

Incidencia de patologías uterinas y fertilidad de vacas Holstein tratadas con selenio y vitamina E antes y después del parto

Alonso Ruiz Juárez*, Carlos F. Aréchiga Flores**, Salvador Morales Roura*
Oscar Ortiz González*, Carlos G. Gutiérrez*, Joel Hernández Cerón*



ABSTRACT

An antioxidant therapy based on vitamin E and selenium subcutaneous (sc) injections administered prior to and after parturition, was evaluated by measuring the incidence of uterine pathologies and fertility in lactating Holstein cows. Cows ($n = 353$) were randomly distributed into three groups: Group pre-postpartum ($n = 122$), cows received a sc injection of 50 mg Se and 680 IU vitamin E (10 ml of Mu-Se) on 60 and 21 days prepartum and 30 and 90 days postpartum; Group prepartum ($n = 117$) received a sc injection 21 days prior to parturition; control Group ($n = 114$), cows received sc injections of saline solution (SS, 10 ml) on 60 and 21 days prepartum and 30

and 90 days postpartum. Incidence of retained fetal membranes (RFM) in control Group (20.1%) was similar ($P > 0.05$) to prepartum Group (12.8%), but it differed ($P < 0.05$) from pre-postpartum Group (6.5%). The percentage of cows with haemorrhagic metritis (HM) was similar among groups (8.7%; $P > 0.05$). Proportion of cows with purulent metritis (PM) in control Group (37.7%) was similar ($P > 0.05$) to prepartum Group (33.3%), but reduced ($P < 0.05$) in pre-postpartum Group (23.7%). The global proportion of cows showing any of the evaluated pathologies was similar ($P > 0.05$) for control groups (44.7%) and prepartum Group (40.1%) but lower ($P < 0.05$) for pre-postpartum Group (27%). Pregnancy rate at 150 days postpartum (PP) was greater ($P < 0.08$) for pre-postpartum Group (70%) than control Group (58.9%). In conclusion, an antioxidant therapy based on vitamin E and selenium administration, 60 and 21 days prior to parturition and 30 and 90 days after parturition, reduces the incidence of uterine pathologies and improves pregnancy rate at 150 days postpartum in Holstein cows. Key words: Selenium, vitamin e, metritis, fertility, dairy cattle.

* Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F., Tel.: 5622-5860, fax: 5622-5935, correo electrónico: jhc@servidor.unam.mx

** Departamento de Reproducción, Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Zacatecas, Carretera Panamericana Fresnillo-Zacatecas, km 31.5, Apartado postal 9 y 11, C.P. 98500, Calera de Víctor Rosales, Zacatecas, Zacatecas, México.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de una terapia antioxidante basada en inyecciones de selenio y vitamina E, administradas antes y después del parto, en la incidencia de patologías uterinas y fertilidad en vacas Holstein. Se utilizaron 353 vacas, las cuales se asignaron al azar a tres grupos: Grupo pre-posparto (n = 122), las vacas recibieron una inyección sc de 50 mg de selenio y 680 UI de vitamina E (10 ml de Mu-Se) los días 60 y 21 preparto y 30 y 90 posparto; Grupo preparto (n = 117), las vacas recibieron una inyección similar al grupo anterior 21 días antes del parto; Grupo testigo (n = 114), los animales recibieron una inyección subcutánea de 10 ml de solución salina fisiológica los días 60 y 21 preparto, y 30 y 90 posparto. La incidencia de retención placentaria en el Grupo testigo (20.1%) fue similar ($P > 0.05$) al Grupo preparto (12.8%), pero difirió ($P < 0.05$) del Grupo pre-posparto (6.5%). La proporción de vacas con metritis hemorrágica fue similar entre grupos (8.7%; $P > 0.05$). El porcentaje de vacas con metritis purulenta en el Grupo testigo (37.7%) fue igual ($P > 0.05$) al Grupo preparto (33.3%), pero se redujo ($P < 0.05$) en el Grupo pre-posparto (23.7%).

La proporción global de vacas con cualquiera de las patologías evaluadas fue similar ($P > 0.05$) entre las vacas de los grupos testigo (44.7%) y preparto (40.1%), pero fue menor ($P < 0.05$) en el Grupo pre-posparto (27%). El Grupo pre-posparto tuvo mayor ($P < 0.08$) tasa de gestación (70%) a los 150 días posparto que el testigo (58.9%). Se concluye que la administración de selenio y vitamina E los días 60 y 21 antes del parto y 30 y 90 posparto, reduce las patologías uterinas y mejora la tasa de gestación al día 150 posparto en vacas Holstein.

Palabras clave: Selenio, vitamina E, metritis, fertilidad, ganado lechero.

INTRODUCCIÓN

En condiciones fisiológicas, alrededor de 2% del oxígeno utilizado en el metabolismo animal se convierte en especies reactivas de oxígeno.¹ Estas moléculas son removidas por varios sistemas bioquímicos presentes en las células y en los fluidos extracelulares. La producción excesiva de moléculas oxidantes y la deficiencia de sustancias antioxidantes conduce a su acumulación y al daño celular.² En los sistemas antioxidantes se encuentran el selenio y la vitamina E. El primero forma parte de la enzima glutatión peroxidasa (GSHPx), que se encarga de convertir peróxidos en agua, para evitar daños en las membranas celulares.^{3,4} La vitamina E (α -tocoferol) es el principal antioxidante presente en las membranas celulares y mantiene la integridad de los fosfolípidos en contra del daño oxidativo y la peroxidación.⁵ La acumulación de especies reactivas de oxígeno puede ser causa de infertilidad pues pueden afectar la síntesis de hormonas esteroides,⁶ la tasa de fertilización⁷ y la calidad y el desarrollo temprano del embrión.^{8,9}

La administración parenteral de selenio y vitamina E se ha utilizado para tratar de disminuir los problemas reproductivos posparto y mejorar la fertilidad. Así, se ha observado que el tratamiento con selenio (50 mg) y vitamina E (680 UI) 21 días antes del parto, reduce la incidencia de retención placentaria e incrementa la fertilidad^{10,11}. Asimismo, la administración de un tratamiento similar al día 30 posparto mejora la tasa de fertilidad¹². En otros estudios no se ha observado ningún efecto favorable con tratamientos similares¹³⁻¹⁵. La respuesta a los tratamientos parenterales de selenio y vitamina E puede obedecer al contenido de selenio y vitamina E en la dieta y al grado de estrés oxidativo de las vacas incluidas en esos estudios, que depende principalmente de su capacidad de producción de leche. En los últimos 30 años la producción de leche se ha duplicado y con ello los requerimientos de antioxidantes¹⁶. Además, la dieta ofrecida a las vacas lecheras puede ser deficiente en selenio, ya que en un estudio realizado en el altiplano de México se encontró que tanto el alimento como el suelo son deficientes en este elemento¹⁷. No obstante que se aportan diferentes antioxidantes en la dieta, la vía parenteral es una estrategia práctica de protección contra el estrés oxidativo^{11,12}. El objetivo de este trabajo fue determinar si el tratamiento antioxidante basado en inyecciones de selenio y vitamina E administradas antes y después del parto, disminuyen la incidencia de patologías uterinas y mejoran la fertilidad de vacas Holstein.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

El estudio se realizó en una explotación lechera ubicada en el municipio del Marqués, Querétaro, México. El clima se considera semiseco-templado, con lluvias en verano¹⁸. El establo cuenta con 700 vacas en producción, los animales son ordeñados dos veces al día, y su promedio de producción fue de 9 815 kg de leche durante 305 días de lactancia. Se utilizaron 353 vacas gestantes de la raza Holstein (de dos a cinco partos). Los animales se seleccionaron 60 días antes de la fecha esperada de parto. En el hato no se tenían antecedentes de deficiencia de selenio. La dieta durante el periodo preparto y posparto fue formulada para proporcionar 0.3 ppm de selenio y 1 000 UI de vitamina E por vaca al día, de acuerdo con los requerimientos del National Research Council¹⁹. El alimento fue ofrecido en forma integral y a libre acceso.

Las vacas fueron asignadas aleatoriamente en tres grupos, que recibieron los siguientes tratamientos:

a) en el Grupo pre-posparto las vacas recibieron una inyección subcutánea de 10 ml de Mu-Se* equivalente a 109.5 mg de selenito de sodio (50 mg de selenio) y 680 UI de acetato de α -tocoferol, los días 60 y 21 antes de la fecha probable de parto, y 30 y 90 días posparto; la dosis se determinó de acuerdo con lo recomendado por el laboratorio para vacas adultas y que ha sido validada en otros

Cuadro 1

Incidencia de retención de membranas fetales (RMF), Metritis Hemorrágica (MH), Metritis Purulenta (MP) y Puerperio Anormal (PA) en vacas Holstein tratadas con selenio y vitamina E los días 21, 60 preparto y 30, 90 posparto (grupo pre-posparto) y 21 días preparto (Grupo preparto) y testigos

Grupos	n	RMF %	HM %	PM %	AP %
Pre-postpartum	122	6.5 ^b	8.2 ^a	23.7 ^b	27.0 ^b
Prepartum	117	12.8 ^{ab}	11.9 ^a	33.3 ^{ab}	40.1 ^a
Control	114	20.1 ^a	8.7 ^a	37.7 ^a	44.7 ^a

Diferentes letras en la misma columna indica diferencia estadística (P < 0.05).

estudios^{11,12}; b) en el Grupo preparto las vacas recibieron una sola inyección subcutánea de 10 ml de Mu-Se, 21 días antes de la fecha probable de parto; c) en el Grupo testigo los animales recibieron una inyección subcutánea de 10 ml de solución salina fisiológica los días -60, -21, 30 y 90.

Se realizó una revisión uterina por medio de palpación rectal el día siete posparto y se diagnosticaron las siguientes patologías de acuerdo con lo descrito por Zemjanis²⁰:

a) Retención de membranas fetales (RMF), cuando las membranas fetales no fueron expulsadas en las primeras 12 h después del parto; b) metritis hemorrágica (MH), cuando se observó exudado uterino de color café sangui-nolento, consistencia líquida y olor fétido; c) metritis purulenta (MP), cuando había exudado uterino purulento, consistencia viscosa y coloración de blanquecina a amarillenta; d) puerperio anormal (PA), todas las vacas que presentaron cualquiera de las tres alteraciones: retención placentaria, metritis hemorrágica y metritis purulenta.

Las vacas que presentaron cualquiera de estas patologías (RMF, MH, MP) recibieron como tratamiento una infusión intrauterina de 50 ml de oxitetraciclina al 5% (2.5 g de oxitetraciclina), y posteriormente se revisaron cada semana hasta la desaparición del problema.

A partir del día 50 posparto, las vacas fueron observadas por un trabajador durante todo el día, para detectar la conducta estral. La inseminación artificial se realizó casi 12 h después del inicio del estro. Se utilizó semen de toros Holstein-Fresian con alta fertilidad. El diagnóstico de gestación se realizó mediante palpación rectal entre los días 45 a 60 después del servicio.

Análisis estadístico

La incidencia de retención de membranas fetales, metritis hemorrágica, metritis purulenta y puerperio anormal se analizó por medio de una prueba de Ji-cuadrada. La diferencia en la proporción de vacas gestantes durante los primeros 150 días posparto se evaluó por análisis de sobrevivencia²¹.

RESULTADOS

La incidencia de patologías uterinas se muestra en el Cuadro 1. La proporción de vacas con retención de mem-

branas fetales en el Grupo testigo (20.1%) fue similar (P > 0.05) al Grupo preparto (12.8%), mientras que en el Grupo pre-posparto se redujo (6.5%; P < 0.05). La proporción de vacas con puerperio anormal fue menor (P < 0.05) en el Grupo pre-posparto (27%) que en los grupos preparto (40.1%) y testigo (44.7%).

El Grupo pre-posparto mostró mayor tasa de gestación que el Grupo testigo (P < 0.08). Así, 70% de las vacas del Grupo pre-posparto se encontraba gestante al día 150 posparto, comparado con 58.9% del Grupo testigo.

DISCUSIÓN

El tratamiento con selenio y vitamina E los días 60 y 21 antes del parto y 30 y 90 posparto, redujo la incidencia de retención de membranas fetales y de metritis purulenta, y aumentó la proporción de vacas gestantes al día 150 posparto.

La etiología de la retención de membranas fetales en la vaca es multifactorial; están involucrados factores de naturaleza infecciosa, metabólica y nutricional²². El mecanismo por el cual la administración de selenio y vitamina E favorece la expulsión de membranas fetales después del parto no está completamente establecido. Se sabe que la retención de membranas fetales es una de las manifestaciones clínicas cuando existe deficiencia de selenio²³. Asimismo, la retención placentaria está relacionada con un desbalance entre la producción y neutralización de las especies reactivas de oxígeno^{24,25}. Se ha observado que los niveles de GSHPx en los placentomas de vacas con retención de membranas fetales son menores que en las vacas que eliminan normalmente la placenta^{26,27}. También se ha encontrado que el selenio y la vitamina E favorecen la eliminación de la placenta a través del efecto que tienen en la actividad de los leucocitos, ya que el selenio y la vitamina E favorecen su función y su migración^{28,29}. Además, los leucocitos son fuente importante de colagenasa²¹ y la actividad de esta enzima se encuentra reducida en vacas con retención de membranas fetales^{30,31}. Así, el aumento de la actividad de la colagenasa favorecería el proceso de expulsión de la placenta después del parto²².

La disminución de los casos de metritis purulenta se

puede explicar, en parte, debido a que la retención de membranas fetales aumenta el riesgo de padecer esta afección,³² por lo que al disminuir la incidencia de dicha retención, se esperaría menor incidencia de metritis. Adicionalmente, el tratamiento con selenio y vitamina E ayudó a reducir los casos de metritis purulenta a través de su influencia en la capacidad de respuesta del útero a las infecciones. Se sabe que la deficiencia de selenio en el ganado lechero reduce la resistencia a las infecciones en general,^{33,34} mientras que la complementación con este antioxidante incrementa la migración y la actividad de los leucocitos²⁹.

El número de vacas gestantes al día 150 posparto fue mayor en el grupo que recibió cuatro inyecciones secuenciales de selenio y vitamina E, que en el Grupo testigo. Existe evidencia de que la complementación con selenio y vitamina E el día 30 posparto incrementa los porcentajes de concepción en ganado lechero¹².

El efecto favorable del selenio y la vitamina E en la fertilidad puede ocurrir a diferentes niveles. Por un lado, la disminución de patologías uterinas posparto influye en el mejoramiento del ambiente uterino, lo cual favorece el desarrollo embrionario temprano³⁵. Las inyecciones de selenio y vitamina E aplicadas los días 30 y 90 posparto favorecen la tasa de fertilización, ya que estas sustancias incrementan el transporte espermático^{7,36}; por otro, los embriones durante las etapas tempranas de desarrollo son sensibles al estrés oxidativo³⁷⁻³⁹. En estudios *in vitro* se ha observado que los embriones bajo estrés oxidativo sufren un retraso en su desarrollo^{8,38}. Así, el tratamiento con selenio y vitamina E posparto pudo favorecer la supervivencia embrionaria al evitar daños por exceso de sustancias oxidantes presentes en el ambiente uterino. Existe evidencia de que una terapia antioxidante similar a la evaluada en este estudio, basada en la administración de vitamina E y selenio antes y después del parto (-21, 0, 30, 60, 120 días) en vacas Holstein superovuladas, incrementa la calidad y el desarrollo de los embriones recolectados el día siete posterior a la inseminación⁹. Los resultados en fertilidad observados aquí contrastan con los obtenidos por Paula-Lopes *et al.*¹⁵, quienes no encontraron ningún efecto con un tratamiento basado en inyección de selenio y vitamina E, 21 días antes del parto, y dos inyecciones los días 30 y 80 posparto. Posiblemente la variación en los resultados entre estudios obedece a diferencias en las condiciones del clima, el grado de estrés oxidativo^{40,41}, y el contenido de selenio y vitamina E en la dieta.

Por otra parte, el selenio es esencial para la función de la tiroides, como antioxidante en las células de la glándula o como regulador de la producción de la T3, además forma parte de al menos 30 proteínas, por lo cual sus efectos en la reproducción podrían ser mediados por diferentes mecanismos, muchos de ellos desconocidos.⁴²

Los resultados obtenidos en el Grupo pre-posparto contrastan con los obtenidos en el Grupo preparto, en el cual una sola inyección de selenio y vitamina E 21 días antes

del parto no tuvo efecto en la incidencia de patologías uterinas ni en la fertilidad. Estos resultados difieren de estudios previos realizados en las décadas de 1980 y 1990, en los que un tratamiento similar antes del parto redujo la incidencia de retención placentaria y metritis,^{10,11,43-45} y una inyección el día 30 posparto mejoró la fertilidad¹². La falta del efecto positivo de una sola inyección de selenio y vitamina E se debe a que esta dosis resulta insuficiente para cubrir las demandas de antioxidantes de las vacas incluidas en el estudio, lo cual contrasta con el efecto positivo cuando las vacas recibieron dos inyecciones antes y dos después del parto. El metabolismo oxidativo es mayor en las vacas altas productoras debido al elevado consumo de energía metabolizable necesario para la síntesis y secreción de la leche, así como para su mantenimiento⁴⁶. El presente estudio se realizó en un hato integrado por vacas altas productoras, las cuales recibieron sus requerimientos de selenio y vitamina E en la dieta de acuerdo con lo señalado por el NRC¹⁹. El efecto favorable con cuatro inyecciones de selenio y vitamina E y la falta de efecto con una sola inyección, indica que hay diferencias en las necesidades de antioxidantes de las vacas actuales, que tienen mayores niveles de producción. El tratamiento antes del parto con una sola inyección de selenio y vitamina E se ha utilizado en los últimos 15 años como tratamiento de rutina; sin embargo, los resultados de este estudio indican que se deben investigar nuevos protocolos para su administración parenteral.

Los resultados de este estudio permiten concluir que la administración de selenio y vitamina E, los días 60 y 21 antes del parto y 30 y 90 posparto, reduce la incidencia de patologías uterinas y mejora la tasa de gestación al día 150 posparto en vacas Holstein.

Agradecimientos

Los autores agradecen al propietario del Rancho Loma Linda (Querétaro, México) su apoyo, y a Intervet Schering-Plough Animal Health, la donación del Mu-Se.

REFERENCIAS

LOPACZYNSKI W, ZEISEL SH. Antioxidants, programmed cell death, and cancer. *Nutr Res* 2001;21:295-307.

BERRY EM, KOHEN R. Is the biological antioxidant system integrated and regulated? *Med Hypotheses* 1999;53:397-401.

BURK RF, HILL KE. Regulation of selenoproteins. *Annu Rev Nutr* 1993;13:65-81.

MACPHERSON A. Selenium, vitamin E and biological oxidation. In: GARNOWORTHY PC, COLE DJA, editors. *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham UK: Nottingham University Press, 1994:3-30.

WANG X, QUINN PJ. The location and function of vitamin E in membranes (review). *Mol Membr Biol* 2000; 17:143-156.

YOUNG FM, LUDERER WB, RODGER RJ. The antioxidant α -carotene prevents covalent cross-linking between cholesterol side-chain cleavage cytochrome P450 and its electron donor, adrenodoxin, in bovine luteal cells. *Mol Cell Endocrinol* 1995;109:113-118.

SEGERSON EC JR, MURRAY FA, MOXON AL, REDMAN DR,

- CONRAD HR. Selenium/vitamin E: role in fertilization of bovine ova. *J Dairy Sci* 1977; 60:1001-1005.
- FUJITANI Y, KASAI K, OHTANI S, NISHIMURA K, YAMADA M, UTSUMI K. Effect of oxygen concentration and free radicals on *in vitro* development of *in vitro* produced bovine embryos. *J Anim Sci* 1997; 75:483.
- MARTÍN CASTAÑEDA G. Efecto de la aplicación subcutánea de vitamina E y selenio en vacas Holstein superovuladas sobre el desarrollo y la calidad de los embriones recolectados vía transcervical (tesis de maestría). Zacatecas (Zacatecas) México: Universidad Autónoma de Zacatecas, 2005.
- HARRISON JH, HANCOCK DD, CONRAD HR. Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J Dairy Sci* 1984; 67:123-132.
- ARECHIGA CF, ORTIZ O, HANSEN PJ. Effect of prepartum injection of vitamin E and selenium on postpartum reproductive function of dairy cattle. *Theriogenology* 1994; 41:1251-1258.
- ARECHIGA CF, VAZQUEZ-FLORES S, ORTIZ O, HERNANDEZ CJ, PORRAS A, MCDOWELL LR *et al.* Effect of injection of α -carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology* 1998; 50:65-76.
- SCHINGOETHE DJ, KIRKBRIDE CA, PALMER IS, OWENS MJ, TUCKER L. Response of cows consuming adequate selenium to vitamin E and selenium supplementation prepartum. *J Dairy Sci* 1982; 65:2338-2344.
- ISHAK MA, LARSON LL, OWEN FG, LOWRY WR, ERICKSON ED. Effects of selenium, vitamins, and ration fibre on placental retention and performance of dairy cattle. *J Dairy Sci* 1983; 66:99-106.
- PAULA-LOPES FF, AL-KATANANI YM, MAJEWSKI AC, MCDOWELL LR, HANSEN PJ. Manipulation of antioxidant status fails to improve fertility of lactating cows or survival of heat-shocked embryos. *J Dairy Sci* 86:2343-2351.
- ALLISON RD, LAVEN RA. Effect of vitamin E supplementation on the health and fertility of dairy cows: a review. *Vet Rec* 2000; 147:703-708.
- ROSILES MR, AGUILAR AMA, RAMÍREZ LJ. Deficiencia de selenio en un hato de bovinos que sufren del síndrome de mal de altura de Ixtlahuaca, Estado de México. *Vet Méx* 1997; 28:55-57.
- GARCÍA E. Modificación al sistema de clasificación climática de Köpen. 4ª ed. México DF: Instituto de Geografía-UNAM, 1987.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements of dairy cattle. Washington DC: National Academy Press, 2001.
- ZEMJANIS R. Reproducción animal: diagnóstico y técnicas terapéuticas. México DF: Ed. Limusa, 1975.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. In: SAS/STAT user's guide. Release 6.03. Cary, NC: SAS Institute Inc., 1988.
- EILER H. Retained placenta. In: YOUNGQUIST RS, editor. Current Therapy in Large Animal. *Theriogenology*. Philadelphia USA: WB Saunders Company, 1997:340-348.
- JULIEN WE, CONRAD HR. Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. *J Dairy Sci* 1976; 59:1954-1959.
- MILLER JK, BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA E, MADSEN FC. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J Dairy Sci* 1993; 76:2812-2823.
- KANKOFER M. Non-enzymatic antioxidative defense mechanisms against reactive oxygen species in bovine retained and non-retained placenta: vitamin C and glutathione. *Reprod Dom Anim* 2001; 36:203-206.
- KANKOFER M. Antioxidative defense mechanisms in bovine placenta and their importance for placental release. *Reprod Dom Anim* 2000; 35:229-233.
- BRZEZIŃSKA-SLEBODZINSKA E, MILLER JK, QUIGLEY JD, MOORE JR. Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin E and selenium. *J Dairy Sci* 1994; 77:3087-3095.
- EICHER SD, MORRILL JL, BLECHA F. Vitamin concentration and function of leukocytes from dairy calves supplemented with vitamin A, vitamin E, and α -carotene *in vitro*. *J Dairy Sci* 1994; 77:560-565.
- NDIWENI N, FINCH JM. Effects of *in vitro* supplementation with α -tocopherol and selenium on bovine neutrophil functions: implications for resistance to mastitis. *Vet Immunol Immunopathol* 1996; 51:67-78.
- HEUWIESER W, GRUNERT E. Significance of chemotactic activity for placental expulsion in cattle. *Theriogenology* 1987; 27:907-912.
- GILBERT RO, GRÖHN YT, GUARD CL, SURMAN V. Impaired post-partum neutrophil function in cows which retain fetal membranes. *Res Vet* 1993; 55:15-19.
- GRÖHN YT, ERB HN, MCCULLOCH CE, SALONIEMI HS. Epidemiology of reproductive disorders in dairy cattle: associations among host characteristics, disease and production. *Prev Vet Med* 1990; 8:25-39.
- POLITIS I, HIDIROGLOU M, BATRA TR, GILMORE JA, GOREWIT RC, SCHERF H. Effects of vitamin E on immune function of dairy cows. *Am J Vet Res* 1995; 56:179-184.
- NOCKELS C. Antioxidants improve cattle immunity following stress. *Anim Feed Sci Technol* 1996; 62:59-68.
- ZAVY MT. Embryonic mortality in cattle. In: ZAVY MT, GEISERT RD, editors. Embryonic mortality in domestic species. Boca Raton Florida: CRC Press, 1994:99-140.
- SEGERSON EC, LIBBY DW. Ova fertilization and sperm number per fertilized ovum for selenium and vitamin E-treated Charolais cattle. *Theriogenology* 1982; 17:333-341.
- GARDINER CS, REED DJ. Status of glutathione during oxidative stress in the preimplantation mouse embryo. *Biol Reprod* 1994; 51:1307-1314.
- ARECHIGA CF, EALY AD, HANSEN PJ. Evidence that glutathione is involved in thermotolerance of preimplantation mouse embryos. *Biol Reprod* 1995; 52:1296-1301.
- ARECHIGA CF, HANSEN PJ. Response of preimplantation murine embryos to heat shock as modified by developmental stage and glutathione status. *In Vitro Cell Dev Anim* 1998; 34:655-659.
- ARECHIGA CF, STAPLES CR, MCDOWELL LR, HANSEN PJ. Effects of timed insemination and supplemental α -carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. *J Dairy Sci* 1998; 81:390-402.
- HANSEN PJ, ARECHIGA CF. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *J Anim Sci* 77/*J Dairy Sci* 88 1999; Suppl 2:36-50.
- BECKETT GJ, ARTHUR JR. Selenium and endocrine systems. *J Endocrinol* 2005; 184:455-465.
- EGER S, DRORI D, KADOORI I, MILLER N, SCHINDLER H. Effects of selenium and vitamin E on incidence of retained placenta. *J Dairy Sci* 1985; 68:2119-2122.
- JASKOWSKI JM. The effect of antepartum doses of selenium-vitamin E combinations on the incidence of puerperal disorders in cattle. *Tierarztl Prax* 1993; 21:111-116.
- ERSKINE RJ, BARLETT PC, HERDT TT, GASTON P. Effects of parenteral administration of vitamin E on health of periparturient dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 211:466-469.
- LOHRKE B, VIERGUTZ T, KANITZ W, BECKER F, GOLLNITZ K, HURTIENNE A *et al.* Relationship between oxidant stress and milk productivity in dairy cows. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2005; 118:265-269. (MV)