energético negativo (30 vacas en periodo seco y 30 vacas al inicio de lactancia) de rebaños lecheros que solicitaban el servicio de perfiles metabólicos al laboratorio de Patología Clínica Veterinaria.

Las concentraciones sanguíneas de β -hidroxibutirato fueron medidas usando kits proporcionados por la FAO/AIEA. Las vacas con valores de β HB más altos que 0.48 mmol/l fueron considerados como vacas con balance energético negativo. Los valores promedio de la concentración sanguínea de β HB en vacas con balance energético negativo fue de 0.85 mmol/l para vacas en periodo seco y 0.67mmol/l para vacas al inicio de lactancia. Los niveles sanguíneos de T_3 y T_4 fueron medidos por la técnica de radioinmunoensayo usando el kit comercial Coat-A-Count total T_3 y Coat-A-Count total T_4 para triyodotironina y tiroxina respectivamente (Diagnostic Products Corporation, DPC).

Considerando los rangos de referencia para T_4 (57-119 nmol/l, Burton, 1992) los resultados muestran valores sanguíneos promedio de T_4 bajo el rango de referencia en todos los grupos de animales no observándose diferencias significativas entre los grupos. Una correlación positiva estadísticamente significativa se observó entre T_4 y β HB en el grupo de vacas al inicio de lactancia con balance energético negativo. Considerando el rango de referencia para T_3 (0.80-1.90 nmol/l, burton, 1992) los resultados muestran valores sanguíneos promedio de T_3 dentro del rango de referencia. Los valores sanguíneos de T_3 fueron significativamente más altos ($p<0.05$) en vacas al inicio de lactancia (1.44 nmol/l) que en vacas en periodo seco (1.20 nmol/l).

Los valores sanguíneos promedio de T_3 en vacas con balance energético normal fueron de 1.27 nmol/l y de 1.36 nmol/l para vacas con balance energético negativo. Los niveles sanguíneos promedio de vacas con balance energético normal fueron de 41.3 nmol/l y de 40.1 nmol/l para vacas con balance energético negativo. No se observaron diferencias significativas de los valores sanguíneos de T_3 y T_4 en vacas con balance energético normal y negativo.

No fue observado un efecto del balance energético sobre los valores promedio de T_3 y T_4 y podría ser necesario estudiar los valores sanguíneos de hormonas tiroideas en vacas que sufren un balance energético más severo y también la medición de los valores de TSH y clearance de yodo en estudios futuros.

Palabras claves: triyodotironina, tiroxina, hormonas tiroideas, vacas lecheras, balance energético.

2. S U M M A R Y

In order to establish the effect of the energy balance on the mean values of triiodothyronine (T₃) and thyroxine (T₄) in Friesian cows, blood samples of normal energy balance cows (30 dry cows and 30 in early lactation) and blood samples of cows undergo negative energy balance (30 dry cows and 30 in early lactation) were selected of dairy herds, that requested the metabolic profiles service to the laboratory of Clinical Veterinary Pathology.

The blood p-hydroxybutyrate concentration was measured using kits provided by the FAO/AIEA. Cows with β HB values higher than 0.48 mmol/l were considered as negative energy balance. The mean values of blood β HB concentration in cows undergoing negative energy balance were 0.85 mmol/l in dry cows and 0.67 mmol/l in early lactation cows respectively. The blood levels of T₃ and T₄ were measured by radioimmunoassay technique using the commercial kit Coat-A-Count total T₃ and Coat-A-Count total T₄ for triiodothyronine and thyroxine respectively (Diagnostic Products Corporation, DPC).

Considering the reference range for T₄ (57-119 nmol/l, Burton, 1992) the results showed blood mean values of T₄ below the reference range in all groups of animals and no significant differences among groups were observed. A significant positive correlation was observed between T₄ and β HB in early lactation group under negative energy balance. Considering the reference range for T₃ (0.80-1.90 nmol/l, Burton, 1992) the results showed blood mean values of T₃ in the reference range in all groups of animals. T₃ values were significantly higher ($p < 0.05$) in early lactation cows (1.44 nmol/l) than in dry period cows (1.20 nmol/l).

The blood mean T₃ values in normal energy balance cows was 1.27 nmol/l and 1.36 nmol/l in negative energy balance cows respectively. The blood mean T₄ levels in normal energy balance cows were 41.3 and 40.1 nmol/l in negative energy balance cows respectively. No significant differences between blood mean T₃ and T₄ values in cows in normal or negative energy balance were observed.

No effect of the energy balance on the mean values of triiodothyronine (T₃) and thyroxine (T₄) were observed and could be necessary to study the blood thyroid hormone values in cows suffering more severe negative energy balance and also measure TSH values and iodine clearance in future studies.

Key words: triiodothyronine, thyroxine, thyroid hormones, dairy cows, energy balance.

3. INTRODUCCION

Desde los primeros tiempos, el hombre ha habitado en una naturaleza rica y generosa que le ha proporcionado los recursos básicos para la vida. Con el paso del tiempo y los cambios en el estilo de vida, pasando desde el nomadismo a una vida sedentaria y en comunidad, el hombre ha tenido que buscar nuevas formas de obtener recursos para la subsistencia. Es por ello que comenzó a cultivar la tierra y domesticar animales que le proporcionaran protección, alimentos y sirvieran además como medio de transporte. Aproximadamente en el año 6000 a.C. el hombre se dio cuenta que la leche de vaca y otros animales domésticos era nutritiva, comenzó a ordeñarla y así pasó a formar parte importante de su alimentación. Johnson y Vanjonack (1975), señalan además, que las vacas y otros animales Europeos fueron trasladados por distintas regiones del mundo hasta llegar a Norteamérica en 1493 en el segundo viaje de Christopher Columbus. Esta rotación de los animales por el mundo los ha sometido a una gran variedad de climas, culturas y técnicas de manejo, lo cual sin duda ha afectado de algún modo su habitat natural.

En las últimas décadas se ha logrado un significativo éxito en la producción de alimentos, producto del desarrollo científico-tecnológico iniciado en la segunda mitad del siglo XIX. Este importante logro se debe principalmente al desarrollo de nuevas tecnologías con impacto en la producción agrícola y ciencias afines. De este modo, en los últimos años se ha logrado duplicar la producción de alimentos, alcanzada en la década del cincuenta. Sin embargo, este crecimiento no ha impactado de igual forma en todas las regiones del mundo, debido a los altos índices en la tasa de crecimiento de la población, al menor acceso a tecnologías por parte de países más pobres, condiciones de suelo y ambientales limitantes para la actividad agrícola y al escaso desarrollo económico de algunos países, que restringe el acceso a fuentes alimenticias externas (Andrade, 1994).

McDonald y Capen (1991), describen que como parte de una perspectiva más amplia, se debería considerar el desarrollo de una agricultura animal sana, como una gran contribución a la salud y el bienestar económico de la humanidad. Es más que significativo que sólo en los países que han desarrollado una agricultura animal sana, se encuentre un alto estándar de vida para sus ciudadanos. Indican además que desde el punto de vista fisiológico, los propósitos de la empresa pecuaria son obtener animales que crezcan, se reproduzcan y entren en estado productivo a una tasa rápida y económica, lo cual ha motivado a seleccionar en forma intensiva especies y razas con el objetivo de obtener el máximo de provecho.

La selección de vaquillas a temprana edad para incrementar la producción ha sido un importante objetivo de los genetistas lecheros (Blosser, 1979). Es por ello que con la selección genética realizada en las distintas especies, se han logrado mayores producciones. En el caso de los bovinos estas mayores producciones en lo que a leche se refiere han aumentado el riesgo de sufrir alteraciones en la salud, lo que asociado a inadecuadas técnicas de manejo y

alimentación, hacen que el riesgo persista aun en aquellos rebaños con niveles productivos inferiores (Contreras. 1992).

La producción de leche depende de muchos factores. Una adecuada producción de leche depende de un apropiado crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria, inicio de la secreción de leche, y mantención de la síntesis láctea. Las hormonas son necesarias para la lactancia en todos los mamíferos y son el factor fisiológico primario para el control de la producción de leche (Tucker, 1981).

Al aumentar la productividad de una vaca, se trabaja con individuos seleccionados cuya adecuación orgánica les permite obtener muy buenos rendimientos pero son más susceptibles de sufrir enfermedades relacionadas con el metabolismo, producidas por un recargo de actividad que le exigen los más altos niveles productivos (Contreras, 1992)

Payne (1981), describe la enfermedad metabólica como un trastorno de la homeostasis interna del organismo por cambios anormales acaecidos en uno o más procesos metabólicos críticos. Las enfermedades metabólicas de los rumiantes sometidos a explotación intensiva no se deben esencialmente a defectos localizados de la bioquímica de los propios animales, sino que proceden más bien, de la incapacidad de competir con las exigencias metabólicas solicitadas por una elevada producción. En otras palabras la afección metabólica supone una falla en la compensación de las necesidades propias y las añadidas por el hombre a la ganadería intensiva. Además señala un termino nuevo para estas afecciones denominado "Enfermedades de la Producción". Este termino es definido por Contreras (1992), como aquellas enfermedades provocadas por un desequilibrio entre los elementos que ingresan al organismo, su metabolismo y los egresos. Lamentablemente, la mayoría de ellas tiene un efecto de difícil percepción, sin embargo, actúan limitando la producción de las especies en forma sostenida y persistente.

Para controlar el equilibrio de elementos que ingresan y egresan, los animales han desarrollado complejos mecanismos endocrinos. A veces, sin embargo, a causa de una demanda relativamente severa o de la presencia de factores de estrés, se desborda la capacidad de ajuste y se produce un cambio en el organismo. Este cambio si no es compensado, desemboca en una afección metabólica (Payne, 1981).

3.1. DESBALANCE ENERGETICO.

La deficiencia de energía es la falta de nutrientes más común que afecta y limita el rendimiento de los animales de granja (Oetzel y Berger. 1985).

Los hallazgos clínicos en una deficiencia de energía dependen de la edad del animal, si está gestante o en lactancia, la presencia de deficiencias concurrentes de estos nutrientes y de influencias medioambientales. En animales adultos, hay un marcado descenso de la producción láctea y un acortamiento de la duración de la lactancia, además existe una marcada perdida de peso corporal ya que las demandas de energía son muy elevadas durante el final de

la gestación y el inicio de lactancia (Blood y Radostits, 1992).

Krebs (1966), señala que debido a esta deficiencia de energía se aumenta la gluconeogénesis hepática con incremento paralelo en la formación de cuerpos cetónicos, aumento que si supera los límites de las necesidades fisiológicas, aparece la enfermedad clínica denominada cetosis.

La mayoría de las investigaciones de los últimos años se ha dirigido hacia la patogenia de la cetosis en vacas alimentadas con raciones abundantes que, a simple vista parecen contener cantidades adecuadas de carbohidratos. Sin embargo, es suficiente que estas dietas sean deficientes en precursores de ácido propiónico para que sean cetogénicas. También contribuye el alto nivel de proteínas en la dieta, el cual aumenta la deficiencia energética como consecuencia de las pérdidas de energía, que se producen por su metabolismo y excreción (Hibbitt, 1979).

Las condiciones experimentales hacen posible la medición de las concentraciones sanguíneas de hormonas y metabolitos en relación con el metabolismo energético (Kunz y col., 1985). Una de las formas de identificar un animal con desbalance energético es la medición de las concentraciones sanguíneas de cuerpos cetónicos (Acetoacetato, Betahidroxibutirato y Acetona). Según los perfiles metabólicos que evalúan el equilibrio nutritivo, se sabe que los rebaños con una mayor frecuencia de cetosis clínica pueden identificarse por sus mayores niveles sanguíneos de Betahidroxibutirato y sus menores niveles de glucosa (Herdt y col., 1981).

McDonald y Capen (1991), señalan que como el crecimiento, reproducción y producción se encuentran principalmente ligados al control endocrino, hace que esta área de la fisiología adquiera cada vez más importancia. La endocrinología tiene además la importante tarea de correlacionar Anatomía, Fisiología, Genética y Bioquímica. El mismo autor describe que las glándulas endocrinas son aquellos órganos sin ductos del cuerpo, cuya secreción va directamente al torrente circulatorio, a diferencia de las glándulas exocrinas en que las sustancias producidas son transportadas a través de ductos hasta el lugar donde ejercen su acción.

Una de las glándulas que está más ligada al metabolismo, es sin duda la Glándula Tiroidea. Es por esto, que ha surgido la motivación hace algunos años de profundizar los conocimientos ya existentes relacionados con esta glándula y así dilucidar su posible participación en el origen de las enfermedades metabólicas y las interrelaciones entre hormonas tiroideas y metabolismo.

3.2. GLANDULA TIROIDES

La Glándula Tiroides está formada por dos lóbulos triangulares, aplanados, conectados por un istmo glandular que cruza la superficie ventral de la tráquea, al nivel del primer o segundo anillo. Cada lóbulo mide aproximadamente 8 cm de longitud, 5 cm de alto, y pesa unos 15 g. La glándula contacta con la superficie lateral del cartílago cricoides y esta relacionada, profundamente con el esófago (Sisson y Grossman, 1995).

Frandsen (1986), describe que esta glándula está cubierta de la correspondiente cápsula de tejido conectivo, esta cápsula envía tabiques hacia el interior, los que sirven para dar sostén a los tejidos y conducir vasos al interior de las células foliculares. Histológicamente, esta glándula consta de folículos llenos de una materia denominada coloide, siendo la mayor parte de este un complejo proteína-yodo, llamado tiroglobulina.

La función de la glándula tiroides es la secreción de las hormonas tiroideas, tiroxina (T_4), triyodotironina (T_3) y calcitonina, las cuales cumplen un rol importante en la regulación del metabolismo (Hedge y col. 1987).

3.2.1. Síntesis, liberación y transporte de T_4 y T_3 .

Cunningham (1994), se refiere a lo interesante que resulta la síntesis de tiroxina (T_4) y triyodotironina (T_3), debido a que una gran parte de la hormona es almacenada en el coloide, por fuera de las células foliculares.

Los ingredientes básicos para la síntesis de T_4 y T_3 son el yodo y el aminoácido tirosina. Ambos pueden ser secuestrados desde la sangre por las células foliculares. Durante todo el proceso de biosíntesis, la tirosina permanece incorporada en una gran proteína, la tiroglobulina. Esta es sintetizada en el retículo endoplásmico rugoso de las células foliculares, posee un peso molecular de 660.000 y es molécula fundamental en este proceso (Hedge y col., 1987).

Pasos de la biosíntesis : Hedge y col. (1987), describen el proceso como una secuencia de pasos bien definidos, que involucran la conversión de yodo y tirosina en hormonas T_4 y T_3 .

Los pasos de este proceso se detallan a continuación.

La primera etapa en la síntesis de las hormonas tiroideas es transferir el yodo desde el líquido extracelular a las células de la glándula tiroides y desde allí al interior del folículo. La membrana basal de las células tiroideas tiene capacidad específica para transportar yodo mediante transporte activo al interior de la célula; esto se denomina bomba de yodo o captación de yodo (Guyton, 1994).

El yodo es bombeado desde la sangre al interior de las células foliculares donde es transformado a una forma oxidada de yoduro (I^0). Esta reacción ocurre rápidamente y requiere de la enzima tiroperoxidasa y de un oxidante, el peróxido de hidrógeno. Una vez en el coloide

el yodo se une rápidamente a los residuos tirosil de la tiroglobulina para formar monoyodotirosina (MIT) si es yodinado una vez y diyodotirosina (DIT) si es yodinado dos veces. El paso siguiente es la conjugación de dos yodotirosinas para formar una yodotironina. La formación de triyodotironina (T_3) tendrá efecto al conjugarse una monoyodotirosina (MIT) con una diyodotirosina (DIT), por el contrario la tiroxina (T_4) se formará de la conjugación de dos diyodotirosinas (DIT) (Hedge y col., 1987).

Con el fin de que estas hormonas sean liberadas de la glándula tiroidea, la tiroglobulina con sus moléculas de MIT, DIT, T_4 y T_3 , debe ser transportada desde el coloide al interior de las células foliculares en donde serán liberadas de su unión a la tiroglobulina por efecto de enzimas lisosomales. Las tiroxinas (T_4 y T_3) son liberadas a través de la membrana celular basal por donde pasan libremente al espacio intersticial. La MIT y DIT son deiodinadas por una enzima llamada yodotirosina dehalogenasa con el objetivo de aprovechar nuevamente el yodo y la tirosina para la formación de nueva hormona (Cunningham, 1994).

El mismo autor señala que las hormonas tiroideas T_4 y T_3 son transportadas en la sangre unidas a proteínas plasmáticas. Estas son la Globulina Conjugadora de Tiroxina (TBG), la Albúmina y la Prealbúmina Conjugadora de Tiroxina (TBPA). Indica también que menos del 1% de las hormonas tiroideas está en forma libre.

Ingbar y Braverman (1975), reportan que aproximadamente un 15 % de la triyodotironina (T_3) circulante es secretada directamente por la glándula tiroidea, Hedge y col. (1987) además describen que un 80 % de esta hormona y la totalidad de la triyodotironina reversa (rT_3) que circula en la sangre en forma libre o ligada a proteínas provendría de la deiodinación de tiroxina (T_4) a nivel extratiroideo.

3.2.2. Regulación de la secreción de las hormonas tiroideas.

Hedge y col. (1987), divide los mecanismos de regulación en factores que afectan directamente la glándula tiroidea, efecto de feedback negativo de las hormonas tiroideas y regulación hipotalámica de la secreción de hormona estimulante de la tiroidea (TSH).

Uno de los factores que afecta directamente a la glándula tiroidea es la tirotrófina, también llamada hormona estimulante de la tiroidea (TSH). Esta hormona secretada por la glándula pituitaria anterior es el más importante regulador fisiológico de la secreción de hormonas tiroideas. La secreción de TSH es seguida de un incremento en la actividad de la tiroidea, incluyendo la liberación de T_4 y T_3 de la molécula de tiroglobulina, su secreción a la sangre y transporte hacia las células (Reece, 1991).

Hedge y col. (1987), describe que la TSH es inhibida por parte de T_4 y T_3 por un feedback negativo ejercido a nivel de glándula pituitaria anterior el cual puede ser un efecto inhibitorio secundario al efecto del hipotálamo. Este sistema de feedback es bidireccional, cuando anormalmente los altos niveles de hormonas tiroideas pueden deprimir la secreción de TSH, y bajos niveles de hormonas tiroideas pueden incrementar la secreción de TSH. Ambas hormonas tiroideas (T_4 y T_3) están involucradas en este mecanismo, pero son las hormonas

libres en el plasma más que las unidas a proteínas las que ejercen dicha inhibición. En adición a la regulación de la secreción de TSH por parte del feedback de las hormonas tiroideas, el hipotálamo provee control neuroendocrino para estimular o inhibir la secreción de TSH cuando se necesite. El mediador primario de esta regulación hipotalámica es la hormona liberadora de tirotrófina (TRH), la cual es un tripéptido producido en ciertas células de hipotálamo y liberada al sistema sanguíneo portal hipotálamo - pituitaria. Al llegar a la adenohipófisis esta hormona puede estimular la síntesis y liberación de TSH. En complemento a la TRH existen otros factores hipotalámicos que afectan la secreción de TSH. por ejemplo la dopamina inhibe la secreción de TSH en humanos y animales pero la importancia fisiológica debe ser demostrada, la somatostatina inhibiría también la secreción de TSH, esto tendría importancia fisiológica ya que incrementa la secreción de TSH después de la neutralización endógena de somatostatina en animales por inmunización pasiva.

El exceso en el consumo de yodo ha sido mostrado como inhibidor de la función tiroidal en humanos (Wolff, 1969) y caballos (Baker y Lindsay, 1968). Leung y col. (1980), reportan en un estudio realizado en terneros, una suave reducción en la actividad de la tiroides al alimentarlos con 1.250 mg diariamente. Sin embargo, Convey y col. (1977), no encontraron este efecto en vacas lactantes, posiblemente porque las vacas en lactación excretan grandes cantidades de yodo en la leche (Miller y Swanson, 1973), lo cual las protegería de los efectos adversos del alto consumo de yodo.

3.2.3. Funciones de tiroxina y triyodotironina.

Según Hedge y col. (1987), algunas de las funciones en que se verían involucradas la tiroxina (T_4) y la triyodotironina (T_3) serian: 1) Incrementar la tasa metabólica basal, reflejado en el aumento del consumo de oxígeno y la producción de calor. 2) Aumentar la disponibilidad de glucosa para cubrir las elevadas demandas metabólicas al incrementar la glucólisis, gluconeogénesis y la absorción de glucosa a nivel intestinal. 3) Estimular la síntesis de nuevas proteínas. 4) Incrementar el metabolismo lipídico y la conversión de colesterol a ácidos biliares, activación de lipoproteínas lipasa y aumentar la sensibilidad del tejido adiposo a la lipólisis por otras hormonas. 5) Estimular el ritmo cardiaco, el gasto cardiaco y el flujo sanguíneo y 6) Incrementar la transmisión neural y el desarrollo neuronal y cerebral en animales jóvenes.

Cowie y col. (1980), señalan que las hormonas tiroideas son galactopoyéticas y pueden jugar un importante rol en la regulación de la lactancia.

Se ha sugerido que la tiroxina (T_4) funcionaría como una prohormona y que la triyodotironina (T_3) tendría una potencia biológica de tres veces superior a la de tiroxina y que toda la actividad metabólica de T_4 puede ser asumida por la T_3 (Schwartz y col. 1971; Oppenheimer y col. 1972), mientras que Pittman y Pittman (1974), reportan que la triyodotironina reversa (rT_3) sería inactiva y le atribuye el rol de inhibidor de la síntesis de triyodotironina (T_3). Sin embargo, Frandson (1986), señala que ambas hormonas, T_3 y T_4 pueden ser activas, pero que T_4 comenzaría a actuar más lentamente que T_3 .

Diversos son los autores que informan sobre las concentraciones de Tiroxina (T₄) en vacas lecheras señalando que dichos niveles al inicio de la lactancia están disminuidos (Mixner y col., 1962; Heitzman y Mallinson., 1972; Hart y col., 1978; Thilsted, 1985).

Estudios realizados en vacas lecheras por Vanjonack y Johnson (1975) y Walsh y col. (1980), informan que existe una correlación negativa entre las concentraciones de T₄ y la producción de leche. Sin embargo, la triyodotironina (T₃) no mostró una correlación significativa con la producción de leche y tampoco con el estado de lactancia (Walsh y col., 1980).

Vanjonack y Johnson (1975), describen las concentraciones de tiroxina en vacas gestantes y en lactancia, señalando que los niveles de T₄ en vacas gestantes son significativamente mas altos que los encontrados en vacas lecheras al inicio de la lactancia. Magdub y Johnson (1977), señalan en su estudio que vacas que se encuentran en el período seco tienen concentraciones de tiroxina (T₄) más altas que vacas en lactancia de alta y baja producción.

Ruiz (1998) señala que las concentraciones de T₄ no varían significativamente entre vacas en periodo seco y al inicio de lactancia, pero si las concentraciones de T₃ siendo más altas en vacas al inicio de lactancia que en vacas en periodo seco.

Heitzman y Mallinson (1972), han realizado investigaciones con vacas lecheras en gestación y en lactancia y a su vez que se encuentren en desbalance energético afirmando que vacas que se encuentran en dicho estado tienen los niveles de tiroxina (T₄) más bajos que aquellos animales que están con balance energético normal.

Bekeoba y col. (1982) reportaron que la administración de una dosis luteolítica de cloprostenol a vacas resulta en una reducción de los niveles de tiroxina. También Elecko y col. (1985) sugieren que la caída en la concentración de tiroxina durante la inducción luteolítica con cloprostenol puede ser asociada al incremento del 17B-estradiol en el plasma durante este período.

En consideración a la frecuencia de presentación de desbalances nutricionales de energía que afectan a los rebaños del sur de Chile (Wittwer y col., 1987; Contreras y col., 1996), en el presente estudio se ha planteado la hipótesis de que en rebaños lecheros del sur de Chile existen diferencias entre los niveles de hormonas tiroideas (tiroxina y triyodotironina) de vacas con balance energético normal y vacas con balance energético negativo, así como también existen diferencias entre los niveles de dichas, hormonas entre vacas en los dos últimos meses de "estación v vacas al inicio de la lactancia.

Para aceptar o rechazar la hipótesis anteriormente descrita se plantearon los siguientes objetivos:

- ✓ Medir las concentraciones plasmáticas de triyodotironina (T_3) y tiroxina (T_4) de vacas lecheras al final de la gestación y al inicio de la lactancia.
- ✓ Comparar las concentraciones de T_3 , y T_4 en vacas con balance energético normal y vacas con balance energético negativo.

4. MATERIAL Y METODO

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Patología Clínica del Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias y en el laboratorio de Endocrinología Veterinaria del Instituto de Reproducción Animal, pertenecientes a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile.

4.1. PREDIOS Y ANIMALES SELECCIONADOS.

Se seleccionaron muestras de 21 predios de rebaños lecheros del genotipo Frisón Negro y de diferentes grados de cruzas de Frisón Negro y Holstein Friesian que solicitaban el servicio de perfiles metabólicos al Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria de la Universidad Austral de Chile. La selección se realizó basándose en los resultados de aquellos perfiles que tenían vacas en período seco (8° y 9° mes de gestación) y vacas al inicio de lactancia (1° y 2° mes de lactancia) con concentraciones de Betahidroxibutirato normales, es decir, BHB menores de 0,48 mmol./ l., lo que señala un balance energético normal y concentraciones aumentadas, es decir, BHB por sobre 0,48 mmol./ l.. lo que indica un estado de balance energético negativo según los valores referenciales dados para la especie por Kaneko (1989).

De acuerdo a estos resultados y objetivos planteados se conformaron los siguientes grupos experimentales:

1. VG = 60 vacas periodo seco:
 - 30 vacas con balance energético normal (VGE+).
 - 30 vacas con balance energético negativo (VGE-).
2. VL = 60 vacas en lactancia:
 - 30 vacas con balance energético normal (VLE+).
 - 30 vacas con balance energético negativo (VLE-).

4.2. OBTENCION Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción yugular, en tubos de vidrio con anticoagulante (heparina en dosis de 10-15 U.I. por ml.). En el laboratorio, cada muestra de sangre fue centrifugada para la obtención de plasma, a 3500 r.p.m. por 5 minutos. El plasma así obtenido se utilizó para realizar los exámenes de perfil metabólico. Obtenidos los resultados de betahidroxibutirato (BHB), se seleccionaron las muestras a utilizar para la

medición de tiroxina y triyodotironina, y se almacenaron a -20° C. hasta que se realizó la medición de las hormonas mencionadas anteriormente.

4.3. MEDICION DE LOS NIVELES DE TRIYODOTIRONINA Y TIROXINA.

Las concentraciones de triyodotironina (T_3) y tiroxina (T_4) fueron medidas en plasma sanguíneo por radioinmunoensayo, utilizando un set de diagnóstico específico para cada hormona, elaborado por Diagnostic Product Corporation denominado Coat-A-Count Total T_4 y Coat-A-Count Total T_3 para tiroxina y triyodotironina respectivamente. Los materiales utilizados en este procedimiento se describen en el Anexo 1.

4.4. PRINCIPIO DEL RADIOINMUNOENSAYO.

El procedimiento consiste en un radioinmunoensayo de fase sólida, basado en la unión de anticuerpos a tubos de polipropileno y el uso de sueros humanos calibradores. La hormona sea esta T_3 o T_4 marcada con I^{125} compete con la hormona T_3 o T_4 presente en la muestra que esta siendo medida, por sitios de unión en los anticuerpos adosados a los tubos y en presencia de agentes bloqueadores de las proteínas que transportan estas hormonas en el plasma, con lo que se produce la liberación de ellas (D.P.C. 1991).

4.5. MEDICION DE TRIYODOTIRONINA (T_3).

La medición se realizó siguiendo los pasos del instructivo Coat-A-Count Total T_3 , adjunto al kit de diagnóstico. Los materiales utilizados se describen en el Anexo 1.

Luego de descongelar a temperatura ambiente las muestras que serian medidas, fueron agitadas en un vortex con el objeto de homogeneizar el plasma y posteriormente trasladadas al laboratorio de endocrinología en donde se preparó el kit *de* medición de la siguiente forma:

Tubos sin anticuerpos: Se tomaron 2 tubos de polipropileno (12x75mm) no recubiertos con anticuerpos e identificados con la letra T, para la medición de las cuentas totales.

Tubos con anticuerpos para T_3 : Se utilizaron 138 tubos de polipropileno recubiertos con anticuerpos para triyodotironina (T_3), de los cuales se identificaron 12 con las letras A, B, C, D, E y F en duplicado, destinados a la obtención de la curva de calibración. También se identificaron 6 tubos (lab), que correspondían a muestras controles, y se numeraron los 120 tubos que correspondían a las muestras problema.

Se procedió a agregar 100 μ l de los sueros calibradores A, B, C, D, E y F en los tubos correspondientes. Dichos sueros contenían cantidades conocidas de hormona T_3 dadas por el fabricante, estas cantidades se señalan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Concentraciones de triyodotironina (T₃) de los distintos sueros calibradores utilizados (D.P.C., 1991).

Suero Calibrador	ng. / dl	nmol / L
A (MB)*	0	0
B	20	0.31
C	50	0.77
D	100	1.54
E	200	3.07
F	600	9.22

* Corresponde al tubo cuyo suero calibrador está libre de hormona.

A cada uno de los tubos identificados con lab se adicionó 100 µl de plasma control. A los 120 tubos previamente identificados, se adicionó 100 µl de cada muestra de plasma individualmente.

Adición de hormona marcada: Posterior a esto se procedió a agregar 1.0 ml de reactivo con triyodotironina marcada con I¹²⁵ (D.P.C., 1991) a todos los tubos (T, A, B, C, D, E, F, lab y muestras), para luego ser agitados en un vortex con el objeto de homogeneizar el contenido.

Incubación: Una vez agitados los tubos fueron incubados a "baño maría" a una temperatura de 37°C por un período de 120 minutos.

Medición: Retirados de la incubadora, todos los tubos, excepto los tubos T, fueron liberados del contenido utilizando un rack de decantación por al menos 2 a 3 minutos. La cuenta se realizó en un contador gamma por 50 segundos, los tubos T fueron medidos sin eliminar el contenido. Las cuentas individuales se expresan en cuentas por minuto y están detalladas en los anexos 2, 3, 4 y 5.

4.6. MEDICION DE TIROXINA (T₄).

La medición se realizó siguiendo los pasos del instructivo del set Coat -A- Count Total T₄, adjunto al set de diagnóstico. Los materiales utilizados se describen en el Anexo 1.

Una vez descongeladas a temperatura ambiente las muestras que serían medidas, se agitaron en un vortex y posteriormente fueron trasladadas al laboratorio de endocrinología en donde se preparó el kit de medición de la siguiente forma:

Tubos sin anticuerpos: Se utilizaron dos tubos de polipropileno (12 x 75mm.) libres de anticuerpos e identificados con la letra T, para la medición de las cuentas totales.

Tubos con anticuerpos para T₄: Se utilizaron 138 tubos de polipropileno recubiertos con

anticuerpos para tiroxina (T_4), de los cuales se identificaron en duplicado 12 tubos con las letras A, B, C, D, E y F, destinados a la obtención de la curva de calibración. Además se identificaron 6 tubos (lab), que correspondían a muestras controles, y se numeraron los 120 tubos que correspondían a las muestras en estudio.

Se procedió a agregar 25 μ l de los sueros calibradores A, B, C, D, E y F en los tubos correspondientes. Dichos sueros contenían cantidades conocidas de hormona T_4 dadas por el fabricante, estas cantidades se señalan en el cuadro 2.

Cuadro 2. Concentraciones de tiroxina (T_4) de los distintos sueros calibradores utilizados (D.P.C., 1991).

Suero Calibrador	μ g / dl	nmol / L
A(MB)*	0	0
B	1	12.9
C	4	51.5
D	10	129
E	16	206
F	24	309

* Corresponde al tubo cuyo suero calibrador está libre de hormona.

A cada uno de los tubos identificados con lab se adicionó 25 μ l de plasma control. A los 120 tubos previamente identificados, se adicionó 25 μ l de cada muestra de plasma individualmente.

Adición de hormona marcada: Luego de esto, a todos los tubos (T, A, B, C, D, E, F, lab y muestras), se procedió a agregar 1.0 ml de tiroxina marcada con I^{125} (DPC, 1991), los cuales inmediatamente fueron agitados en un vortex con el objeto de homogeneizar el contenido.

Incubación: Una vez agitados los tubos fueron incubados a "baño maría" a una temperatura de 37°C por un período de 60 minutos.

Medición: Retirados de la incubadora, todos los tubos, excepto los tubos T, fueron liberados del sobrenadante utilizando un rack de decantación por al menos 2 a 3 minutos. La cuenta se realizó en un contador gamma por 50 segundos, los tubos T fueron medidos sin eliminar el contenido. Las cuentas individuales se expresan en cuentas por minuto y están detalladas en el anexos 2, 3, 4 y 5.

4.7. CALCULO DE RESULTADOS.

Los pasos para el cálculo de las concentraciones de triyodotironina (T_3) y tiroxina (T_4) fueron los mismos y fueron obtenidos por una representación "logit-log" de la curva de calibración. Esta se realizó siguiendo los pasos que se detallan a continuación:

a.- Las cuentas por minuto obtenidas de los tubos en duplicado se promediaron. Luego de esto se obtuvo el porcentaje de unión de cada tubo de la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de unión} = \frac{\text{Cuentas netas de cada tubo}}{\text{Cuentas netas tubo A (MB)}} \times 100$$

b.- Usando el papel gráfico logit-log adjunto con el kit de diagnóstico, se confeccionó la curva de calibración, utilizando los porcentajes de unión calculados para los sueros calibradores en el eje de las ordenadas y las concentraciones de hormona en el eje de las abscisas.

c.- Fijados los puntos de intersección se trazo la recta entre los puntos ya mencionados. Las concentraciones de cada tubo problema se obtuvieron a través de los respectivos porcentajes de unión.

d.- Las unidades utilizadas para la obtención de los resultados en la curva de calibración fueron la única diferencia entre ambas variables (T_3 y T_4). La unidad utilizada para triyodotironina en la curva de calibración fue de nanogramos por decilitro (ng / dl), en cambio para tiroxina la unidad utilizada fue de microgramos por decilitro (μg / dl).

e.- La conversión de los resultados de T_3 obtenidos en ng/dl a nanomoles por litro que es la unidad con que se trabajó se realizó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{ng/dl} \times 0.01536 \rightarrow \text{nmol} / \text{L}$$

f.- Del mismo modo, para T_4 la conversión a nanomoles por litro de la unidad de μg / dl se realizó utilizando la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g/dl} \times 12.87 \rightarrow \text{nmol/L}$$

Las fórmulas de conversión de nanogramos y microgramos por decilitro a nanomoles por litro fueron extraídas del instructivo adjunto al set de diagnóstico.

Los porcentajes de unión de los tubos calibradores se llevaron a una escala de equivalencia en nmol/l, incluida en el kit de diagnóstico. Luego, los porcentajes de unión, junto a su equivalencia en nmol/l se llevó a una recta en papel logaritmico. Así, se posibilitó la obtención de nmol/l de T_3 y de T_4 mediante la extrapolación de los resultados de los tubos calibradores.

4.8. ANALISIS ESTADISTICO.

Los datos del estudio fueron analizados por medio de una descripción estadística, basada en parámetros de posición y dispersión (promedio y desviación estándar respectivamente).

Para poder diferenciar si los datos seguían una distribución normal, se realizó previamente el Test de homocedasticidad de la varianza de Bartlett. Para el análisis estadístico de las dos variables en estudio (triyodotironina y tiroxina) de los diferentes grupos se utilizó la prueba estadística paramétrica de Análisis de Varianza y el test de Tukey de comparación múltiple en forma posterior. El grado de significación utilizado fue de $p \leq 0,05$.

En forma complementaria se analizaron para ambas variables (T_3 y T_4), todos los datos correspondientes a vacas gestantes v/s vacas en lactancia y vacas con balance energético normal v/s el total de vacas con balance energético negativo. Para esto se utilizó la prueba estadística de T de Student, con una significancia de $p \leq 0.05$.

Se realizaron pruebas estadísticas de correlación y regresión en los grupos formados para las variables Triyodotironina y Tiroxina en relación a los niveles de Betahidroxibutirato.

En los análisis se utilizó el programa computacional GraphPad Prism para efectuar la prueba de análisis de varianza, la prueba de T de Student y pruebas de correlación y regresión.

5. RESULTADOS

Los resultados promedio de la medición de T_4 y T_3 en los grupos de vacas gestantes, en lactancia, con balance energético normal (VE+) y en el grupo con balance energético negativo (VE-) se expresan en el Cuadro 3. Los resultados individuales y por grupo de dicha medición están representados en el Anexo 2, 3, 4 y 5.

Cuadro 3. Concentraciones plasmáticas de triyodotironina (T3) y tiroxina (T₄) en vacas gestantes, lactantes, con balance energético normal (VE+) y con balance energético negativo (VE-).

Grupo de Vacas	n	BHB (mmol/l) x ± ds	T ₃ (nmol/l) x ± ds	T ₄ (nmol/l) x±ds
Vacas periodo seco	60		1.20 ± 0.41 ^a	40.8 ± 11.4
Vacas en lactancia	60		1.44 ± 0.35 ^b	41.2 ± 7.7
VE±	60	0.31 ± 0.08 ^a	1.27 ± 0.37	41.3 ± 10.7
VE-	60	0.76 ± 0.03 ^b	1.36 ± 0.41	40.1 ± 8.7
Valores de referencia ¹			0.8 - 1.9	57 - 119

* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$).

Se puede observar en el Cuadro 3, que los niveles promedio de T_3 en los dos grupos de vacas se encuentran dentro de los rangos señalados como normales para la especie mientras que los valores promedio de T_4 en ambos grupos se encuentran bajo el rango. Cabe destacar que se utilizó la misma técnica de medición de hormonas que la utilizada por el autor para señalar los valores de referencia.

Se puede observar que las concentraciones de T_3 en vacas lactantes fueron significativamente mayores ($p < 0.05$) que en vacas gestantes. Para T_4 no se encontró diferencias significativas entre ambos grupos. Con respecto a las concentraciones plasmáticas de T_3 al comparar los grupos VE+ y VE-, las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Por otra parte los niveles promedio de T_4 fueron muy similares, no existiendo diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre ambos grupos.

¹ Shelley A. Burton, Handbook of Diagnostic Endocrinology.

Con respecto al análisis de regresión y correlación realizado para las variables T_3 y BHB en los grupos de vacas con balance energético normal y negativo se encontró lo expresado en el Gráfico 1.

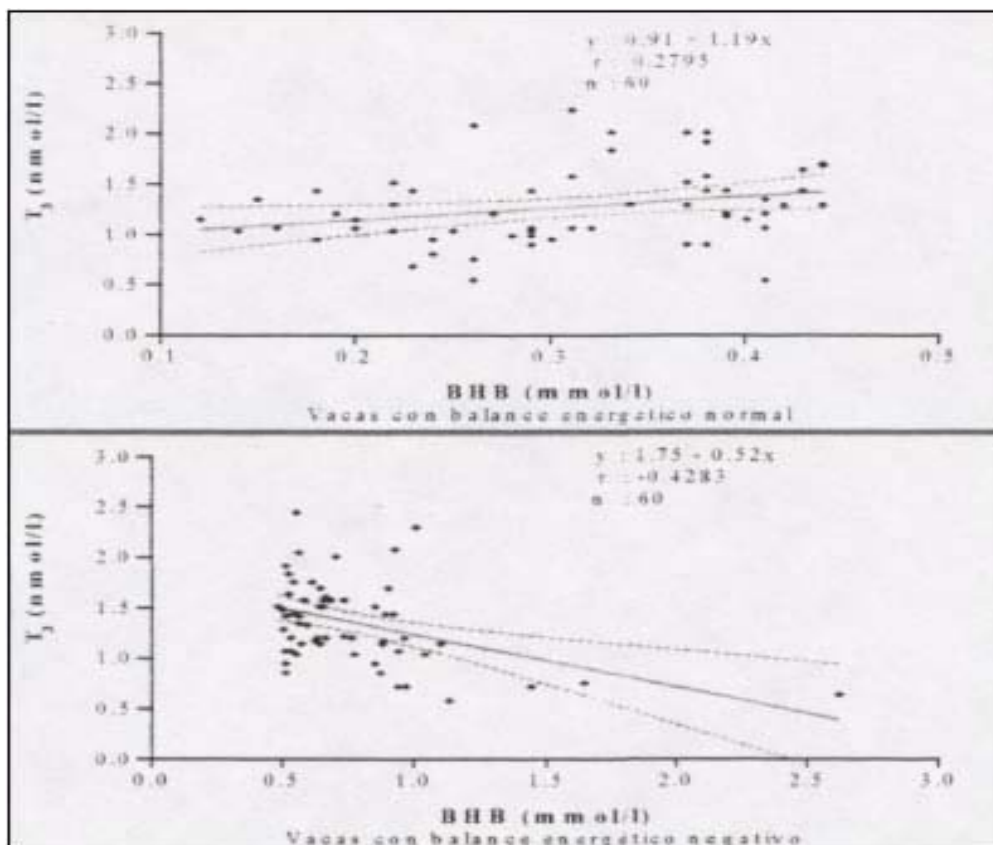


Gráfico 1. Correlaciones, rectas y ecuaciones de regresión entre las variables T_3 y BHB en los grupos de vacas con balance energético normal (VE+) y negativo (VE-).

En el Gráfico 1, se puede observar que el grupo de vacas con balance energético normal, hay una correlación positiva entre T_3 y BHB siendo este grado de asociación significativo estadísticamente ($p < 0.05$). En el grupo de vacas con balance energético negativo existe también una correlación mayor y negativa ($p < 0.05$) lo que hace prever un cambio en una variable al observarse un cambio en la otra. Es decir, que en vacas con balance energético negativo mientras más severo es este menor es la concentración de T_3 .

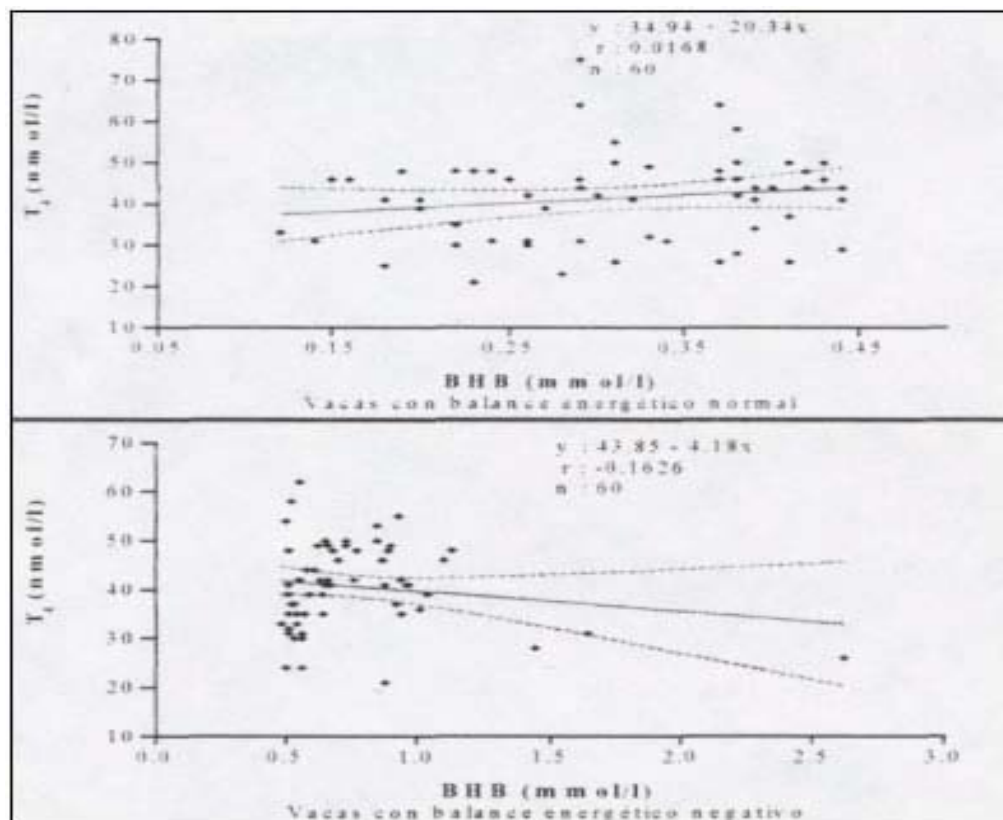


Gráfico 2. Correlaciones, rectas y ecuaciones de regresión entre las variables T₄ y BHB en los grupos de vacas con balance energético normal (VE+) y negativo (VE-).

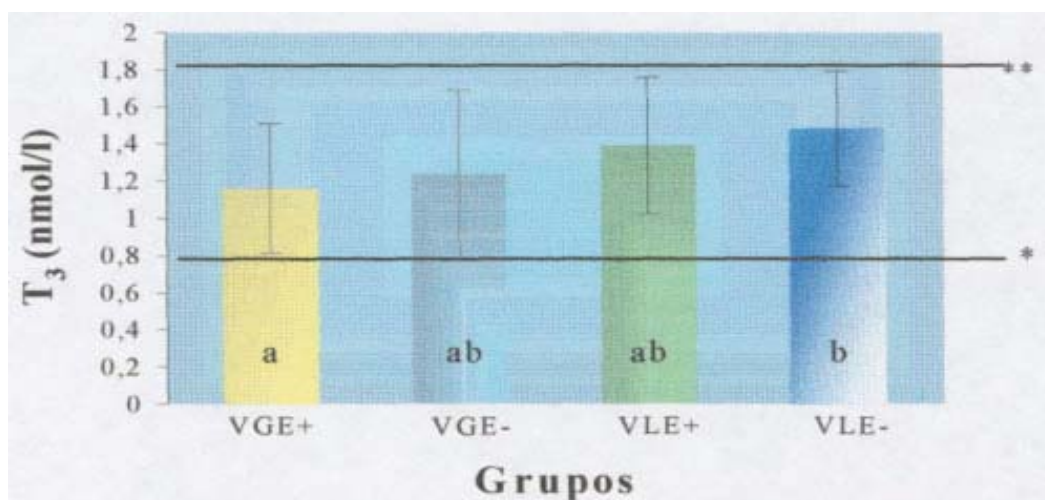
El gráfico 2, al observar los resultados del análisis de correlación de las variables T₄ y BHB para el grupo VE+ y VE- no es posible advertir un grado de asociación o correlación entre ambas variables.

Los resultados promedio de la medición de los niveles plasmáticos de Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄) por radioinmunoensayo en los diferentes grupos experimentales y su significancia estadística, están representados en el cuadro 4 y en los Gráficos 3 y 4. Los resultados individuales de la medición de T₃ y T₄ por grupo se encuentran detallados en el Anexo 4 y 5.

Cuadro 4. Concentraciones plasmáticas de T₃ y T₄ en los diferentes grupos, expresadas en promedios y desviaciones estándar.

Grupo Experimental	N	T ₃ (nmol/l) x ± ds	T ₄ (nmol/l) X ± ds
VGE+	30	1.16±0.35 ^a	42.7 ± 12.5 ^a
VGE-	30	1.24±0.45 ^{ab}	38.9± 10.2 ^a
VLE+	30	1.39±0.37 ^{ab}	39.8 ± 8.5 ^a
VLE-	30	1.48 ±0.31 ^b	42.5 ± 6.6 ^a
Valores de referencia		0.8- 1.9	57-129

- Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05).

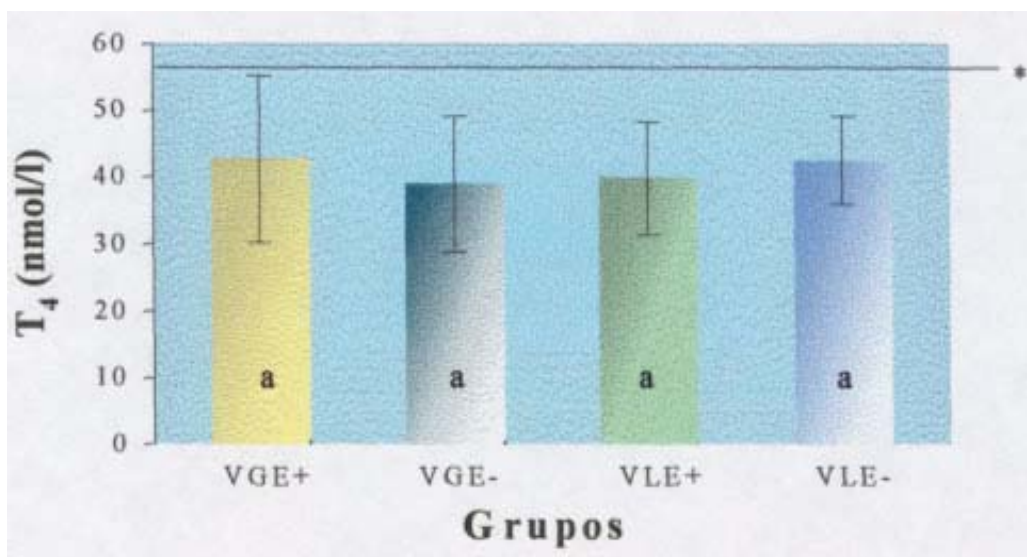


Valores de referencia: * mínimo, ** máximo.

Gráfico 3. Variaciones de los promedios de T₃ en los diferentes grupos experimentales y su relación con el rango de referencia.

Conforme a lo presentado en el Cuadro 4 y en el Gráfico 3, con respecto a T₃ se puede rescatar que los valores promedio de los cuatro grupos experimentales estuvieron dentro de los rangos señalados como normales para la especie.

Además se observó que los niveles fueron mayores en los grupos de vacas lactantes que los grupos de vacas gestantes, sin embargo sólo se observó significación estadística ($p < 0.05$) entre el grupo de vacas lactantes con balance energético negativo (VLE-) y el grupo de vacas gestantes con balance energético normal (VGE+). El grupo de vacas gestantes con balance energético normal (VGE+) presentó las concentraciones de Triyodotironina más bajas de los cuatro grupos experimentales, mientras que los mayores niveles se observaron en el grupo de vacas lactantes con balance energético negativo (VLE-).



* Valor mínimo del rango de referencia

Gráfico 4. Variaciones de los promedios de T₄ en los diferentes grupos experimentales y su relación con el rango de referencia.

De acuerdo con lo expuesto en el Cuadro 4 y Gráfico 4, las concentraciones promedio de T₄ se encuentran por debajo de los rangos señalados como normales para la especie, sin presentar diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los grupos.

Las correlaciones, ecuaciones y rectas de regresión de la variable T₃ y BHB en los diferentes grupos experimentales se presentan en el Gráfico 5 y 6.

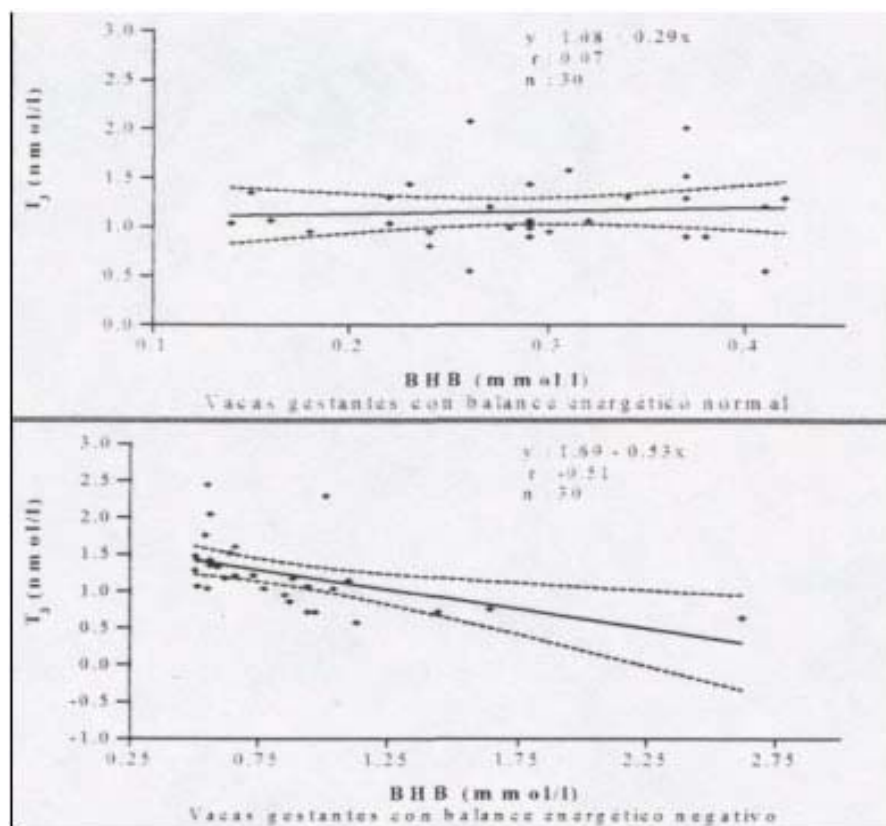


Gráfico 5. Correlaciones, rectas y ecuaciones de regresión entre los niveles plasmáticos de T_3 y BHB en vacas gestantes con balance energético normal (VGE+) y negativo (VGE-).

En el Gráfico 5 es posible observar en el grupo VGE+ una gran dispersión de los valores de T_3 , no observándose una correlación estadísticamente significativa ($p > 0.05$). Para el grupo VGE- se encontró lo contrario, una correlación negativa y estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$), lo que representa un grado de asociación real entre ambas variables, es decir, que al producirse un aumento en los niveles de BHB produciría una disminución en los niveles de T_3 , es decir, que en vacas gestantes mientras más negativo el balance energético del animal, menor es la concentración de T_3 .

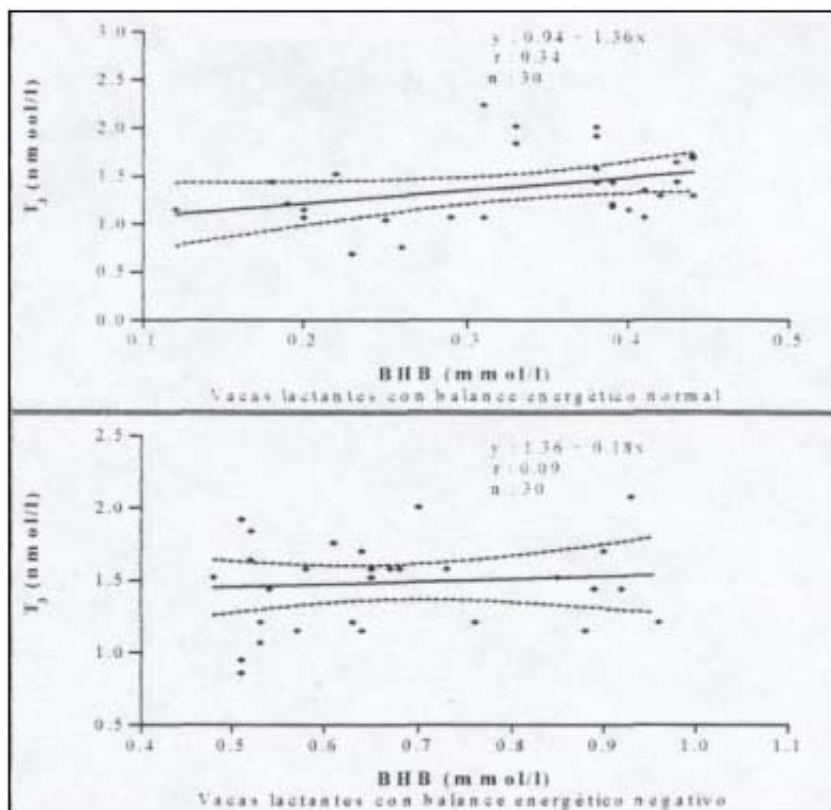


Gráfico 6. Correlaciones, rectas y ecuaciones de regresión entre los niveles plasmáticos de T_3 y BHB en vacas en lactancia con balance energético normal (VLE+) y negativo (VLE-).

En el Gráfico 6 en ambos grupos de vacas lactantes tanto con balance energético normal (VLE+) como con balance energético negativo, no se encontró correlación entre T_3 y BHB.

Las correlaciones, rectas y ecuaciones de regresión de las variables T_4 y BHB de los diferentes grupos experimentales se presentan en los Gráficos 7 y 8.

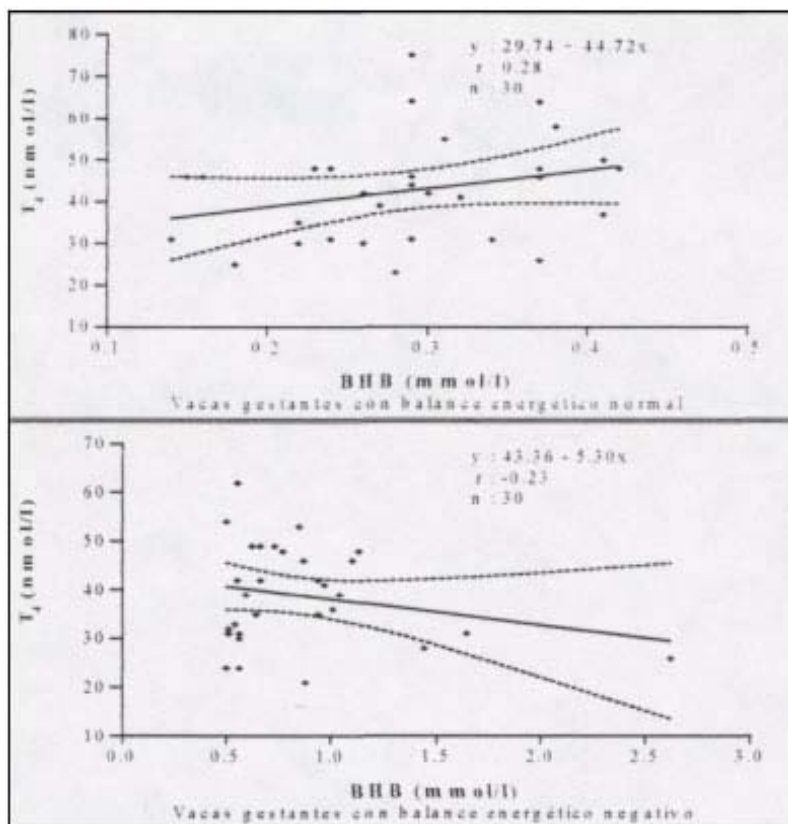


Gráfico 7. Correlaciones, rectas y ecuaciones de regresión entre las variables T₄ y BHB en vacas gestantes con balance energético normal (VGE+) y negativo (VGE-).

Lo representado en el Gráfico 7 es el resultado del análisis de correlación entre las variables T₄ y BHB que en los grupos VGE+ y VGE- en los cuales no se observó un grado de asociación o correlación.

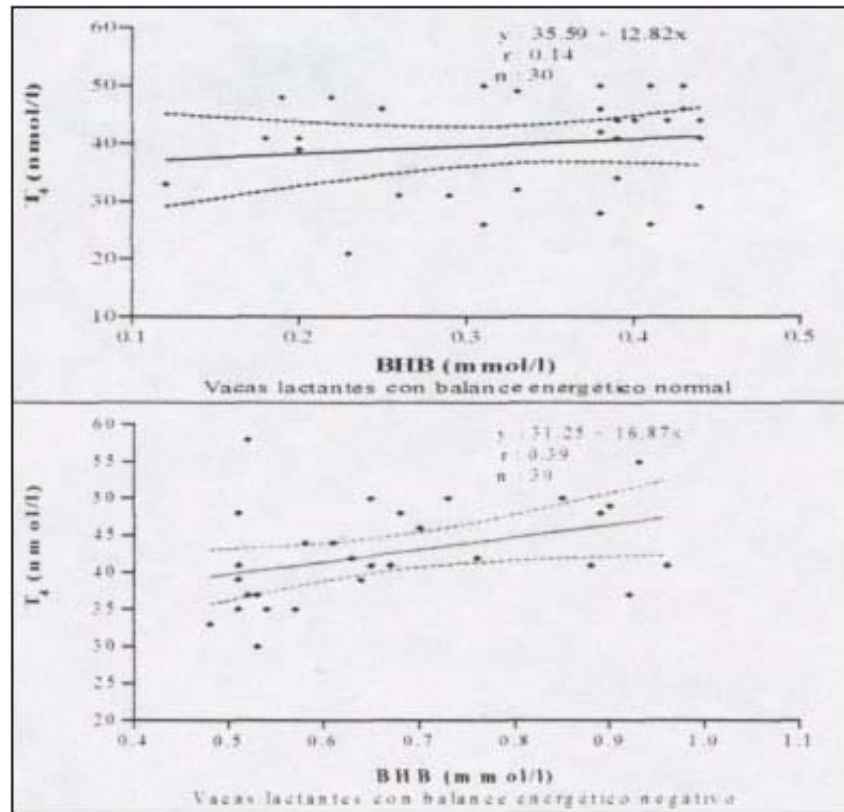


Gráfico 8. Correlaciones, rectas y ecuaciones de regresión entre las variables T_4 y BHB en los grupos de vacas lactantes con balance energético normal (VLE+) y negativo (VLE-).

A juzgar por lo presentado en el Gráfico 8, en el grupo de vacas lactantes con balance energético normal no se encontró correlación, diferente es lo observado en el grupo VLE- en el cual sí se encontró correlación. Esta correlación al ser positiva indicaría que mientras más severo es el déficit energético más altos serían los niveles de T_4 .

6. DISCUSION

Los resultados encontrados en el presente estudio con relación a triyodotironina (T_3) permiten señalar que para todos los grupos formados, los valores de esta hormona se encuentran dentro de los rangos reportados como normales para la especie bovina por Burton (1992). Situación opuesta encontramos para Tiroxina (T_4), para la cual en todos los grupos los niveles se encontraron bajo los rangos de referencia señalados por el mismo autor. Aceves y col. (1985), describen que el estado hipotiroideo es caracterizado por bajas concentraciones circulantes de yodotironinas T_3 y T_4 , al observar sólo las concentraciones promedio de tiroxina a nivel plasmático en las vacas estudiadas podría plantearse que estas se encontrarían en un estado de hipotiroidismo.

La condición hipotiroidea de las vacas estudiadas no podría asegurarse ya que las concentraciones de T_3 en promedio fueron normales para todos los grupos y no se tiene conocimiento de los niveles de hormona estimulante de la tiroides (TSH) que presentaban los animales en cuestión ya que Fukuda y col. (1980). describen que junto a las bajas concentraciones de hormonas tiroideas es característico del estado hipotiroideo las altas concentraciones de TSH.

En un estudio realizado en vacas lecheras del sur de Chile por Ruiz (1998) se encontró concentraciones de T_4 muy similares a las descritas en este trabajo para vacas en período de parto y al inicio de lactancia, catalogando las bajas concentraciones sanguíneas de T_4 como un hipotiroidismo subclínico, a causa de una deficiencia marginal de yodo. Sarne y DeGroot (1989) sostiene que el hipotiroidismo puede ser primario, por bajo contenido de yodo en la dieta o secundario, por consumo de tiocianatos e isotiocianatos (presentes en las crucíferas), los cuales inhiben la captación de yodo, también el consumo de maíz o papas, que contienen agentes bocígenos (glucósidos cianogénicos) pueden ser factores que favorezcan la situación observada en este trabajo. Es de importancia considerar estos factores ya que la alimentación de vacas de lechería en el sur de Chile frecuentemente incluye diversos alimentos como el maíz (concentrado y forraje), coles forrajeras, afrecho de raps (crucíferas) y también en algunos casos papas.

Sin embargo, los requerimientos de yodo para vacas lecheras dados por NRC (1989) alcanzan a 0.60 ppm los cuales pueden ser cubiertos a través de la alimentación normal, ya sea por forrajes, praderas y aditivos, por lo que es difícil explicar con certeza la verdadera causa de las bajas concentraciones de T_4 , con el consecuente estado hipotiroideo. Factores a considerar también serían la posibilidad de que existan factores que interfieran con la absorción y captación de este mineral a distintos niveles dentro del organismo, como la absorción de yodo en el aparato digestivo y la captación de este mineral por parte de la glándula tiroides, la que se vería interferido por efecto de tiocianatos o isotiocianatos.

Los resultados no permiten sostener que las vacas estudiadas se encuentren realmente en un estado hipotiroideo, debido a falta de información respecto de los niveles de TSH, niveles de yodo plasmáticos, clearance de yodo y contenido de yodo en la dieta de los animales estudiados, estos factores podrían considerarse para futuros estudios relacionados con la endocrinología de la glándula tiroidea, en rebaños lecheros del sur de Chile.

6.1 HORMONAS TIROÍDEAS SEGUN ESTADO FISIOLÓGICO.

Diversos son los autores que describen las concentraciones sanguíneas de tiroxina en vacas lecheras (Hart y col., 1978; Ropstad y col., 1989; Grum y col., 1996) y cabras (Rus y Madsen, 1985) señalando que al inicio de la lactancia dichas concentraciones se encuentran deprimidas, incrementando sus niveles a medida que avanza la lactancia. Además, Heitzman y Mallinson (1972), Hart y col. (1978) y Grum y col. (1996) señalan que las concentraciones de tiroxina durante el período seco (preparto) fueron significativamente más altas que al inicio de la lactancia. Estos antecedentes difieren de los resultados encontrados en este trabajo (Cuadro 3) ya que no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ambos grupos de vacas, independiente del balance energético del animal. Ruiz (1998) encontró resultados muy similares y atribuye al hecho de ausencia de variación entre los grupos a que las concentraciones de T_4 se encuentran bajo el rango de referencia, lo cual puede alterar la sensibilidad de respuesta ante cambios en el estado fisiológico.

Con relación a triyodotironina (T_3) en el presente estudio se encontró que los niveles de esta hormona en el grupo de vacas al inicio de lactancia, fueron significativamente mayores que los encontrados para el grupo de vacas en período de preparto (Cuadro 3). Interesante resulta lo variado de la literatura con relación a T_3 . Por ejemplo, los resultados encontrados en este estudio son coincidentes con los reportados por Ruiz (1998) y Kunz y col. (1985) y opuestos a los reportados por Grum y col. (1996), quienes encontraron altos niveles en el período seco con una brusca caída en los días posteriores al parto para luego repuntar levemente, lo que según Slebodzinski y col. (1991) sería debido al déficit energético y al paso de hormonas a la glándula mamaria. Así también, en contraposición a lo observado por los investigadores mencionados anteriormente Tiirats (1997), no encontró diferencias estadísticamente significativas en los niveles de T_3 entre vacas en período seco y vacas al inicio de la lactancia

Las mayores concentraciones de T_3 observadas en vacas en lactancia se podrían deber al mayor consumo de energía por parte de este grupo de vacas, ya que los niveles de T_3 están directamente relacionados con el consumo de energía (Blum y col., 1979; Kunz y col., 1985). Si bien el apetito de la vaca está generalmente disminuido al inicio de la lactancia (Contreras, 1992), las vacas reciben raciones con una concentración energética significativamente mayor que aquellas vacas en período seco. Aunque el consumo de alimento y su composición energética no fue un factor considerado en este estudio, la influencia de estos sobre los niveles plasmáticos de T_3 es clara y ampliamente descrita en la literatura (Kunz y col., 1985).

Akasha y col. (1987), señalan que en vacas lactantes las bajas concentraciones de tiroxina en plasma y las altas concentraciones de tiroxina y triyodotironina en leche son el reflejo de la utilización de estas hormonas por parte de la glándula mamaria, lo que se hace más evidente en vacas con mayores producciones de leche.

Sin embargo, es difícil poder atribuir, las variaciones en los niveles plasmáticos de hormonas tiroideas, a un factor específico ya que son numerosos los factores que están involucrados en las concentraciones plasmáticas de hormonas, entre ellos cabe destacar factores tales como: genéticos (Bitman y col., 1984) número de lactancias (Leirer, 1981) producción láctea (Walsh y col., 1980) alimentación y condiciones climáticas (Johnson y Vanjonack, 1975) factores terapéuticos como la administración de hormonas (Bekeoba y col., 1982) con el objetivo de favorecer la eficiencia reproductiva y productiva, están involucrados en mayor o menor medida en las variaciones de las concentraciones de estas hormonas.

Por ejemplo, Bitman y col. (1984) midieron las concentraciones de hormonas tiroideas en vaquillas con alta selección genética para producción de leche y vaquillas de bajo potencial, demostrando que existe una relación negativa entre el nivel sanguíneo de tiroxina y el potencial de producción de leche, lo que no se observó para las concentraciones sanguíneas de triyodotironina. Además, diversos investigadores han señalado que las concentraciones de tiroxina presentan una correlación negativa en relación a la producción de leche (Walsh y col. 1980; Blum y col. 1983). Considerando que los individuos con los cuales se realizó este estudio presentan un buen nivel de selección genética y por ende altos niveles productivos, podría ser considerado como un factor responsable de las bajas concentraciones de T₄.

6.2 HORMONAS TIROIDEAS Y METABOLISMO ENERGETICO.

El desbalance energético al final de la gestación y al inicio de la lactancia es una de las alteraciones metabólicas más frecuentes de las explotaciones bovinas de lechería (Wittwer y col., 1987; Contreras y col., 1996), es por esto que se ha convertido en un área de gran interés para los investigadores el correlacionar la fisiología hormonal con esta alteración.

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de la medición de hormonas tiroideas en vacas en período seco y al inicio de lactancia con balance energético normal y balance energético negativo, en él observamos que no hubo diferencia estadísticamente significativa para T₃ y T₄ en ambos grupos. Esto se contrapone a lo reportado por Kunz y col. (1985), que sostienen que las concentraciones de T₄ fueron más bajas cuando existe un déficit energético. Por otra parte, Heitzman y Mallinson (1972) observaron, que vacas que presentaban signología clínica de un desbalance energético (acetonejnia) al inicio de lactancia, tenían concentraciones plasmáticas de tiroxina significativamente más bajas que aquellas vacas que no presentaban signología clínica. También Nikolic y col. (1997), observaron en vacas que presentaban los primeros signos de cetosis postparto, presentaban concentraciones de hormonas tiroideas (T₃ y T₄) más bajas que aquellas vacas postparto aparentemente sanas.

Cabe destacar, que los niveles de hormonas tiroideas observados por los investigadores anteriormente mencionados, fueron medidos en animales que presentaban algún grado de signología clínica de desbalance energético, a diferencia de este estudio en el cual se trabajó sólo en base a los niveles de BHB por sobre el rango de referencia y no con animales que presentaban signología clínica, por lo que el desbalance energético de los animales estudiados podría ser considerado insuficientemente como para desencadenar una respuesta en los niveles de hormonas tiroideas.

Aceves y col. (1985), sugieren que el metabolismo periférico de las hormonas tiroideas y los cambios en los niveles circulantes que se producen pueden ser parte de un complejo homeorrético que mantiene la oferta energética para funciones de alta prioridad en el organismo. Así también Rus y Madsen (1985) explican que la baja en las tasas de secreción de T_4 , disminuirían los efectos adversos de una deficiencia de nutrientes al inicio de la lactancia, por lo que T_4 sería un factor clave, en la adaptación del consumo de energía por parte del organismo a la oferta que puede tener el mismo.

Reducida es la literatura que correlaciona niveles sanguíneos de hormonas tiroideas y betahidroxibutirato como indicador de un desbalance energético. Por ejemplo, Clement y col. (1991) se refieren a una medición de T_3 y T_4 realizada al primer y tercer mes después del parto, señalando que las concentraciones de hormonas tiroideas (T_3 y T_4) aumentaban entre la primera medición y la segunda, resultando coincidente con la estabilización de los niveles de betahidroxibutirato y el mejoramiento del balance energético de los animales. Por otra parte, Ropstad y col. (1989), a diferencia del presente estudio, correlacionaron en vacas al inicio de lactancia las concentraciones de acetoacetato y tiroxina, encontrando que los más altos niveles de este cuerpo cetónico coincidían con los más bajos niveles de T_4 . Además describen que el incremento en los niveles de T_4 fue asociado a la estabilización de las concentraciones plasmáticas de acetoacetato a niveles bajos, describiendo una correlación negativa entre ambos parámetros.

En el presente trabajo las correlaciones obtenidas entre Betahidroxibutirato y T_3 en el grupo de vacas con balance energético negativo revelaron una correlación de tendencia negativa, lo que implica que el aumento de las concentraciones de BHB, es decir, un desbalance energético más marcado, se vería reflejado en una mayor disminución de los niveles plasmáticos de T_3 .

Es importante destacar que los diferentes estudios realizados para correlacionar los niveles de hormonas tiroideas se han llevado a cabo en animales con mayor severidad en el balance energético negativo, signos clínicos de acetonemia y con niveles ya sea de acetoacetato o BHB más altos que los utilizados en este estudio, lo cual explicaría las diferencias con lo reportado en la literatura.

Resulta de interés el hecho de que los resultados encontrados en este estudio, respecto a los valores plasmáticos de T_4 , sean similares a los encontrados por Ruiz (1998), ya que ambos trabajos fueron realizados con una raza en particular y en rebaños lecheros, lo cual hace de estas investigaciones una importante herramienta, para quien desee continuar esta línea de

trabajo con relación al metabolismo tiroideo y la interrelación de la fisiología tiroidea con las alteraciones metabólicas más frecuentes en los rebaños del sur de Chile.

6.3 CONCLUSIONES

en consideración a los resultados anteriormente expuestos y en las condiciones de este estudio se concluye que:

- ✓ Los niveles de tiroxina plasmática de los animales estudiados se encuentran por debajo de los rangos de referencia.
- ✓ Las concentraciones sanguíneas de triyodotironina se encuentran dentro de los rangos de referencia para la especie.
- ✓ Los niveles plasmáticos de triyodotironina son superiores en vacas al inicio de la lactancia que en vacas en período de parto.
- ✓ No existe diferencia en los niveles de hormonas tiroideas (T_3 y T_4) al comparar vacas con balance energético normal y negativo.
- ✓ En vacas con balance energético negativo, mientras más severa es la deficiencia energética más bajos son los niveles de triyodotironina T_3

7. BIBLIOGRAFIA

- ACEVES, C, A. RUIZ-J, C. ROMERO y C. VALVERDE-R.** 1985 Homeorhesis during early lactation. Euthyroid sick-like syndrome in lactating cows. *Acta Endocrinol.*, 110:505.
- AKASHA, M. A., R. R. ANDERSON, M. ELLERSIECK y D. A. NIXON.** 1987 Concentration of thyroid hormones and prolactin in dairy cattle serum and milk at three stages of lactation. *J. Dairy Sci.*, 70: 271-276.
- ANDRADE, O.** 1994. La protección vegetal y la producción agropecuaria en el mundo. *Investigación y Progreso Agropecuario*. Carillanca 13: 3-7.
- BAKER, H. J. y J. R. LINDSAY.** 1968. Equine goiter due to excess dietary iodine. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 153: 1618.
- BEKEOVA, E., J. ELECKO, J. CHOMA, I. MARACEK y J. HAJURKA.** 1982 Serum throxine and progesterona measured in cows and heifers in the luteal phase of the estrous cycle after administration of oestrophan (cloprostenol). *Vet. Med. (Prague)*, 27: 129-136.
- BITMAN, J., H. TAO y R. M. AKERS.** 1984. Triiodothyronine and thyroxine during gestation in dairy cattle selected for high and low production. *J. Dairy Sci.*, 67: 2614-2619.
- BLOOD, D. C. y O. M. RADOSTITS.** 1992. *Medicina Veterinaria*. 7ª edición. Interamericana/ McGraw-Hill. México.
- BLOSSER, T. H.** 1979. Physiological bases for genetic improvement in dairy cattle - introductory remarks. *J. Dairy Sci.*, 62: 813.
- BLUM, J. VV., P. KUNZ, W. SCHNYDER, E. F. THOMPSON, A. BLOOM, P. VTITVS y H. BICKEL.** 1979. Changes of hormones and metabolites during reduced and compensatory growth. *Ann. Rech. Vet.*, 10:391-392.
- BLUM, J. VV., P. KUNZ, H. LEUENBERGER, K. QAUTSCHI y M. KELLER.** 1983 Thyroid hormones, blood plasma metabolites and haematological parameters in relationship to milk yield in dairy cows. *Anim. Prod.* 36:93.
- BURTON, S. A.** 1992. *Handbook of Diagnostic Endocnnology*. Atlantic Veterinary College. University of Prince Edward Island. Charlottetown, PEI.

- CLEMENT, C., F. JANS y J. BLUM.** 1991 Hormones and metabolites in lactating dairy cows fed insufficient amounts of protein. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.*, 65: 244-253.
- CONTRERAS, P. A.** 1992. Riesgos en salud en vacas de altas producciones de leche. EN: Aspectos técnicos y perspectivas de la producción de leche. Serie INIA Remehue N° 33: 97-109.
- CONTRERAS, P. A., L. VALENZUELA, F. G. WITWER y H. BÖHMWALD.** 1996 Desbalances nutricionales más frecuentes en rebaños de pequeños productores de leche, Valdivia - Chile. *Arch. Med. Vet.*, 29, 1: 39-50.
- CONVEY, E. M., L. CHAPIN, J. S. DESNER, D. HILLMAN y A. R. CURTIS.** 1977 Serum thyrotropin and thyroxine after thyrotropin releasing hormone in dairy cows fed varying amounts of iodine., *J. Dairy Sci.*, 61:771.
- COWIE, A. I., I. A. FORSYTH y I. C. HART.** 1980. Control of lactation. Springer- Verlag, Berlin, FRG. Citados por **AKASHA, M. A., R. R. ANDERSON, M. ELLERSIECK y D. A. NTXON.** 1987. Concentration of thyroid hormones and prolactin in dairy cattle serum and milk at three stages of lactation. *J. Dairy Sci.*, 70: 271-276.
- CUNNINGHAM, J.** 1994. Fisiología Veterinaria. Interamericana/ Me. Graw - Hill. México.
- DIAGNOSTIC PRODUCTS CORPORATION.** 1991 Coat-A-Count® 5700 West 96th Street. Los Angeles, CA 90045.
- ELECKO, J., E. BEKEOBA, I. MARACEK, J. CHOMA y M. KRAJNICKAKOVA.** 1985 Correlations between thyroxine, 17 p-estradiol and LH in the systemic circulation and the rectal and vaginal temperature of heifers and cows after cloprostenol administration. *Vet. Med.(Prague)*, 30: 257-266.
- FRANDSON, R. D.** 1986. Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos. 4ª edición. Interamericana/ Me Graw-Hill. México.
- FUKUDA, H., K. OHSHIMA, M. MORI, I. KOBAYASHI, Y M. A. CREER.** 1980 Sequential changes in the pituitary-thyroid axis during pregnancy and lactation in the rat. *Endocrinology*, 107:1711.
- GRUM, D. E., J. K. DRACKLEY, R. S. YOUNKER, D. VV. LaCOUNT y J. J. VEENHUIZEN.** 1996. Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows., *J. Dairy Sci.*, 79: 1850-1864.

- GUYTON, A.** 1994. Fisiología y Fisiopatología. Editorial Interamericana. 5ª edición. México.
- HART, I. C., J. A. BINES, S. V. MORANT y J. L. RIDLEY.** 1978 Endocrine control of energy metabolism in the cow: Comparison of the levels of hormones (prolactin, growth hormone, insulin and thyroxine) and metabolites in the plasma of high- and low- yielding cattle at various stages of lactation., *J. Endocr.*, 77: 333-345.
- HEDGE, G. A., H. D. COLBY y R. C. GOODMAN.** 1987. Clinical Endocrine Physiology. A Saunders Monograph in Physiology. W. B. Saunders Company. Philadelphia.
- HEITZMAN, R. J. y C. B. MALLINSON.** 1972. A comparison of the thyroxine levels in the plasma of healthy, starved and acetoanemic dairy cows. *Res. Vet. Sci.*, 13: 591-593.
- HERDT, T. H., J. B. STEVENS, W. G. OLSON y V. LARSON.** 1981 Blood concentrations of B-Hydroxybutyrate in clinically normal holstein - friesian herds and in those with a high prevalence of clinical ketosis. *Am. J. Vet. Res.*, 42: 503.
- HIBBITT, K. G.** 1979. Bovine ketosis and its prevention. *Vet. Rec.*, 105, 13-15.
- INGBAR, S. H. y L. E. BRAYERMAN.** 1975. Active form of the thyroid hormone. *Annual Review of Medicine*, 26: 443-449.
- JOHNSON, H. D. y W. J. YANJONACK.** 1975. Symposium: stress and health of the dairy cow. Effects of environmental and other stressors on blood hormone patterns in lactating animals. *J. Dairy Sci.*, 59: 1603.
- KANEKO, J. K.** 1989. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Nutritional Metabolite Kit Protocols. Animal Production and Health. Joint FAO/IAEA Programme.
- KREBS, H. A.** 1966. Bovine ketosis. *Vet. Rec.*, 78, 187-191.
- KUNZ, P. L., J. W. BLUM, I. C. HART, H. BICKEL y J. LANDIS.** 1985 Effects of different energy intakes before and after calving on food intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. *Anim. Prod.* 40: 219-231.
- LEIRER, R.** 1981. Importance of thyroid in calf. *Mh. Vet. Med.* 36: 297 - 299. Citado por **MORAIS, M. y H. PEREZ.** 1988. Niveles de tiroxina y triyodotironina en vacas holstein antes y después del parto y en sus crías, *Rev. Salud Anim.*, 10: 323-327.
- LEING, K., E. M. CONVEY y G. H. CONNER.** 1980. Effect of dietary iodide on hypophyseal and thyroid hormone secretions in holstein friesian heifers. *Amer. J. vet. Res.*, 41: 1402.

- MAGDUB, A. B. y H. D. JOHNSON.** 1977. Estimation of thyroid function in regard to milk production by measures of plasma thyroxine and thyroxine turnover., *J. Dairy Sci.* 60 (Suppl. 1): 106.
- MCDONALD, L. E. y C. C. CAPEN.** 1991. *Endocrinología Veterinaria y Reproducción.* 4ª edición. Editorial Interamericana. MacGraw-Hill. México.
- MILLER, J. K. y E. W. SWANSON.** 1973. Metabolism of ethylenediamine dihydriodide and sodium or potassium iodide by dairy cows., *J. Dairy Sci.* 56: 378.
- MIXNER, J. P., D. H. KRAMER y K. T. SZABO.**1962. effects of breed, stage of lactation and season of year on thyroid secretion rate of dairy cows as determined by the chemical thyroxine turnover method., *J. Dairy Sci.*, 45: 999-1002.
- NATIONAL RESEARCH COI NCIL.** 1989 Nutnent dairy cattle. Sixth Rev. Ed. National Academy Press.
- NIKOLIC, J. A., H. SAMANC, J. BEGIVIC, Z. DAMJANOVIC, R. DOKOVIC, G. KOSTIC, J. KRSMANOVIC y V. RESANOVIC.** 1997. Low peripheral serum thyroid hormone status independently affectsthe hormone profile of healthy and ketotic cows during the first week post partum. *Personel Admmistration*, 47 (1): 3-13. Abstr.
- OETZEL, G. R. Y L. L. BERGER.** 1985. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 7, S672.
- OPPENHEIMER, J. H., H. L. SCHWARTS y M. I. SURKS.** 1972 *J. Clin. Invest.*..51: 2493-2497. Citados por **INGBAR, S. H. y L. E. BRAVERMAN.** 1975. Active form of the thyroid hormone. *Anual Review of Medicine*, 26: 443-449.
- PAYNE, J. M.** 1981. *Enfermedades Metabólicas De Los Animales Zootécnicos.* 1ª Edición. Editorial Acribia. Zaragoza (España).
- PITTMAN, C. S. y J. A. PITTMAN.** 1974. *Handb. PhysioL*, 3: 233-253. Citados por **INGBAR, S. H. y L. E. BRAVERMAN.** 1975. Active form of the thyroid hormone. *Anual Review of Medicine*, 26: 443-449.
- REECE, W. O.** 1991. *Physiology of Domestic Animals.* Philadelphia: Lea & Febiger.
- RIIS, P. M. y A. MADSEN.** 1985. Thyroxine concentfation and secretion rates in relation to pregnancy, lactation and energy balance in goats., *J. Endocr.*, 107: 421-427.
- ROPSTAD, E., K. HALSE y A. O. REFSDAL.** 1989. Thyroxine in blood plasma related to plasma levels of acetoacetate and glucose in ketotic and healthy cows. *Acta Vet. Scan.*..30: 175-183.

- RUIZ, V. C.** 1998. Valores sanguíneos de triyodotironina (T₃) y tiroxina (T₄) en vacas normo e hipomagnesemicas. Tesis de licenciatura en Med. Veterinaria. Facultad de Cs. Veterinarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile.
- SARNE, D. y L. DEGROOT.** 1989. Hypotalamic and neuroendocrine regulation of thyroid hormone. EN: *Endocrinology*, Ed L. DeGroot, 2^a edic, vol. 1, W.B. Saunders Co. Philadelphia. E.E.U.U.
- SCHWARTZ, H. L., M. I. SIKS y J. H. OPPENHELMER.** 1971. *J. Clin. Invest.*, 50: 1124-1130. Citados por **INGBAR, S. H. y L. E. BRAYERMAN.** 1975. Active form of the thyroid hormone. *Annual Review of Medicine*, 26: 443-449.
- SISSON, S. y J. D. GROSSMAN.** 1995. Anatomía de los animales domésticos. 5^a edición. Tomo 1. Ciencia y Cultura Latinoamericana. Mexico.
- SLEBODZINSKI, A. B. y E. BREZEZINSKA-SLEBODZINSKA.** 1991 Local generation of triiodothyronine by the mamary gland as a source of measurable quantities of the hormone in milk. *Endocrine regulations*, 25: 83-89.
- THILSTED, S. H.** 1985. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung and Futternittelkunde*, 53: 10-18. Citado por **RIIS, P. M. y A. MADSEN.** 1985. Thyroxine concentration and secretion rates in relation to pregnancy, lactation and energy balance in goats. *J. Endocr.*, 107: 421-427.
- THIRATS, T.** 1997. Thyroxine, triiodothyronine and reverse-triiodothyronine concentrations in blood plasma in relation to lactational stage, milk yield, energy and dietary protein intake in stonian dairy cows. *Acta Vet. Scan.*, 38: 339-348.
- TUCKER, H. A.** 1981. Physiological control of mamary growth, lactogenesis, and lactation. *J. Dairy Sci.* 64 : 1403.
- VANJONACK, W. J. y H. D. JOHNSON.** 1975. Effects of moderate heat and milk yield on plasma thyroxine in cattle. *J. Dairy Sci.* 58: 507.
- WALSH, D. S., J. A. YESELY y S. MAHADEVAN.** 1980. Relationship between Milk Production and Circulating Hormones in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, 63: 290-294.
- VYITTWER, F. G., P. A. CONTRERAS y H. BÖHMWALD.** 1987 Análisis de resultados de perfiles metabólicos obtenidos en rebaños lecheros en Chile. *Arch. Med. Vet.*, 19,2: 35-45.
- WOLFF, J.** 1969. Iodide goiter and the pharmacologic effects of excess iodide. *Amer. J. Med.* 47: 101.

8. ANEXOS

Anexo 1. Materiales utilizados en el proceso de medición de T₃ y T₄.

- ✓ Contador gama, Miniassay, tipo 6-20. Miniinstrument ltda.
- ✓ Vortex mixer, Maxi mix II - tipo 37600 Mixer-Thermoline Corporation.
- ✓ Incubadora de agua- Yamato, modelo BT- 31. Yamato scientific CO., Itda.
- ✓ Micropipetas Transferpet de 25 ul. y 100 ul.
- ✓ Tubos de polipropileno de 12 x 75 mm.

Anexo 2. Resultados individuales de la medición de Tj y Tj, número de perfil, concentración de betahidroxibutirato, lectura de radioactividad, porcentaje de unión y concentración de Tj y T⁴ por muestra, en el grupo de vacas en periodo seco con balance energético normal (VGE+).

N° Muestra	N° Perfil	BHB (mmol/l)	Triyodotironina				Tiroxina			
			T ₃ CPM	T ₃ % Unión	T ₃ (ns/dl)	T ₃ (nmol/)	T ₄ CPM	T ₄ % Unión	T ₄ (ug/dl)	T ₄ (nmol/l)
1	2195-2	0,37	2698	54	99	1,52	671	61	2,0	26
2	2195-4	0,23	2733	55	94	1,44	535	48	3,7	48
3	4595-6	0,29	3162	64	59	0,90	554	50	3,4	44
4	4595-7	0,14	3048	61	68	1,04	626	57	2,4	31
5	17495-9	0,32	2992	60	70	1,07	573	52	3,2	41
6	17495-12	0,30	3121	63	62	0,95	560	51	3,3	42
7	17495-13	0,24	3130	63	62	0,95	628	57	2,4	31
8	31495-14	0,38	3155	64	59	0,90	486	44	4,5	58
9	3 1595-8	0,37	2829	57	84	1,29	540	49	3,6	46
10	31595-9	0,37	2348	47	131	2,01	469	42	5,0	64
11	31595-14	0,41	3611	73	36	0,55	594	54	2,9	37
12	31895-14	0,28	3100	62	65	0,99	694	63	1,8	23
13	3 1895-15	0,26	3642	73	36	0,55	638	58	2,3	30
14	31895-16	0,27	2905	58	79	1,21	581	53	3,0	39
15	37695-15	0,26	2286	46	136	2,08	9536	51	3,3	42
16	37695-17	0,37	3161	64	59	0,90	9032	48	3,7	48
17	37695-18	0,31	2609	53	103	1,58	8304	45	4,3	55
18	44295-21	0,16	2975	60	70	1,07	9063	49	3,6	46
19	49195-9	0,15	2799	56	88	1,35	9125	49	3,6	46
20	49195-11	0,42	2837	57	84	1,29	8927	48	3,7	48
21	49195-14	0,29	2990	60	70	1,07	9108	49	3,6	46
22	49695-8	0,24	3266	66	53	0,81	9023	48	3,7	48
23	49695-9	0,29	3080	62	65	0,99	7855	42	5,0	64
24	49695-13	0,41	2875	58	79	1,21	8702	47	3,9	50
25	56695-4	0,29	2746	55	94	1,44	7290	39	5,8	75
26	57995-16	0,18	3121	63	62	0,95	11418	61	2,0	25
27	57995-17	0,29	3017	61	68	1,04	10562	57	2,4	31
28	57995-18	0,22	3055	61	68	1,04	10332	55	2,7	35
29	47296-8	0,34	1538	64	85	1,30	2332	59	2,4	31
30	47296-10	0,22	1561	64	85	1,30	2364	60	2,3	30

Anexo 3. Resultados individuales de la medición de T₃ y T₄, número de perfil, concentración de betahidroxibutirato, lectura de radioactividad, porcentaje de unión y concentración de T₃ y T₄ por muestra en el grupo de vacas en periodo seco con balance energético negativo (VGE-).

N° Muestra	N° Perfil	BHB (mmol/l)	Triyodotironina				Tiroxina			
			T ₃ CPM	T ₃ % Unión	T ₃ (ns/dl)	T ₃ (nmol/l)	T ₄ CPM	T ₄ % Unión	T ₄ (ug/dl)	T ₄ (nmol/l)
1	2195-3	0.64	2658	54	99	1,52	597	55	2,7	35
2	2195-6	0.56	2792	56	88	1.35	644	58	2,3	30
3	2195-7	0.54	2490	50	115	1,76	624	56	2,6	33
4	4595-2	2.62	3465	70	42	0,64	675	61	2,0	26
5	4595-3	1.64	3318	67	50	0,76	633	57	2,4	31
6	4595-5	1.44	3357	68	47	0,72	655	59	2,2	28
7	31495-13	0.97	3400	68	47	0,72	569	52	3,2	41
8	37695-16	0.77	3010	61	68	1,04	536	48	3,7	48
9	37695-20	0.66	2899	58	79	1,21	560	51	3,3	42
10	49695-10	0,50	2819	57	84	1,29	11498	62	1,9	24
11	49695-11	0,55	3027	61	68	1,04	8100	43	4,8	62
12	49695-12	1,13	3563	72	38	0,58	8966	48	3,7	48
13	49695-14	1,04	3008	61	68	1,04	9902	53	3,0	39
14	56695-6	0.94	2977	60	70	1,07	10232	55	2,7	35
15	66295-1	1,10	2918	59	75	1,15	9050	49	3,6	46
16	66295-3	0.87	3215	65	56	0,86	9154	49	3,6	46
17	66295-4	0.85	3120	63	62	0,95	8484	46	4,1	53
18	66295-7	0,94	3361	68	47	0,72	9445	51	3,3	42
19	30296-4	0.66	1440	59	105	1,61	2145	54	3,8	49
20	30296-6	0.59	1525	63	87	1,33	2151	55	0,3	39
21	38996-10	0.88	1600	66	77	1,18	2593	66	1,7	21
22	41796-9	1,01	1243	51	150	2,30	2214	56	2,8	36
23	41796-10	0,55	1181	49	160	2,45	2021	51	3,3	42
24	41796-12	0.56	1504	62	93	1,42	2330	59	2,4	31
25	41796-13	0,56	1310	54	134	2,05	2506	64	1,9	24
26	47296- 1 1	0,51	1644	68	70	1,07	2284	58	2,5	32
27	47296-13	0,51	1511	62	93	1,42	2315	59	2,4	31
28	63396-1	0,73	1577	65	80	1,22	2139	54	3,8	49
29	63396-2	0,62	1602	66	77	1,18	2142	54	3,8	49
30	63396-5	0,50	1477	61	98	1,48	1882	48	4,2	54

Anexo 4. Resultados individuales de la medición de T₃ y T₄, número de perfil, concentración de betahidroxibutirato, lectura de radioactividad, porcentaje de unión y concentración de T₃ y T₄ por muestra en el grupo de vacas al inicio de lactancia con balance energético normal (VLE+).

N° Muestra	N° Perfil	BHB (mmol/l)	Triyodotironina				Tiroxina			
			T ₃ CPM	T ₃ % Unión	T ₃ (ns/dl)	T ₃ (nmol/l)	T ₄ CPM	T ₄ % Unión	T ₄ (ug/dl)	T ₄ (nmol/l)
1	2195-8	0,12	2926	59	75	1,15	619	56	2,6	33
2	2195-10	0,25	3055	61	68	1,04	544	49	3,6	46
3	2195-14	0,38	2640	53	103	1,58	566	51	3,3	42
4	4595-17	0,19	2866	58	79	1,21	531	48	3,7	48
5	4595-20	0,40	2920	59	75	1,15	549	50	3,4	44
6	22795-4	0,26	3351	67	50	0,76	629	57	2,4	31
7	22795-5	0,39	2744	55	94	1,44	576	52	3,2	41
8	31495-2	0,39	2892	58	79	1,21	553	50	3,4	44
9	31495-4	0,38	2391	48	125	1,92	543	49	3,6	46
10	31595-1	0,38	2329	47	131	2,01	514	47	3,9	50
11	31595-3	0,43	2575	52	107	1,64	509	47	3,9	50
12	31595-7	0,43	2740	55	94	1,44	548	49	3,6	46
13	31895-2	0,20	2938	59	75	1,15	569	52	3,2	41
14	31895-4	0,20	3001	60	70	1,07	571	53	3,0	39
15	31895-5	0,18	2740	55	94	1,44	567	52	3,2	41
16	44295-2	0,31	2966	60	70	1,07	11292	61	2,0	26
17	44295-3	0,41	2989	60	70	1,07	11324	61	2,0	26
18	44295-5	0,42	2865	57	84	1,29	9404	50	3,4	44
19	49195-7	0,31	2172	44	146	2,24	8723	47	3,9	50
20	49695-6	0,38	2727	55	94	1,44	10974	59	2,2	28
21	56695-8	0,23	3421	69	45	0,69	12013	65	1,6	21
22	56695-9	0,29	2957	60	70	1,07	10566	57	2,4	31
23	56695-11	0,22	2695	54	99	1,52	8955	48	3,7	48
24	66295-10	0,44	2556	51	111	1,70	9649	52	3,2	41
25	66295-11	0,41	2805	56	88	1,35	8791	47	3,9	50
26	66295-12	0,44	2811	57	84	1,29	9223	50	3,4	44
27	41596-2	0,33	1593	66	77	1,18	2249	57	2,7	34
28	41596-5	0,33	1415	58	110	1,68	2388	61	2,3	29
29	47296-1	0,39	1349	56	120	1,84	1988	50	3,8	49
30	47296-6	0,44	1318	54	132	2,02	2303	58	2,5	32

Anexo 5. Resultados individuales de la medición de T₃ y T₄, número de perfil, concentración de betahidroxibutirato, lectura de radioactividad, porcentaje de unión y concentración de T₃ y T₄ por muestra en el grupo de vacas al inicio de lactancia con balance energético negativo (VLE-).

N° Muestra	N° Perfil	BHB (mmol/l)	Triyodotironina				Tiroxina			
			T ₃ CPM	T ₃ % Unión	T ₃ (ns/dl)	T ₃ (nmol/l)	T ₄ CPM	T ₄ % Unión	T ₄ (ug/dl)	T ₄ (nmol/l)
1	4595-15	0.57	2939	59	75	1.15	612	55	2.7	35
2	17495-3	0.89	2716	55	94	1.44	533	48	3.7	48
3	17495-5	0.85	2661	54	99	1.52	517	47	3.9	50
4	17495-7	0.68	2636	53	103	1.58	534	48	3.7	48
5	22795-2	0.92	2722	55	94	1.44	590	54	2.9	37
6	31495-1	0.53	2899	58	79	1.21	593	54	2.9	37
7	31495-6	0.54	2723	55	94	1.44	601	55	2.7	35
8	31495-7	0.48	2691	54	99	1.52	616	56	2.6	33
9	31595-2	0.52	2568	52	107	1.64	489	44	4.5	58
10	31595-4	0.51	2375	48	125	1.92	533	48	3.7	48
11	31595-5	0.52	2458	49	120	1.84	591	54	2.9	37
12	37695-2	0.51	2406	48	125	1.92	575	52	3.2	41
13	37695-4	0.96	2900	58	79	1.21	572	52	3.2	41
14	37695-7	0.58	2618	53	103	1.58	550	50	3.4	44
15	44295-1	0.65	2679	54	99	1.52	8802	47	3.9	50
16	44295-7	0.7	2337	47	131	2.01	9059	49	3.6	46
17	49195-2	0.61	2468	50	115	1.76	9372	50	3.4	44
18	49195-4	0.93	2282	46	136	2.08	8430	45	4.3	55
19	49195-6	0.67	2629	53	103	1.58	9753	52	3.2	41
20	49695-1	0.53	3002	60	70	1.07	10882	58	2.3	30
21	49695-2	0.64	2929	59	75	1.15	9797	53	3.0	39
22	49695-5	0.9	2533	51	111	1.7	8876	48	3.8	49
23	49695-7	0.65	2618	53	103	1.58	9757	52	3.2	41
24	56695-12	0.64	2535	51	111	1.7	9801	53	3.0	39
25	56695-13	0.51	3198	64	56	0.86	9865	53	3.0	39
26	57995-8	0.76	2872	58	79	1.21	9576	51	3.3	42
27	57995-9	0.88	2921	59	75	1.15	9729	52	3.2	41
28	57995-14	0.73	2642	53	103	1.58	8703	47	3.9	50
29	66295-8	0.51	3132	63	62	0.95	10215	55	2.7	35
30	66295-13	0.63	2889	58	79	1.21	9523	51	3.3	42

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a todas las personas que de alguna u otra forma ayudaron para que esta investigación saliera adelante.

A mis padres y hermanas por su constante apoyo y entera confianza depositada en mi.

Deseo agradecer en forma especial al Dr. Pedro Contreras por haberme brindado su comprensión, apoyo y especial dedicación para el desarrollo de esta investigación.

Deseo agradecer también al Dr. Fernando Wittwer por su gran disposición para ofrecer su ayuda en cualquier momento.

A la Sra. Helga Böhmwald por su enorme disposición para realizar las actividades prácticas de este trabajo.

A la Sra. Carmen Schüller por las facilidades que otorgó para la realización de esta investigación.