

*Revisión***ENFERMEDAD QUÍSTICA OVÁRICA BOVINA****SALVETTI, N. R.^{1,2}; REY, F.^{1,2} & ORTEGA, H. H.^{1,2}****RESUMEN**

La Enfermedad Quística Ovárica (COD) es una importante disfunción ovárica y una de las mayores causas de problemas reproductivos en el ganado lechero. Se caracteriza principalmente por la presencia de anestro lo cual lleva a un alargamiento de los intervalos reproductivos de parto-concepción deseados. Los quistes se desarrollan cuando ocurre una falla en la ovulación y los folículos aumentan de tamaño, más allá del diámetro ovulatorio y persisten en el ovario interrumpiendo los ciclos estrales normales. A pesar de la abundante bibliografía relativa a la enfermedad, aún se desconoce su patogenia. Se acepta que una disrupción en el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal debida a factores endógenos y/o exógenos, podría ser una de las causas de la formación de quistes. A nivel ovárico, cambios celulares y moleculares en el crecimiento folicular podrían contribuir a la anovulación y formación de los quistes. Dentro de estos cambios podrían incluirse los inapropiados niveles de expresión de receptores hormonales ya sea para hormonas esteroides como para las gonadotropinas, alteración en la producción de factores de crecimiento tales como IGF-I y II, FGF, VEGF, etc.

Palabras clave: enfermedad quística ovárica, bovinos, ovario.

SUMMARY**Bovine cystic ovarian disease**

The Cystic Ovarian Disease (COD) is an important ovarian dysfunction and one of the major causes of reproductive problems in the dairy cattle. It is characterized mainly by anestrus which takes to a lengthening of the reproductive intervals of part-conception. The cysts are developed when a flaw happens in the ovulation and the follicles increase in size, beyond the ovulatory diameter and persist in the ovary interrupting the normal estral cycles. In spite of the abundant relative bibliography to the illness, their pathogenia is still unknown. It is accepted that an alteration in the hypothalamo-hypophysial-gonadal axis due to endogenous and/or exogenous factors could be one of the causes of the formation of cysts. At ovarian level, cellular and molecular changes in the follicular growth could contribute to the anovulation and formation of the cysts. Inside these changes, could either be included the inappropriate levels of expression of hormonal receptors for steroids or gonadotrophins hormones, and an alteration in the production of growth factors such as IGF-I and II, FGF and VEGF.

Key words: cystic ovarian disease, cattle, ovary.

1.- Departamento de Ciencias Morfológicas. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. Kreder 2805, (3080) Esperanza, provincia de Santa Fe. Tel.: (03496) 420639. E-mail: salvetti@fcv.unl.edu.ar
2.- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Manuscrito recibido el 18 de octubre de 2007 y aceptado para su publicación el 20 de febrero de 2008.

INTRODUCCIÓN

Los quistes ováricos han sido descriptos en muchas especies de mamíferos domésticos (bovinos, ovinos, caprinos, caninos, roedores) e incluso en el humano. Son frecuentes durante el periodo posparto en el ganado lechero y son una de las principales causas de falla reproductiva y pérdidas económicas, dado que, este síndrome provoca una prolongación de los intervalos parto-primer celo, parto-concepción, y parto-parto.

La incidencia de la enfermedad quística ovárica (Cystic Ovarian Disease: COD) en el ganado de carne es baja, siendo una situación diagnosticada esporádicamente, más frecuente en las razas doble propósito. Eventualmente los quistes ováricos ocurren en vacas o vaquillonas donantes en los programas de transferencia embrionaria, cuando han recibido hormona folículo-estimulante (FSH) o sus análogos, para inducir la superovulación. En ocasiones pueden aparecer quistes en vaquillonas de primer servicio o en hembras preñadas, debido a las características de crecimiento de las ondas foliculares en los bovinos.

DEFINICIÓN

La COD se caracteriza por la presencia de estructuras foliculares de un diámetro mayor al ovulatorio, que permanecen en el tiempo ocasionando trastornos en la funcionalidad ovárica. Los quistes son estructuras dinámicas, descriptos como folículos anovulatorios únicos o múltiples, localizados en uno o ambos ovarios, que tienen un diámetro mayor a 18 mm (mayor al diámetro ovulatorio para la raza), con una persistencia de más de 6 días, en ausencia de tejido luteal, sin tonicidad ovárica y con interrupción de los ciclos estrales normales (Bartolomé *et al.*, 2005).

Sin embargo, esta definición clásica debe ser complementada con el concepto de que los quistes pueden regresar y ser reemplazados por otros; pueden atresarse o luteinizarse e inclusive puede producirse la ovulación en presencia de estas estructuras por lo cual se establece que esta es una enfermedad altamente dinámica (Hamilton *et al.*, 1995; Rutter & Russo, 2000; Silvia *et al.*, 2002; Bartolomé *et al.*, 2005). Pueden producirse quistes únicos o múltiples. En un estudio realizado por Silvia *et al.* (2002), el 47% de las vacas con quistes ováricos tuvieron 2 o más quistes en el momento de la detección. Por consiguiente, ellos consideraron que la condición poliquística es más frecuente en las vacas con quistes incluso que la aparición de ovulaciones múltiples en vacas normales.

INCIDENCIA Y PREVALENCIA

La incidencia de COD en vacas lecheras varía entre el 5% y el 10%, habiéndose hallado proporciones aún mayores (30%) dependiendo del país, el establecimiento y el manejo de los animales (Casida & Chapman, 1951; Kesler & Garverick, 1982; Laporte *et al.*, 1994; Fleisher *et al.*, 2001). No obstante, otros estudios han fallado en establecer la incidencia y/o prevalencia de la enfermedad (López-Díaz & Bosu, 1992). Teniendo en cuenta las definiciones de “incidencia” y “prevalencia” (la incidencia describe el número de nuevos casos que ocurren en una población conocida en un periodo especificado, mientras que la prevalencia representa la fracción de casos existentes en una población en un momento dado y depende de la cantidad de nuevos casos ocurridos por unidad de tiempo y de la duración de la enfermedad; Thrusfield, 1995); la prevalencia no es un parámetro muy utilizado debido a que no es

relevante determinar el número de casos de COD en cierto día de la lactancia. Esto se muestra claramente en un estudio de Heuer *et al.* (1999) donde se observó que el rango intercuartil (10-90 %) de la ocurrencia de COD posparto fue entre 33 y 148 días (n: 1152). Otros autores observaron que el 24 % de los quistes que aparecen en los primeros 39 días posparto regresan espontáneamente (Arbeiter *et al.*, 1990). Youngquist & Braun (1986) plantearon que la recuperación espontánea podría alcanzar el 60 % si la condición se presenta antes de los 30 días posparto. Así, la incidencia real resulta difícil de estimar y se encuentra influenciada por el momento de la realización del primer examen posparto, dependiendo del protocolo de estudio de la fertilidad utilizado (Opsomer *et al.*, 1996).

Asimismo, la incidencia de COD depende de la cantidad de partos. En estudios hechos por Hackett & Batra (1985), (n = 1830), y Fleischer *et al.* (2001), (n = 2197), la incidencia de COD en el periodo lactacional fue de 5,7 % y 7,4 % en vaquillonas, respectivamente, y 18 % y 13,7 % en vacas múltiparas, respectivamente (Hooijer, 2003).

FACTORES PREDISONENTES Y DETERMINANTES EN LA FORMACIÓN DE QUISTES OVÁRICOS

Existen diversos factores que contribuyen al desarrollo de quistes ováricos en rodeos lecheros. Estos pueden clasificarse en factores generales y factores específicos.

Factores Generales

Dentro de este grupo se encuentran factores tales como la herencia, la producción de leche, la edad, momento reproductivo, condición corporal y la estación del año. Existen evidencias de un rol de la herencia en la formación de quistes ováricos. Se ha visto que la enfermedad se presenta con mayor frecuencia en algunas líneas de sangre de

ganado, aunque este fenómeno de herencia es bajo. La alta producción láctea se correlaciona positivamente con el desarrollo de quistes, pero se considera una consecuencia más que una causa (Nanda *et al.*, 1989).

La tasa de quistes ováricos aumenta con la edad y tiene una distribución variable según la estación del año (Kesler *et al.*, 1980; Garverick, 1997). Si bien no se ha demostrado que el fotoperíodo se relacione con el desarrollo de COD, podría actuar como un factor predisponente, dado los antecedentes en otras especies (Salveti *et al.*, 2004; Palomar *et al.*, 2007). La mayor frecuencia de la enfermedad en el puerperio es una expresión evidente de la disfunción endocrina característica de esta fase delicada de la vida reproductiva en la hembra bovina.

La condición corporal de los animales es un factor predisponente importante: las vacas con una condición corporal mayor a 4 (escala de 0 a 5) tienen una frecuencia de 2,5 veces superior de presentación de quistes con respecto a las que poseen una condición corporal menor o igual a 3.

Además, otros factores que contribuyen en la patogénesis de la COD son la involución uterina retardada, los problemas del posparto temprano tales como la fiebre de leche y la retención de placenta (Bosu & Peter, 1987).

FACTORES ESPECÍFICOS

Alimentación: Las raciones ricas en proteínas utilizadas para elevar la producción de leche, asociadas a la falta de ejercicio, podrían ser factores importantes en el desarrollo de la enfermedad. Esta enfermedad es muy común en hembras de alta producción y durante la lactancia temprana. En ese momento, la mayor parte de la energía del animal es destinada hacia la producción de leche y requerimientos de mantenimiento, provocando una mayor vulnerabilidad de la

vaca a disturbios endocrinos. Con respecto a los desbalances metabólicos, se ha sugerido que la resistencia insulínica y la hiperinsulinemia no son factores relacionados a COD en vacas (Opsomer *et al.*, 1999).

El rol de los fitoestrógenos aún no se estableció, sin embargo, muchos investigadores han sugerido que el forraje con alto contenido de componentes estrogénicos podría estar asociado con la COD (Roberts, 1986).

Infecciones uterinas: Durante el período posparto, las hembras bovinas lecheras son susceptibles a una alta variedad de procesos patológicos, incluyendo retención de placenta, endometritis, metritis, hipocalcemia, y anestro posparto. Todas estas condiciones han sido correlacionadas positivamente con la COD (Kesler *et al.*, 1980; Garverick 1997). Se sabe que el eje hipotálamo-hipofisario es menos sensible a los estrógenos en el período posparto y como resultado de esto hay un bloqueo de los ciclos ováricos. El funcionamiento normal de la retroalimentación positiva de los estrógenos es restaurado alrededor de dos semanas posparto en hembras bovinas lecheras.

Siempre se supo que hay una correlación positiva entre las infecciones uterinas y los quistes ováricos (Roberts, 1986) pero es a partir de los trabajos de Bosu & Peter (1987) que se demuestra en forma evidente que las infecciones uterinas posparto causadas por bacterias Gram (-), capaces de sintetizar y liberar endotoxinas, estimulan la liberación de cortisol adrenal suprimiendo de este modo el pico preovulatorio de la Hormona Luteinizante (LH) y consecuentemente conducen a la formación de quistes ováricos foliculares. Las endotoxinas y sus mediadores, tales como las interleuquinas, son responsables de la mayoría de los efectos patógenos. Por otra parte, las interleuquinas son capaces de inducir la liberación de hormona liberadora

de corticotrofina (CRH) del hipotálamo y consecuentemente la adreno-corticotrofina (ACTH) de la hipófisis, lo cual estimula a la glándula adrenal a incrementar la producción de corticoesteroides, e inhibe la formación de receptores de LH en células de la granulosa. Todas estas acciones resultan en un aumento del cortisol, y la supresión del pico preovulatorio de LH. De este modo el efecto de las endotoxinas y sus mediadores puede ser considerado un ejemplo particular de respuesta al estrés (Nakao & Grünert, 1990).

Estrés: Cualquier factor considerado provocador de estrés estimula al eje hipotálamo-hipofisario-adrenal, el cual a su vez modula al eje hipotálamo-hipofisario-gonadal modificando la secreción de gonadotrofinas. El pico preovulatorio de LH es especialmente sensible al efecto inhibitorio de la ACTH y glucocorticoides exógenos en la vaca (Stoebel & Moberg, 1982; Moberg, 1991; Ribadu *et al.*, 2000). Experimentalmente, la inhibición del pico preovulatorio de LH mediante el tratamiento con ACTH, resultó en el desarrollo de quistes ováricos en bovinos (Refsal *et al.*, 1987; Dobson *et al.*, 2000) y ovinos (Cooke & Benhaj, 1989).

Los glucocorticoides son factores claves que afectan al eje hipotálamo-hipofisario-gonadal, y otras hormonas como la ACTH y la CRH juegan solamente un papel secundario (Moberg, 1991). Además de la CRH y los derivados de la proopiomelanocortina (POMC), como la beta endorfina, tienen receptores presentes en la glándula adrenal y las gónadas, y podrían actuar como señales autócrinas y parácrinas en la regulación de la secreción de gonadotrofinas. Se cree que los péptidos opioides endógenos (producidos por la hipófisis y el cerebro) bloquean la onda preovulatoria de LH inducida por los estrógenos y la liberación de Hormona Liberadora de Gonadotrofinas (GnRH)

(Malven, 1986).

La inhibición de la secreción de la LH hipofisaria, consecuencia de la acción fisiológica de los glucocorticoides, podría ser causada por la modificación en la retroalimentación de los esteroides gonadales, dado que los corticoides reducen el efecto estimulante de los estrógenos sobre la secreción de la LH.

ETIOLOGÍA Y PATOGENIA

La patogenia de los quistes es un proceso complejo, con un trastorno plurifuncional de la ovulación, que tiene como base la predisposición hereditaria sumada a causas ambientales (estrés, manejo nutricional, enfermedades infecciosas, y manejo en general). Debido a la gran cantidad de factores involucrados en la formación de quistes ováricos, la causa primaria de la enfermedad no ha sido establecida claramente aún. En el momento en que se diagnostica (anatómica, histológica y clínicamente) se desconocen los procesos que condujeron a su formación y futura regresión-recambio de los quistes.

La hipótesis más aceptada en la actualidad es que el desarrollo de los quistes está principalmente asociado a un desequilibrio neuroendocrino a nivel del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal. Este eje controla todas las funciones reproductivas incluyendo el crecimiento y desarrollo folicular, la ovulación, mantenimiento de la preñez, y comportamiento reproductivo en los vertebrados.

Existe una falla en la ovulación luego de que uno o varios folículos de una onda de crecimiento folicular se desarrollan y superan el tamaño ovulatorio. Con cierta frecuencia, los quistes foliculares son estructuras múltiples. Una causa probable podría postularse sobre la base de que los estrógenos tienen el efecto de inhibir la secreción de FSH cuando están considerablemente elevados. Luego de

tres a cinco días la hembra aparentemente se adapta a la concentración elevada de estrógenos y la concentración de FSH aumenta, estimulando el crecimiento de otros folículos, algunos de los cuales llegarían a alcanzar e incluso superar el tamaño ovulatorio. Esto puede ocurrir en condiciones de COD cuando un único quiste está presente y una nueva onda folicular comienza y un folículo dominante o múltiples folículos dominantes se desarrollan.

Existe concordancia de opiniones sobre la importancia de la alteración en el pico preovulatorio de LH que desencadena la ovulación del folículo dominante de la última onda folicular, como causa final de la formación del quiste. En general se considera que las hembras bovinas con quistes foliculares tienen una secreción basal elevada de LH durante el crecimiento folicular, seguida de una supresión del pico preovulatorio de LH en el momento de la maduración (Hamilton *et al.*, 1995).

Sobre la base de los conocimientos actuales del mecanismo de la ovulación y la respuesta a distintas terapéuticas hormonales, se puede afirmar que cualquier obstáculo en el proceso ovulatorio puede determinar la formación de quistes. En este sentido, las alteraciones en el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal serían fundamentales en la etiopatogenia de la enfermedad, por lo tanto, es de vital importancia la comprensión de los posibles mecanismos involucrados:

DISFUNCIÓN HIPOTÁLAMO-HIPOFISARIA

La hipótesis más aceptada en cuanto a la formación de los quistes incluye la teoría de una disfunción del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal (Liptrap & McNally, 1976; Kesler & Garverick, 1982; Eyestone & Ax, 1984; Bosu & Peter, 1987; López-Díaz & Bosu, 1992; Hamilton *et al.*, 1995;

Garverick, 1997; Zulu & Penny, 1998; Dobson *et al.*, 2000; Ribadu *et al.*, 2000; Peter, 2004).

La naturaleza pulsátil de la secreción de GnRH, que resulta en secreciones pulsátiles de LH, es la señal individual de mayor importancia en el control del sistema reproductivo (Thiéry & Martin, 1991). La GnRH es un decapeptido, sintetizado por las neuronas del centro tónico y pulsátil de GnRH en el hipotálamo. En pocas palabras, la GnRH estimula la liberación de las glucoproteínas gonadotróficas LH y FSH de la porción anterior de la glándula pituitaria. Estas gonado-trofinas estimulan al ovario para que secrete estradiol, el cual ejerce una retroalimentación positiva sobre las neuronas del centro pulsátil del hipotálamo, llevando a la onda preovulatoria de LH.

En la hipótesis que involucra al eje hipotálamo-hipofisario-gonadal, la causa principal de la formación de quistes es una deficiencia en la onda preovulatoria de LH o un patrón de liberación aberrante de esta hormona. Se sabe que no todos los pulsos de GnRH son seguidos por pulsos subsiguientes de LH, y un aumento en la frecuencia de los pulsos de GnRH conduce a una disminución en la amplitud de los pulsos de LH (Clarke & Cummins, 1985). En primates no humanos se ha postulado que la liberación de formas fisiológicamente inactivas de gonadotrofinas liberadas por la hipófisis desarrolla un antagonismo competitivo con formas biológicamente activas para prevenir la ovulación. Una alteración en el proceso de retroalimentación positiva de los estrógenos resulta en una falla o en una inadecuada liberación de GnRH desde el hipotálamo. La respuesta hipofisaria para este evento es una liberación inadecuada o excesiva de LH y/o en un momento inapropiado.

El rol exacto de la LH en el proceso de la enfermedad no está claramente comprendi-

do aún. Recientemente se ha sugerido que una reducción en los pulsos de LH podrían relacionarse con la anovulación (Dobson *et al.*, 2000; Ribadu *et al.*, 2000). Las vacas con quistes y con niveles elevados de estrógenos endógenos fallan en generar un pico de LH en respuesta a una dosis de estradiol exógeno, indicando que estas han perdido la capacidad de responder a la retroalimentación positiva del estradiol sobre el eje hipotálamo-hipofisario (Zaied *et al.*, 1981; Refsal *et al.*, 1988; de Silva & Reeves, 1988). Esto podría deberse a cambios en los niveles de expresión de los receptores hormonales tanto esteroides (receptores de estrógenos, progesterona, andrógenos) como proteicos (LHr, FSHr) a nivel hipotálamo-hipofisario (Odore *et al.*, 1999).

En un estudio realizado por Hamilton *et al.* (1995) se detectó una concentración promedio mayor tanto de LH como de 17β -estradiol circulantes en las vacas con quistes, si se las comparaba con vacas con ciclos normales o con recuperación espontánea, sin registrar un pico preovulatorio de LH en las hembras con quistes. La secreción aumentada de LH en las hembras bovinas con quistes podría estimular un incremento en el 17β -estradiol y este incremento podría causar un aumento en la secreción de LH, creando así un efecto cascada que afectaría la respuesta ovárica a la secreción de LH.

La secreción basal aumentada de LH en vacas con COD puede estar asociada con el contenido elevado de GnRH en el tallo hipofisario-eminencia media, el sitio de liberación de GnRH. La falta del pico preovulatorio de LH en las vacas con quistes podría estar relacionado con el menor contenido de GnRH en el área preóptica-supraquiasmática, y más elevado en el tallo hipofisario-eminencia media, así como una respuesta alterada a la retroalimentación positiva del 17β -estradiol, ya sea a nivel del

hipotálamo o de la hipófisis. Por lo tanto, un incremento anormal en la liberación de LH durante la fase folicular (como resultado del aumento de GnRH en al eminencia media) y la ausencia del pico preovulatorio de LH (disminución de GnRH en el área preóptica-supraquiasmática) podría conducir a la formación de quistes (Vanholder *et al.*, 2006).

Por otro lado, los niveles por intermedios aunque subluteales de progesterona en animales con la enfermedad sugieren que la demora en reanudar la ciclicidad normal podría deberse a la inhibición que ocurre a nivel del eje hipotálamo-hipofisario por la presencia de esta hormona (Hatler *et al.*, 2003).

DISFUNCIÓN OVÁRICA

Aunque muchos estudios han caracterizado la dinámica del crecimiento folicular, la comprensión de los cambios celulares y moleculares que ocurren dentro del folículo ovárico previo al proceso de anovulación es aún escasa. Los cambios celulares pueden presentarse como una producción aberrante de factores de crecimiento por las células de la granulosa (Ortega *et al.*, 2007b, c), alteraciones en las proteínas que componen el citoesqueleto celular, ya sea en cantidad o tipo de proteínas (Salvetti *et al.*, 2003; Ortega *et al.*, 2007a) o por la secreción inapropiada de proteínas de la matriz extracelular (MEC) (Salvetti *et al.*, 2003). Entre las proteínas de la MEC, la vitronectina y la fibronectina podrían tener un rol importante y su producción parecería estar influenciada por el tamaño del folículo (Perrone *et al.*, 1995; Peter *et al.*, 2004). Es necesaria la utilización de modelos animales apropiados que reproduzcan la manera en que los quistes se forman y que permitan un seguimiento del proceso de cigogénesis. Estudios previos llevaron a suponer que las alteraciones en la expresión y cantidad de receptores, tanto de hormonas hipotálamo-hipofisarias como de

hormonas esteroides, podrían ser un factor relacionado con el proceso de anovulación. La caracterización de estos cambios luego de la formación de los quistes puede dificultar la comprensión del mecanismo de la enfermedad, por lo tanto deberían documentarse durante el desarrollo de los quistes. Investigaciones recientes, basados en el contenido de receptores de esteroides en los quistes, sugirieron que la alteración en la expresión de receptores de esteroides, particularmente los de progesterona y estrógenos, podrían estar involucrados en la anovulación. Los cambios en la concentración de los diferentes tipos de receptores de estrógenos en las células que componen el folículo de los animales con COD podrían alterar la relación en receptores de estrógenos α/β , causando modificaciones en la acción o en los efectos de los estrógenos sobre sus células blanco. Debido a que las dos isoformas tienen distinta afinidad por el 17β -estradiol y además existe la posibilidad de entrecruzamiento o formación de heterodímeros, pequeñas modificaciones en la relación podrían causar grandes variaciones en la normal foliculogénesis (Odore *et al.*, 1999; Salvetti *et al.*, 2007). No obstante, se necesitan estudios durante la etapa de formación de los quistes, desarrollados en modelos experimentales de manera de poder aclarar numerosos aspectos de los mecanismos de regulación molecular de estos receptores (Liptrap & McNally, 1976; Peter & Bosu, 1989; Cook *et al.*, 1990; Peter, 2004). Si bien algunos investigadores argumentan en contra de estos modelos postulando que los quistes generados no se asemejan a los ocurridos espontáneamente en el ganado lechero; se sabe que los eventos post-quísticos (dinámica quiste/folículo) de COD inducida experimentalmente (Cook *et al.*, 1990) son similares a los que suceden en quistes espontáneos (Hamilton *et al.*, 1995). Estos modelos ayudaron a compren-

der las alteraciones endocrinas, el destino de los quistes, y claramente demostraron la naturaleza dinámica de los mismos (Cook *et al.*, 1990).

Un evento importante que no ha sido caracterizado aún en las células que componen el folículo ovárico quístico es la expresión de los genes responsables de la proliferación, apoptosis y diferenciación celular, los cuales probablemente estén involucrados en la anovulación y en el proceso de formación y mantenimiento de los quistes. (Peter & Dhanasekaran, 2003). Publicaciones recientes realizadas por Isobe & Yoshimura (2000 a, b) sugieren que el proceso apoptótico puede estar involucrado en el mecanismo de anovulación. Sin embargo, se necesitan estudios más profundos para caracterizar la participación de los genes anti-apoptóticos (es decir, el proceso por el cual las células de la granulosa no sufrirían apoptosis antes de la ovulación, lo que llevaría a la persistencia del folículo) en el proceso de formación del quiste (Homburg & Amsterdam, 1998). Esta hipótesis debería ser validada usando un modelo apropiado (Peter, 2004).

Otras hipótesis involucrarían el mecanismo del estrés, mediante el cual el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal podría afectar la función ovárica (Baravalle *et al.*, 2007). Se ha demostrado que los corticoides tienen la capacidad de alterar la síntesis de esteroides ováricos *in vivo* e *in vitro* y además se han localizado receptores de corticoides en el tejido ovárico.

Se sabe que en células de la granulosa en cultivo, la dexametasona inhibe la actividad aromatasas inducida por la FSH, y recíprocamente los corticoides incrementan la síntesis de progesterona estimulada por la FSH, por la estimulación de la actividad de la 3 β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa (3 β -HSD) (Hsueh & Erickson, 1978; Adashi *et al.*, 1981; Moberg, 1991). En el macho los

corticoides reducen los receptores de LH en las células de Leydig. Se cree que el cortisol liberado en situaciones de estrés podría ser almacenado en el líquido folicular e inducir las alteraciones de la esteroidogénesis y la concentración de receptores de LH, a nivel de la pared folicular lo que contribuiría al desarrollo de los quistes ováricos (Moberg, 1991).

DESTINO DE LOS QUISTES FOLICULARES

Incluso mientras los folículos quísticos están presentes ocurre crecimiento folicular, lo cual es precedido por la iniciación de una onda folicular debido a una elevación transitoria de la concentración plasmática de FSH. La expresión de receptores hormonales en las células de la granulosa de los quistes foliculares ha sido caracterizada y comparada con la de los folículos dominantes (Calder *et al.*, 2001; Salvetti *et al.*, 2007). Los hallazgos sugieren que en bovinos los folículos quísticos dominantes expresan niveles aumentados de ARNm para el receptor de LH y para 3 β -HSD ⁴ y ⁵ isomerasa comparada con los folículos dominantes normales. Tanto en los quistes inducidos como en los espontáneos, a pesar de la singularidad de la morfología ovárica en cada caso, la ocurrencia de ondas foliculares intermitentes se mantiene constante (Wiltbank *et al.*, 2003), si bien su iniciación puede ocurrir en intervalos irregulares y más prolongados comparados con vacas con ciclos estrales normales (Hamilton *et al.*, 1995).

Los quistes foliculares pueden tener distintos destinos a través de mecanismos aún no comprendidos completamente. Cualquiera de ellos puede perder la dominancia y un nuevo folículo dominante puede desarrollarse y ovular, o puede ser reemplazado por otro folículo quístico (Kesler *et al.*, 1980). El perfil de progesterona puede determinar

cuando se producirá el quiste (Silvia *et al.*, 2002; Hatler *et al.*, 2003) ya que en ciertos casos, los folículos quísticos pueden luteinizarse o simplemente persistir como quiste folicular.

Cook *et al.* (1990) realizaron un estudio con el objetivo de determinar la tasa de recambio y destino de los quistes ováricos en vacas lecheras. Para ello, después del diagnóstico de la enfermedad, los ovarios de 23 vacas fueron observados por laparoscopia medio ventral, y los quistes fueron marcados alrededor de la periferia con inyecciones subepiteliales de carbón. Posteriormente, los ovarios fueron removidos en los días 10, 20, y 40, luego de la identificación de los quistes, para evaluar las estructuras presentes en el ovario y relacionarlos con los quistes marcados. Se observaron tres respuestas diferentes entre las vacas en cada uno de los tiempos de la ovariectomía (día 10, 20 o 40 después de la marcación). Para tres vacas el quiste marcado persistió en la duración del período experimental en un tamaño similar o mayor que cuando fue marcado. La mayoría de los quistes (20 de 23) fueron caracterizados por recambio, los quistes se hicieron más pequeños y fueron reemplazados por nuevas estructuras foliculares que ovularon (7 de 23) o se desarrollaron como quistes nuevos en el mismo ovario o en el contralateral (13 de 23). En vacas que ovularon, el quiste previamente marcado disminuyó de tamaño, pero nunca ovuló, la ovulación nueva ocurrió en el mismo ovario o en el contralateral.

En otro ensayo, Hamilton *et al.* (1995), examinando ovarios por ultrasonografía encontraron que los quistes, naturales e inducidos, persistieron por varios períodos, pero además hubo un recambio (los quistes disminuyeron de tamaño, y fueron reemplazados por estructuras foliculares nuevas, que ovularon o se desarrollaron como quistes nuevos). Las ondas de crecimiento folicular

en las vacas con quistes fueron similares en muchos aspectos a las ondas foliculares de las vacas con ciclos normales. Aunque los quistes estaban presentes, se desarrollaron ondas de crecimiento folicular. En los casos de recambio o persistencia, una cohorte de folículos fue reclutada y un folículo fue seleccionado para un desarrollo posterior. Este folículo continuó creciendo por un tiempo y luego regresó, ovuló o bien se transformó en una estructura quística nueva. Sin embargo, los intervalos entre las ondas foliculares fueron más prolongados y más variables en las vacas con quistes que en las vacas sin los mismos ($13 \pm 1,1$, rango 6 a 26 días; *versus* $8,5 \pm 0,5$ días rango 6 a 14 días). Cada onda fue precedida en 1 a 2 días por un aumento transitorio de FSH. La tasa de crecimiento de los folículos quísticos a un tamaño ovulatorio, fue similar a la tasa de crecimiento de los folículos de las vacas con ciclos estrales normales. El crecimiento de los folículos que desarrollaron quistes continuó por otros 5 días.

DINÁMICA FOLICULAR EN LA COD: INTERACCIONES Y PERFILES HORMONALES

Las vacas con COD pueden exhibir ondas de crecimiento folicular a intervalos más prolongados e irregulares con respecto a las vacas con ciclos normales. Dado que los quistes pueden inhibir el desarrollo de otros folículos, sólo folículos de 5 mm o menos pueden existir durante el período de dominancia del quiste. En forma alternativa, un período más prolongado de disminución del soporte de LH, puede ser necesario para inducir la regresión funcional del quiste, que aquel necesario para un folículo dominante o persistente, esto puede resultar en una demora en la iniciación de una onda nueva de crecimiento folicular. Los intervalos desde la detección de una onda foliculo/quística

son más extensos y variables (6 a 26 días), comparados a los intervalos de emergencia de las ondas de crecimiento folicular, en vacas con ciclos estrales normales (6 a 14 días) (Hamilton *et al.*, 1995; Yoshioka *et al.*, 1998; Rutter & Russo, 2000).

Tanto en vacas normales como en vacas con quistes, la concentración de FSH aumenta de 1 a 2 días antes de la emergencia de la nueva onda folicular (Adams *et al.*, 1992; Hamilton *et al.*, 1995). Por el contrario, la concentración basal promedio, y la frecuencia pulsátil de LH es más elevada en vacas con quistes que en vacas normales, y este aumento en la frecuencia pulsátil de LH puede promover la esteroidogénesis folicular, y ser responsable de la concentración mayor de 17β -estradiol en vacas afectadas.

Como principio general, la concentración plasmática de progesterona es baja en sangre y leche en vacas con quistes foliculares, y elevada en vacas con quistes luteales. Las hembras con quistes foliculares pueden sufrir varios grados de luteinización, y aumentar los niveles de progesterona, pero éstos, generalmente, permanecen por debajo de los niveles del diestro de las vacas normales. La concentración plasmática de testosterona en hembras con COD, no registra variaciones con respecto a los niveles durante el ciclo estral normal, a diferencia de lo que ocurre en otras especies.

CLASIFICACIÓN DE LOS QUISTES OVÁRICOS

De acuerdo a las características histológicas y la actividad de 15 enzimas en la pared folicular, Nakama (1976) realizó una clasificación muy completa de los quistes ováricos en vacas y cerdas (López-Díaz & Bosu, 1992), e identificó cuatro categorías (Rutter & Russo, 2000):

Tipo 1: con presencia de las capas de células de las tecas y la granulosa

Tipo 2: con capas de las células de las tecas y la capa de células de la granulosa reducida, atrésica o ausente.

Tipo 3: sólo las capas de las células de las tecas presentes. En la teca interna sólo se observa una capa delgada de la teca externa yuxtapuesta

Tipo 4: sólo capas de las células de la teca presentes y luteinizadas.

Los autores mencionados determinaron la actividad de varias enzimas dentro de las cuales estaban la fosfatasa alcalina, la glucosa-6-fosfato dehidrogenasa, y la 3β -HSD. La 3β -HSD es responsable de la conversión de pregnenolona a progesterona, y de la 17 -dehidroepiandrostenediona a androstenediona, y su actividad es baja en los Tipos 1 y 2, pero aumenta progresivamente en los tipos 3 y 4, y además es responsable del grado de luteinización de la pared del quiste. En base a estos resultados sugirieron que los quistes se transforman del tipo 1 al 4 y que la proporción de quistes con luteinización era mayor cuando estaban ausentes las capas de células de la granulosa.

Los quistes con células de la granulosa sin alteración, mostraban actividad de aromatasas elevada, y una concentración elevada de estrógenos en el líquido folicular del antro. Por el contrario, los quistes sin capa de la granulosa eran aromatasas negativas, y contenían gran cantidad de progesterona. En los quistes de tipo 1 hallaron concentraciones altas de 17β -hidroxiprogesterona, andrógenos y estrógenos, pero niveles bajos de progesterona. El tipo 4, similar al cuerpo lúteo, podría no tener actividad de 17α -hidroxilasa, la cual es responsable de la transformación de la progesterona en 17α -hidroxiprogesterona y posteriormente en androstenediona.

Por lo tanto, el tipo 1 tiene capas de células de la granulosa, actividad aromatasas elevada y es una estructura que produce es-

trógenos. El tipo 4 no posee capas de células de la granulosa, tiene actividad de 3 β -HSD elevada, ausencia de actividad de aromatasas y posible bloqueo de la 17 α -hidroxilasa, y es una estructura que produce progesterona.

Por otra parte, las estructuras quísticas con capas de células de la granulosa (Tipo 1), pueden no constituir una categoría quística única, sino un grupo heterogéneo con diferente capacidad estrogénica y grados diversos de vascularización a nivel del aparato genital (folículos, ovarios, útero).

Según el tipo histológico de quiste (tipo 1 al 4) existe una relación clara en el contenido de esteroides del fluido folicular. Sin embargo, no existe correlación entre la concentración de esteroides del plasma y del fluido folicular. Sólo el quiste luteinizado, que es rico en progesterona de origen folicular, muestra correlación entre el nivel de progesterona plasmática y en el fluido folicular.

Además, la concentración plasmática de 17 β -estradiol es elevada durante la etapa de crecimiento de un quiste y relativamente baja cuando este disminuye de tamaño y es reemplazado por otro/s quiste/s o por folículos dominantes ovulatorios (recuperación espontánea) (Yoshioka *et al.*, 1998).

SIGNOS CLÍNICOS

Los signos clínicos de COD varían y dependen de la extensión de la luteinización del quiste. En la mayoría de los casos (62 a 85 %), las vacas con quistes se encuentran en anestro como resultado de la producción de progesterona por los quistes luteinizados (Day, 1991; Watson & Cliff, 1997). La ninfomanía y los ciclos irregulares son fenómenos menos frecuentes. En su estudio, Watson & Cliff (1997) detectaron COD por anestro (58%) y estro irregular (12%), con diagnóstico de preñez negativa (12%), y en exámenes pre-inseminación (17%). Opsomer *et al.*

(1998), en un estudio sobre disfunciones ováricas en 335 vacas lecheras de alta producción, observaron estructuras quísticas en un 6% de las vacas que mostraban anestro o ciclicidad retrasada. En todos los casos concluyeron que es dificultoso distinguir entre quistes foliculares o luteinizados si no se utiliza ultrasonografía en vacas en anestro (Jeffcoate & Ayliffe, 1995).

La apariencia física de las vacas con quistes ováricos depende además de la duración de la condición. En casos agudos no hay cambios observables, pero en casos crónicos el signo más constante y predominante es la relajación de los ligamentos del cinturón pelviano, la inclinación de la pelvis y la elevación de la raíz de la cola formando la llamada "joroba de esterilidad", cola hueca o cola en sillón. En quistes ováricos crónicos, pueden aparecer signos de virilismo (apariciencia de novillo). Las hembras presentan un comportamiento anormal de estro, con signos frecuentes, irregulares o continuos de estro, condición llamada ninfomanía. Como hemos mencionado, otro signo específico de las hembras con quistes ováricos es el anestro, siendo este el signo de presentación más frecuente en hembras antes de los 60 días posparto. Algunas hembras con ninfomanía, luego presentan signos de anestro o viceversa. Es difícil correlacionar la conducta de las vacas con quistes, con los niveles de esteroides del líquido folicular de estos (Vanholder *et al.*, 2006).

Mediante la exploración, la vulva aparece edematosa y aumentada de tamaño, con descarga de *mucus* opaco de color grisáceo blanquecino. El útero, a la palpación rectal, presenta características de edema, atonía, flaccidez y pared adelgazada. Histológicamente, el endometrio aparece con hiperplasia de la mucosa endometrial, con dilatación quística de las glándulas endometriales. En casos crónicos el útero presenta mucómetra/

hidrómetra y mucocérvix (cervix agrandado con *mucus*). A la exploración vaginal el orificio externo del cervix está generalmente grande, dilatado y relajado.

DIAGNÓSTICO

El tacto rectal, la ultrasonografía, y la determinación de la concentración de progesterona en leche o plasma son herramientas de diagnóstico comunes para diagnosticar COD. El diagnóstico clínico de los quistes, tradicionalmente ha sido basado en la historia reproductiva de la hembra, y en la detección por palpación rectal en el ovario de una estructura de un tamaño mayor a 2,5 cm. de diámetro, lisa y llena de líquido.

Aunque el diagnóstico por palpación rectal y el tratamiento después de un solo examen son convenientes económicamente para el productor, tal diagnóstico puede no ser exacto en todos los casos. Además, el diagnóstico diferencial entre los quistes foliculares y luteínicos es necesario para seleccionar un tratamiento adecuado, pero este procedimiento es dificultoso por palpación rectal aún para clínicos experimentados.

El quiste ovárico debe ser diagnosticado en forma diferencial de adherencias del ovario y estructuras adyacentes, ooforitis, abscesos ováricos, tumor de células de la granulosa y quistes de la fimbria (Rutter & Russo, 2000).

Las mediciones de progesterona en plasma o leche han sido introducidas como herramienta en el diagnóstico hace 30 años. Niveles de progesterona menores a 1 ng/ml están relacionados con la presencia de quistes foliculares (Robertson, 1972; Lamming & Bulman, 1976). La ultrasonografía en tiempo real fue aplicada en la práctica veterinaria en la primera parte de los años 80 y ofrece una nueva herramienta para la detección precoz de preñez (Taverne, 1984). En nuestros días es utilizada en diferentes

especies para evaluar tanto estructuras fisiológicas como patológicas del tracto genital (Kähn, 1992). La evaluación de estructuras ováricas bovinas por ultrasonografía se ha desarrollado extensamente en los últimos 15 años (Pierson & Ginther, 1984; Sirois & Fortune, 1988; Kähn, 1992; García *et al.*, 1999; Hanzen *et al.*, 2000). El diagnóstico por ultrasonografía es más exacto pero no absoluto (Carroll *et al.*, 1990; Farín *et al.*, 1990, 1992). En algunos casos estudiados, quistes con áreas ecogénicas que eran similares a tejido luteal no secretaban progesterona; en otras áreas no ecogénicas semejando quistes foliculares secretaban progesterona (Jeffcoate & Ayliffe, 1995). Se ha estimado una eficiencia del diagnóstico o por ultrasonografía para el 90% de los quistes luteales, y para el 75% de los quistes foliculares (Farín *et al.*, 1990, 1992).

Por otra parte, Opsomer *et al.* (1999), en su estudio sobre la utilización del análisis de progesterona en leche para examinar la actividad ovárica posparto, expresaron que muchas de las así llamadas estructuras quísticas son cuerpos lúteos funcionales. La exactitud de la palpación rectal o la ultrasonografía pueden ser incrementados por la obtención de información sobre la historia reproductiva del animal y por la palpación de los cuernos uterinos, examen vaginal o determinación de progesterona (Hanzen *et al.*, 2000).

BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, G. P.; R. L. MATTERI; J. P. KAS-
TELIC; J. C. KO & O. J. GINTHER.
1992. Association between surges of follicle-
stimulating hormone and the emergence of
follicular waves in heifers. *J Reprod Fertil*
94:177-188.
- ADASHI, E. Y.; P. B. JONES & A. J. HSUEH.

1981. Synergistic effect of glucocorticoids on the stimulation of progesterone production by follicle-stimulating hormone in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 109:1888-1894.
- ARBEITER, K.; S. ASLAN & F. SCHWARZENBERGER.** 1990. Ovarian cysts in cattle-etiology, therapy success, fertility. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 97:380-382.
- BARAVALLE, C.; N. R. SALVETTI; G. A. MIRA; J. A. LORENTE & H. H. ORTEGA.** 2007. Role of ACTH in the pathogenesis of Polycystic Ovarian Syndrome in the rat: hormonal profiles and ovarian morphology. *Physiol Res.* 56: 67-78.
- BARTOLOMÉ, J.A.; W.W. THATCHER; P. MELENDEZ; C.A. RISCO & L.F. ARCHBALD.** 2005. Strategies for the diagnosis and treatment of ovarian cysts in dairy cattle. *JAVMA*, 227: 1409-1415.
- BOSU, W. T. & A. T. PETER.** 1987. Evidence for a role of intrauterine infections in the pathogenesis of cystic ovaries in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 28: 725.
- CALDER, M. D.; M. MANIKKAM; B. E.; SALFEN; R. S.; YOUNGQUIST; D. B. LUBAHN; W. R. LAMBERSON & H. A. GARVERICK.** 2001. Dominant bovine ovarian follicular cysts express increased levels of messenger RNAs for luteinizing hormone receptor and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase delta(4),delta(5) isomerase compared to normal dominant follicles. *Biol Reprod* 65:471-476.
- CARROLL, D. J.; R. A. PIERSON; E. RHAUSER; R. R. GRUMMER & D. K. COMBS.** 1990. Variability of ovarian structures and plasma progesterone profiles in dairy cows with ovarian cysts. *Theriogenology* 34: 349-370.
- CASIDA, L. E. & A. B. CHAPMAN.** 1951. Factors affecting the incidence of cystic ovaries in a herd of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 34: 1200-1205.
- CLARKE, I. J. & J. T. CUMMINS.** 1985. GnRH pulse frequency determines LH pulse amplitude by altering the amount of releasable LH in the pituitary glands of ewes. *J Reprod Fertil* 73:425-431.
- COOK, D. L.; C. A. SMITH; J. R. PARFET; R. S. YOUNGQUIST; E. M. BROWN & H. A. GARVERICK.** 1990. Fate and turnover rate of ovarian follicular cysts in dairy cattle. *J Reprod Fertil* 90:37-46.
- COOKE, R. G. & K. M. BENHAJ.** 1989. Effects of ACTH and cortisol on luteolysis in the ewe. *Animal Reproduction Science* 20: 201.
- DAY, N.** 1991. The diagnosis, differentiation and pathogenesis of COD. *Vet Med* 6: 753-760.
- DE SILVA, M. & J. J. REEVES.** 1988. Hypothalamic-Pituitary function in chronically cystic and regularly cycling dairy cows. *Biol Reprod* 38: 264.
- DOBSON, H.; A. Y. RIBADU; K. M. NOBLE; J. E. TEBBLE & W. R. WARD.** 2000. Ultrasonography and hormone profiles of adrenocorticotrophic hormone (ACTH)-induced persistent ovarian follicles (cysts) in cattle. *J Reprod Fertil* 120: 405-410.
- FARIN, P. W.; R. S. YOUNGQUIST; J. R. PARFET & H. A. GARVERICK.** 1990. Diagnosis of follicular cysts in dairy cows by sector scan ultrasonography. *Theriogenology* 34: 636.
- FARIN, P. W.; R. S. YOUNGQUIST; J. R. PARFET & H. A. GARVERICK.** 1992. Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts by palpation per rectum and linear-array ultrasonography in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 15;200: 1085-1089.
- FLEISCHER, P.; M. METZNER; M. BEYERBACH; M. HOEDEMAKER & W. KLEE** 2001. The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *J Dairy Sci* 84: 2025-2035.
- GARCIA, A.; G. C. VAN DER WEIJDEN; B.**

- COLENBRANDER & M. M. BEVERS.** 1999. Monitoring follicular development in cattle by real-time ultrasonography: a review. *Vet Rec* 18-145: 334-340.
- GARVERICK, H. A.** 1997. Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J Dairy Sci* 80: 995-1004.
- GINTHER, O. J.; L. KNOPF & J. P. KASTE-LIC.** 1989. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J Reprod Fertil* 87: 223-230.
- HACKETT, A. J. & T. R. BATRA.** 1985. The incidence of cystic ovaries in dairy cattle housed in a total confinement system. *Can J Comp Med* 49: 55-57.
- HAMILTON, S. A.; H. A. GARVERICK; D. H. KEISLER; Z. Z. XU; K. LOOS; R. S. YOUNGQUIST & B. E. SALFEN.** 1995. Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biol Reprod* 53: 890-898.
- HANZEN, C.; M. PIETERSE; O. SCENCZI & M. DROST.** 2000. Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per rectum. *Vet J* 159: 161-170.
- HATLER, T.B.; S. H. HAYES; D. A. LARAN-JA; L. F. FONSECA & W. J. SILVIA.** 2003. Relationship between endogenous progesterone and follicular dynamics in lactating dairy cows with ovarian follicular cysts. *Biol Reprod* 69: 218-223.
- HEUER, C.; Y. H. SCHUKKEN & P. DOBBELAAR.** 1999. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *J Dairy Sci* 82: 295-304.
- HOMBURG, R. & A. AMSTERDAM.** 1998. Polycystic ovary syndrome—loss of the apoptotic mechanism in the ovarian follicles? *J Endocrinol Invest* 21: 552-557.
- HOOIJER, G. A.** 2003. Cystic Ovarian Disease. Treatment, Heritability and Epidemiology. Ph D Thesis Edited by: Mello Sevinga, Groningen, Suecia. 141 pp.
- HSUEH, A. J. & G. F. ERICKSON.** 1978. Glucocorticoid inhibition of FSH-induced estrogen production in cultured rat granulosa cells. *Steroids* 32: 639-648.
- ISOBE, N. & Y. YOSHIMURA.** 2000a. Immunocytochemical study of cell proliferation in the cystic ovarian follicles in cows. *Theriogenology* 54: 1159-1169.
- ISOBE, N. & Y. YOSHIMURA.** 2000b. Localization of apoptotic cells in the cystic ovarian follicles of cows: a DNA-end labeling histochemical study. *Theriogenology* 1;53: 897-904.
- JEFFCOATE, I. A. & T. R. AYLIFFE.** 1995. An ultrasonographic study of bovine cystic ovarian disease and its treatment. *Vet Rec* 22; 136: 406-410.
- KÄHN, W.** 1992. Ultrasonography as a diagnostic tool in female reproduction. *Anim Reprod Sci* 28: 1-10.
- KESLER, D. J.; H. A. GARVERICK; A. B. CAUDLE; R. G. ELMORE; R. S. YOUNGQUIST & C. J. BIERSCHWAL.** 1980. Reproductive hormone and ovarian changes in cows with ovarian cysts. *J Dairy Sci* 63: 166-170.
- KESLER, D. J. & H. A. GARVERICK.** 1982. Ovarian cysts in dairy cattle: a review. *J Anim Sci* 55: 1147-1159.
- LAMMING, G. E. & D. C. BULMAN.** 1976. The use of milk progesterone radioimmunoassay in the diagnosis and treatment of subfertility in dairy cows. *Br Vet J* 132: 507-517.
- LAPORTE, H. M.; H. HOGVEEN; Y. H. SCHUKKEN; J. P. T. M. NOORDHUIZEN.** 1994. Cystic ovarian disease in Dutch dairy cattle, I- Incidence, risk-factors and consequences. *Livest Prod Aci* 38: 191-197.
- LIPTRAP, R. W. & P. J. MCNALLY.** 1976.

- Steroid concentrations in cows with corticotrophin-induced cystic ovarian follicles and the effects of prostaglandin F2a and indomethacin given by intrauterine injection. *Am J Vet Res* 37: 369-375.
- LOPEZ-DIAZ, M. C. & W. T. K. BOSU.** 1992. A review and an update of cystic ovarian degeneration in ruminants. *Theriogenology* 37: 1163-1183.
- MALVEN, P. V.** 1986. Inhibition of pituitary LH release resulting from endogenous opioid peptides. *Dom Anim Endocrinol* 3: 135-144.
- MOBERG, G. P.** 1991. How behavioral stress disrupts the endocrine control of reproduction in domestic animals. *J Dairy Sci* 74: 304-311
- NAKAO, T. & E. GRÜNERT.** 1990. Effects of dystocia on postpartum adrenocortical function in dairy cows. *J Dairy Sci* 73: 2801-2806.
- NANDA, A. S.; W. R. WARD & H. DOBSON.** 1989. The relationship between milk yield and cystic ovarian disease in cattle. *Br Vet J* 145: 39-45.
- ODORE, R.; G. RE.; P. BADINO; A. DONN; D. VIGO; B. BIOLATTI & C. GIRARDI.** 1999. Modifications of receptor concentrations for adrenaline, steroid hormones, prostaglandin F2alpha and gonadotropins in hypophysis and ovary of dairy cows with ovarian cysts. *Pharmacol Res* 39: 297-304.
- OPSOMER, G.; P. MIJTEN; M. CORYN & A. DE KRUIF.** 1996. Post-partum anoestrus in dairy cows. *Vet Quart* 18: 68-75.
- OPSOMER, G.; M. CORYN; H. DELUYKER & A. DE KRUIF.** 1998. An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reprod dom anim* 33: 193-204.
- OPSOMER, G.; T. WENSING; H. LAEVENS; M. CORYN & A. DE KRUIF.** 1999. Insulin resistance: the link between metabolic disorders and cystic ovarian disease in high yielding dairy cows? *Anim Reprod Sci* 16, 56:211-222.
- ORTEGA H. H.; N. R. SALVETTI; L. A. MÜLLER; P. AMABLE; J. A LORENTE; C. G. BARBEITO & E. J. GIMENO.** 2007a. Characterization of cytoskeletal proteins in follicular structures of cows with Cystic Ovarian Disease. *J Comp Pathol.* 136: 222-230.
- ORTEGA H. H.; P. AMABLE; N. R. SALVETTI; B. E. DALLARD; C. BARAVALLE; C. G. BARBEITO & E. J. GIMENO.** 2007b. Intraovarian localization of growth factors in induced cystic ovaries in rats. *Anat Histol Emryol.* 36: 94-102.
- ORTEGA H. H.; M. M. PALOMAR; J. C. ACOSTA; N. R. SALVETTI; B. E. DALLARD; J. A LORENTE; C. G. BARBEITO & E. J. GIMENO.** 2007c. Insulin-like growth factor I in ovarian follicles and follicular fluid from cows with spontaneous and induced Cystic Ovarian Disease. *Res Vet Sci.* En prensa.
- PALOMAR M. M.; J. C. ACOSTA; N. R. SALVETTI; L. A. MÜLLER; A. F. TABOADA; R. A. MANZINI; ORTEGA H. H.** 2007. Valoración de la exposición a luz permanente como modelo de enfermedad quística ovárica (COD) en bovinos. *Rev Med Vet* 87: 223-226.
- PERRONE, M. S.; A. T. PETER & E. K. ASEM.** 1995. Fibronectins: role in reproduction and future applications. *Assist Reprod Technol Androl.* 7: 103:125.
- PETER, A. T.** 2004. An update on cystic ovarian degeneration in cattle. *Reprod Domest Anim* 39:1-7.
- PETER, A.T. & W. T. K. BOSU.** 1989. Cystic ovarian follicles in a Simmental heifer: response to ovarioectomy and hormonal therapy. *Agricol Pract* 10: 7-11.
- PETER, A.T. & N. DHANASEKARAN.** 2003. Apoptosis of granulosa cells: a review on the role of MAPK-signalling modules. *Reprod*

- Domest Anim 38: 209-213.
- PETER, A. T.; M. S. PERRONE & E. K. ASEM.** 1995. Bovine Ovarian Follicular fluid vitronectin content is influenced by follicle size. *Theriogenology* 43: 1239-1247.
- PIERSON, R. A. & O. J. GINTHER.** 1984. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology* 21: 495-504.
- REFSAL, K. R.; J. H. JARRIN-MALDONADO; R. F. NACHREINER.** 1988. Basal and estradiol-induced release of gonadotropins in dairy cows with naturally occurring ovarian cysts. *Theriogenology* 30: 679.
- REFSAL, K. R.; J. H. JARVIN-MALDANO & R. F. NACHREINER.** 1987. Endocrine profiles in cows with ovarian cysts experimentally induced by treatment with exogenous estradiol or adrenocorticotrophic hormone. *Theriogenology* 28: 871-889.
- RIBADU, A. Y.; K. NAKADA; M. MORIYOSHI; W. C. ZHANG; Y. TANAKA & T. NAKAO.** 2000. The role of LH pulse frequency in ACTH-induced ovarian follicular cysts in heifers. *Anim Reprod Sci* 64:21-31.
- ROBERTS, S. J.** 1986. Hormonal disturbances resulting in infertility: cystic ovaries. In: S.J. Roberts Ed. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*, 3rd Ed., Woodstock, Vt, pp. 478-514.
- ROBERTSON, H. A.** 1972. Sequential changes in plasma progesterone in the cow during the oestrus cycle, pregnancy, at parturition and post-partum. *Can J Anim Sci* 52: 645-658.
- RUTTER, B. & A. F. RUSSO.** 2000. Enfoques sobre la Dinámica, el Diagnóstico y el Tratamiento de los quistes ováricos en el Bovino. Centro Editor Dr. Edgardo Segismundo Allignani, Santa Fe, Argentina, pp. 37.
- SALVETTI, N. R.; A. M. CANAL; E. J. GIMENO & H. H. ORTEGA.** 2003. Histochemical study of the extracellular matrix components in the follicular wall of induced polycystic ovaries. *Braz J Morphol Sci.* 20: 93-100.
- SALVETTI, N. R.; E. J. GIMENO; J. A. LORENTE & H. H. ORTEGA.** 2004. Expression of cytoskeletal proteins in the follicular wall of induced ovarian cysts. *Cells Tissues and Organs* 178: 117-125.
- SALVETTI N. R.; L. A. MULLER; J. C. ACOSTA; J. E. GIMENO & H. H. ORTEGA.** 2007. Estrogen Receptors α and β and Progesterone Receptors in Ovarian Follicles of Cows with Cystic Ovarian Disease. *Veterinary Pathology* 44: 373-378.
- SILVIA, W. J.; T. B. HATLER; A. M. NUGENT; D. A. LARANJA & L. F. FONSECA.** 2002. Ovarian follicular cysts in dairy cows: an abnormality in folliculogenesis. *Domest Anim Endocrinol* 23:167-177.
- SIROIS, J. & J. E. FORTUNE.** 1988. Ovarian follicular dynamics during estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol Reprod* 39: 308-317.
- STOEBEL, D. P. & G. P. MOBERG.** 1982. Effect of adrenocorticotrophin and cortisol on luteinizing hormone surge and estrous behavior of cows. *J Dairy Sci* 65: 1016-1024.
- TAVERNE, M. A.** 1984. The use of linear-array real-time echography in veterinary obstetrics and gynecology. *Tijdschr Diergeneeskd* 15; 109: 494-506.
- THIERY, J. C. & G. B. MARTIN.** 1991. Neurophysiological control of the secretion of gonadotrophin-releasing hormone and luteinizing hormone in the sheep—a review. *Reprod Fertil* 3: 137-173.
- VANHOLDER T.; G. OPSOMER & A. DE KRUIF.** 2006. Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *Reprod Nutr Develop* 46:105-119.
- WATSON, C. L. & A. J. A. CLIFF.** 1997. Survey of cystic ovarian disease in practice. *Bov Pract* 31: 15-18.
- WILTBANK, M. C.; A. GUMEN & R. SARTORI.** 2003. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57: 21-52.
- YOSHIOKA, K.; S. IWAMURA & H. KAMO-**

MAE. 1998. Changes of ovarian structures, plasma LH, FSH, progesterone and estradiol-17 beta in a cow with ovarian cysts showing spontaneous recovery and relapse. *J Vet Med Sci* 60: 257-260.

YOUNGQUIST, R. S. & W. F. BRAUN JR. 1986. Management of infertility in the cow. *J Am Vet Med Assoc* 189: 411-414.

ZAIED, A. A.; H. A. GARVERICK; D. J. KESLER; C. J. BIERSCHWAL; R. J. ELMORE & R. S. YOUNGQUIST. 1981. Luteinizing hormone response to estradiol benzoate in cows with ovarian cyst. *Theriogenology* 16: 349.

ZULU, V. C. & C. PENNY. 1998. Risk factors of cystic ovarian disease in dairy cattle. *J Reprod Physiol* 44: 191-195.