



Consejo Directivo
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
Universidad Nacional de La Pampa

RESOLUCIÓN Nº 029/2022

GENERAL PICO, 17 de Marzo de 2022.-

VISTO:

La Resolución Nº 033/2022 del Sr. Decano Ad Referéndum del Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa y,

CONSIDERANDO:

Que las/los integrantes del Comité Científico de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa elevan evaluación positiva del Proyecto de Investigación: "*Efecto del destete sobre biomarcadores de estrés y crecimiento en potrillos pura sangre de carrera*", bajo la dirección del MSc. Benjamín UBERTI (Universidad Austral de Chile), participando, en carácter de Investigadoras, las profesionales: Mg. Liliana ROSSETTO y la Dra. Guillermina BILBAO; en carácter de Tesista la M.V. Mariela MONDINO; en carácter de Asistentes de Investigación las/los profesionales: MSc. Mauro VERNA, M.V. Franco LUCERO ARTEAGA, M.V. Karen MORÁN, Esp. Ariel Germán PELLEGRINI (actividad privada nutrición equina), M.V. Manuel TABOADA (Haras Alborada), M.V. Romina Del BLANCO (Haras Alborada), M.V. Pablo MENSI (Haras Alborada) y las/los estudiantes de la carrera de Medicina Veterinaria: Erika CAMERLINCKX, Micaela CAMERLINCKX y Nicolás AGUIRRE.

Que tendrá una duración de treinta y seis (36) meses, a partir del 01 de Enero de 2022 y hasta el 31 de Diciembre de 2024.

Que de acuerdo a la presentación el citado proyecto es de Investigación aplicada.

Que participan en su desarrollo la Cátedra de Clínica de Animales Grandes, Cátedra de Técnica y Patología Quirúrgica, Cátedra de Reproducción Animal, el Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos (CIDEF), todos pertenecientes a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, también participan el Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile y Haras Alborada de Eduardo Castex, provincia de La Pampa.

Que el citado proyecto ha sido presentado de acuerdo con las normas vigentes y aprobado por el Comité Científico de la Facultad.

Que el Artículo 5º Anexo I de la Resolución Nº 100/99 y su modificatoria Nº 88/02 del Consejo Superior, estipula que: "*Todo Programa y todo Proyecto de Investigación que obtenga dos (2) evaluaciones externas favorables será acreditado mediante resolución del Consejo Directivo de cada Facultad a la que pertenezca*".

Que cuenta con dos (2) evaluaciones externas satisfactorias, de acuerdo con lo previsto en la Resolución Nº 100/99 y Nº 88/02 del Consejo Superior de la Universidad Nacional de La Pampa.

Que las evaluaciones fueron realizadas por el PhD José Alberto GARCIA LINEIRO (UBA), MSc. Gabriela ROMANO (UNL) y el Dr. Santiago LOSINNO (UNRC).



Corresponde a Resolución N° 029/2022

//2.-

Que dicho proyecto cuenta con la aprobación del formulario del protocolo institucional para el cuidado y uso de animales de experimentación bajo la responsabilidad el consejo asesor institucional para el uso y cuidado de animales de experimentación (CAICUAE) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa.

Que en Sesión Ordinaria del Consejo Directivo del día 17 de Marzo de 2022, puesta la refrenda a consideración de los/as Sres/as. Consejeros/as, es aprobada por unanimidad.

POR ELLO:

EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

RESUELVE:

ARTÍCULO 1º: Ratificar en todos sus términos la Resolución N° 033/2022 del Sr. Decano Ad Referéndum del Consejo Directivo mediante la cual se acredita como Proyecto de Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, el proyecto denominado: *"Efecto del destete sobre biomarcadores de estrés y crecimiento en potrillos pura sangre de carrera"*, bajo la dirección del MSc. Benjamín UBERTI (Universidad Austral de Chile) participando, en carácter de Investigadoras, las profesionales Mg. Liliana ROSSETTO y la Dra. Guillermina BILBAO; en carácter de Tesista la M.V. Mariela MONDINO; en carácter de Asistentes de Investigación las/los profesionales: MSc. Mauro VERNA, M.V. Franco LUCERO ARTEAGA, M.V. Karen MORÁN, Esp. Ariel Germán PELLEGRINI (actividad privada nutrición equina), M.V. Manuel TABOADA (Haras Alborada), M.V. Romina Del BLANCO (Haras Alborada), M.V. Pablo MENSI (Haras Alborada) y las/los estudiantes de la carrera de Medicina Veterinaria: Erika CAMERLINCKX, Micaela CAMERLINCKX y Nicolás AGUIRRE, el cual tiene catorce (14) folios y que se adjunta como Anexo de la presente Resolución.

ARTÍCULO 2º: El proyecto tendrá una duración de treinta y seis (36) meses, a partir del 01 de Enero de 2022 y hasta el 31 de Diciembre de 2024.

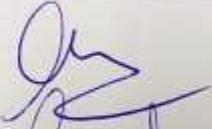
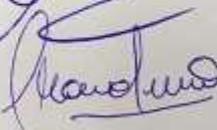
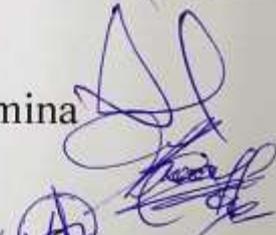
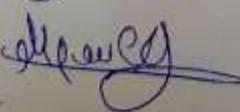
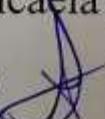
ARTÍCULO 3º: Justificar los gastos que se produzcan de pasajes, viáticos, combustibles, aparatos, material de laboratorio, etc., del citado proyecto.

ARTÍCULO 4º: Regístrese, comuníquese. Tomen conocimiento las/os interesadas/os, la Secretaría de Investigación, Posgrado y Extensión. Cumplido, archívese.

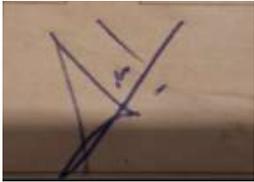
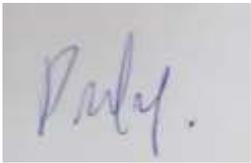
Presidente
Consejo Directivo
Facultad de Ciencias Veterinarias
UNLPam

ANEXO

TITULO: EFECTO DEL DESTETE SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRÉS Y CRECIMIENTO EN POTRILLOS PURA SANGRE DE CARRERA

INTEGRANTES	FIRMA
Uberti, Benjamin	
Rossetto, Liliana	
Mondino, Mariela	
Verna Mauro	
Bilbao, Guillermina	
Lucero, Franco	
Moran, Karen	
Pellegrini, Ariel	
Taboada, Manuel	
Romina , Blanco	
Mensi, Pablo	
Camerlinkcx, Erika	
Camerlinkcx Micaela	
Aguirre Nicolás	

TITULO: EFECTO DEL DESTETE SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRÉS Y CRECIMIENTO EN POTRILLOS PURA SANGRE DE CARRERA

INTEGRANTES	FIRMA
Uberti, Benjamin	
Verna Mauro	
Pellegrini, Ariel	
Taboada, Manuel	
Romina , Blanco	
Mensi, Pablo	



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA
Facultad de Ciencias Veterinarias

1. IDENTIFICACIÓN del PROYECTO

1.1. TÍTULO del PROYECTO

Efecto del destete sobre biomarcadores de estrés y crecimiento en potrillos pura sangre de carrera

1.2. TIPO de INVESTIGACIÓN: Aplicada

BÁSICA: Consiste en trabajos experimentales o teóricos que se emprenden principalmente para obtener nuevos conocimientos acerca de los fundamentos de fenómenos y hechos observables, sin prever en darles ninguna aplicación o utilización determinada o específica.

APLICADA: Consiste también en trabajos originales realizados para adquirir nuevos conocimientos, pero fundamentalmente dirigidos hacia un objetivo práctico específico.

DESARROLLO EXPERIMENTAL: Consiste en trabajos sistemáticos basados en los conocimientos existentes, derivados de la investigación y/o la experiencia práctica, dirigidos a la producción de nuevos materiales, productos y dispositivos; al establecimiento de nuevos procesos, sistemas y servicios, o a la mejora substancial de los ya existentes, es decir, producir una tecnología.

1.3. CAMPO de APLICACIÓN PRINCIPAL: (Ver Códigos en Planilla Adjunta)

1.4. CAMPOS de APLICACIÓN POSIBLES: (Ver Códigos en Planilla Adjunta)

2. INSTITUCIONES y PERSONAL que INTERVIENEN en el PROYECTO

2.1. AREAS, DEPARTAMENTOS y/o INSTITUTOS

Cátedras Clínica de Grandes Animales, Técnica y Patología Quirúrgica, Reproducción Animal y el Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos (CIDEF), pertenecientes a la Facultad de Ciencias veterinarias UNLPam.

2.2. OTRAS INSTITUCIONES:

- Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile.
- Haras Alborada. Eduardo Castex – La Pampa

2.3. EQUIPO de TRABAJO:

2.3.1. INTEGRANTES

Apellido y Nombre	CUIL	Título Académico	Categ. Invest.	Responsabilidad	Cátedra o Institución	Cargo y Dedicación	Tiempo
Uberti, Benjamín	24-638392/8	MSc	III	D	Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile	Profesor auxiliar	5 h
Rossetto, Liliana	23-22425321/4	Mg.		I	Cátedra de ReproducciónFCV UNLPam	Profesor Adjunto Exclusiva	2 h

Mondino, Marie la Ayalen	27-32279113/0	MV		Tesista	Cátedra de Clínica de Animales Grandes y Cátedra de Técnica y Patología Quirúrgica. FCV UNLPam	Ayudante de primera simple	20 h
Bilbao, Maria Guillermina	27-28004454/2	Dra.	IV	I	Inv. asist. CONICET, Cátedra de Física Biológica, FCV UNLPam	Profesor Adjunto Exclusiva	5 h
Verna, Mauro	20-24920610/9	MSc		AI	Cátedra de Clínica de Animales Grandes FCV UNLPam	Prof. Adjunto simple	2hs
Lucero Artiaga, Franco Exequiel	20-36221849/8	MV		AI	Becario doctoral CONICET, Cátedra de virología, FCV UNLPam	Ayudante de primera simple	3h
Morán, Karen Daiana	27-34536905/3	MV		AI	Becaria doctoral CONICET, FCV UNLPam Cátedra de Clínica de grandes animales, FCV UNLPam	Ayudante de primera simple	3h
Pellegrini, Ariel Germán	20-24628584/6	Esp.		AI	Egresado de la FCV-UNPL	Actividad privada en nutrición equina	2h
Taboada, Manuel	23-24627190/9	MV		AI	Egresado de la FCV- UNLPam	Actividad privada Haras Alborada	2 h
Del Blanco, Romina	27-31482307/4	MV		AI	Egresado de la FCV- UNLPam.	Actividad privada Haras Alborada	2 h
Mensi, Pablo	20-25043133/4	MV		AI	Egresado de la FCV- UNLPam.	Actividad privada Haras Alborada	2 h
Camerlinkckx Erika	27-39942215/4	Estudiante		AI	Estudiante de la FCV- UNLPam		2 h

Camerlinkckx Micaela	27-39942215/6	Estudiante		AI	Estudiante de la FCV- UNLPam		2 h
Aguirre, Nicolas	20-39385695/6	Estudiante		AI	Estudiante de la FCV- UNLPam		2h

2.3.1. BECARIOS:

Apellido y Nombre	Organismo que Financia	Tipo de Beca	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.

2.3.2. TESISISTAS:

Apellido y Nombre	Título Académi co al que Aspira	Título Proyecto de Tesis	Organismo	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem
Mondino, Mariela Ayelén.	Magister	Efecto del destete sobre biomarcadores de estrés y crecimiento en potrillos purasangre de carrera	UBA	Uberti, Benjamín	20 h

2.3.3. PERSONAL de APOYO:

Apellido y Nombre	Categoría (Adm., Lab., Campo, etc.)	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.

2.3.4. INVESTIGADORES en PLAN de TESIS:

Apellido y Nombre	Función	Título Proyecto de Tesis	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.
Uberti, Benjamín	Director	Efecto del destete sobre biomarcadores de estrés y crecimiento en potrillos purasangre de carrera	5 h
Rossetto, Liliana	Co-Director		2h
Mondino, Mariela A.	Tesista		20h

3. DURACIÓN ESTIMADA del PROYECTO: 3 años**3.1. FECHA de INICIO:** 01 / 01 /2022 **FINALIZACIÓN:** 31 / 12/2024**4. RESUMEN del PROYECTO: (Máximo 200 palabras)**

El objetivo de este proyecto es determinar las variaciones de los marcadores de crecimiento y estrés en potrillos al destete, nacidos y criados en un harasdel noroeste pampeano. Nuestra hipótesis es que el destete en potrillos genera estrés con consecuencias sobre la concentración de osteocalcina sérica y en el cierre de los cartílagos de crecimiento de huesos largos. Para ello, se enrolarán 30 potrillos PSC de ambos sexos. Se registrará mensualmente el peso y la altura, desde el nacimiento hasta el destete. Se extraerá una muestra de sangre 7 días antes y 2 días posteriores al destete, para la determinación de osteocalcina y cortisol. Se realizará a

cada potrillo una placa radiográfica de radio en distal a los 18 meses para establecer si el estrés influyó en el cierre de las placas epifisarias, evaluando el efecto en cada sexo. Esto nos podría brindar una información práctica para mejorar la salud y desempeño individual de futuros deportistas de élite.

4.1 Palabras claves: (de 4 a 6)

Potrillos/Biomarcadores DeCrecimiento /Cortisol/Osteocalcina/Psc/Destete

4.2 Abstract en Inglés: (Máximo 200 palabras) Res.N° 097-CS-12.

The objective of this project is to determine the sericvariations of growth markers and stress markers in PSC foals at weaning. The foals are from stud farm in the northwest of La Pampa (Arg). Our hypothesis is weaning produce stress in foals and modified the concentration of seric osteocalcin and closure of the growth plates in long bones. We will enroll 30 PSC foals of both sexes. Weight and height will be taken monthly from the birth until weaning. Moreover, a blood sample will be taken 7 days before and 2 days after weaning for to determinate osteocalcin and cortisol. After that, to each foal will be taken an radiography of radius in distal at 18 months. This will allow to establish the influence of stress in the closure of the epiphyseal distal radius plates of PSC horses depending on sex. This study could provide practical information to improve the health and individual performance of sports horses.

4.3. Key words: (de 4 a 6)

foals / growth biomarkers / cortisol / osteocalcina / psc / weaning

5. INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES

5.1. INTRODUCCIÓN, MANEJO DE FUENTES BIBLIOGRÁFICAS y DESCRIPCIÓN de la SITUACIÓN ACTUAL del PROBLEMA

5.2. RESULTADOS ALCANZADOS POR el(los) INTEGRANTE(S) del PROYECTO DENTRO del ÁREA de CONOCIMIENTO del MISMO: (Publicados, enviados o aceptados para publicar, o inéditos)

PUBLICACIONES DEL DIRECTOR BENJAMIN UBERTI:

Olave C, Alvarez P, Uberti B, Morales N, Henriquez C, Folch H, Sarmiento J, Moran G. Tamoxifen induces apoptosis and inhibits respiratory burst in equine neutrophils independently of estrogen receptors. *J Vet Pharmacol Ther.* 2019 42;248-254.. doi: 10.1111/jvp.12728.

Uberti B, Moran G. Role of neutrophils in equine asthma. *Anim Health Res Reviews* 2018 19;65-73.

Busse NI, Paredes EA, Bustamante HA, Ansoleaga N, Uberti B. Periurethral vascular hamartoma in a 6-month-old foal with idiopathic hematuria: new differential diagnosis. *J Eq Vet Sci* 67;19-22.

Morales N, Henriquez C, Sarmiento J, Uberti B, Moran G. Tamoxifen inhibits chemokinesis in equine neutrophils. *Ir Vet J.* 2018 Oct 23;71:22.

Olave C, Morales N, Uberti B, Henriquez C, Sarmiento J, Ortloff A, Folch H, Moran G. Tamoxifen induces apoptotic neutrophil efferocytosis in horses. *Vet Res Commun* 2018 42(1):57-63.

Morán G, Uberti B, Ortloff A, Folch H. *Aspergillus fumigatus*-sensitive IgE is associated with bronchial hypersensitivity in a murine model of neutrophilic airway inflammation. *J Mycol Med* 2018 28(1):128-136.

Henríquez C, Morán G, Carrasco C, Sarmiento J, Barría M, Folch H, Uberti B. Modulatory role of regulatory T cells in a murine model of severe equine asthma. *BMC Vet Res* 2017 13:117.

Borlone C, Morales N, Henriquez C, Folch H, Olave C, Sarmiento J, Uberti B, Moran G. In vitro effects of tamoxifen on equine neutrophils. *Res Vet Sci* 2017, 110:60-64.

Chavez H, H Folch, O Araya, B Uberti, G Moran. Concentration of the CS-846 epitope in serum and synovial fluid of horses with different grades of osteochondral fragments in the carpal joints. *Gen Med (Los Angeles)* 2016, 4:3.

Perez B, C Henriquez, J Sarmiento, N Morales, H Folch, JS Galesio, B Uberti, G Moran. Tamoxifen as a new therapeutic tool for neutrophilic lung inflammation. *Respirology* 2016, 21:112-8.

Uberti, B. ,Pressler, BM. , Alkabes, SB. , Chang, CY. , Moore, GE. , Lescun, TB. , Sojka, JE. Effect of heparin administration on urine protein excretion during the developmental stage of experimentally induced laminitis in horses. *Am J Vet Res* 2010, 71:1462-1467.

Uberti, B. ,Eberle, DB. , Pressler, BM. , Moore, GE. , Sojka, JE. Determination of and correlation between urine protein excretion and urine protein-to-creatinine ratio values during a 24-hour period in healthy horses and ponies. *Am J Vet Res* 2009, 70:1551-1556.

PUBLICACIONES DEL CO- DIRECTOR LILIANA ROSSETTO:

Rossetto Liliana; Miragaya Marcelo. "Hormone Concentrations and Semen Parameters in Criollo Breed Stallions Under Training". JOURNAL OF EQUINE VETERINARY SCIENCE, 99 (2021): Rossetto Liliana; Miragaya Marcelo; Bartolomé Julián. Determinación de parámetros reproductivos de padrillos de raza criolla en entrenamiento intensivo. En 3° Congreso Internacional de la SATE, Argentina: UCA. 2016. Sin dato de issn/isbn.

5.3. TRABAJOS de INVESTIGACIÓN de los INTEGRANTES del EQUIPO, EN ESTA U OTRA INSTITUCIÓN, RELACIONADOS al PROYECTO:

DETERMINACIÓN DE CORTISOL CANINO POR RADIOINMUNO ANÁLISIS MEDIANTE EL USO DE UN KIT COMERCIAL PARA HUMANOS. Farcey MF,*; Moran KD, Giménez ME, Miguel MC, Leavi De Asis VE, Lucero Arteaga FE, López MS, Riesco O, Bartolomé JA, Bilbao MG.

6. DESCRIPCIÓN del PROYECTO

6.1. PROBLEMA CIENTÍFICO, OBJETIVOS, HIPÓTESIS y RESULTADOS ESPERADOS del PROYECTO

HIPOTESIS

El destete entre 6 y 8 meses de edad altera significativamente la concentración de marcadores de estrés y crecimiento de potrillos y potrancas Pura sangre de carreras.

El destete de potrillos machos Pura Sangre de Carreras produce un cierre tardío en el cartílago de crecimiento radial distal en comparación a hembras destetadas a la misma edad.

OBJETIVOS GENERALES

Caracterizar el efecto del destete sobre el crecimiento en potrillos y potrancas PSC entre seis y ocho meses de edad.

Caracterizar el efecto del destete sobre el crecimiento en potrillos PSC entre machos y hembras de la misma edad.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar medidas biométricas (peso y altura) en potrillos y potrancas PSC destetados entre los seis y ocho meses de edad.
- Determinar la concentración en sangre de cortisol en potrillos y potrancas PSC destetados entre los seis y ocho meses de edad.
- Determinar la concentración en sangre de osteocalcina en potrillos y potrancas PSC destetados en los seis y ocho meses de edad.
- Determinar el cierre del cartílago de crecimiento radial distal en potrillos y potrancas PSC destetados en los seis y ocho meses de edad.

6.2. METODOLOGÍA, MODELOS y TÉCNICAS

MATERIALES Y METODOS:

Manejo de los animales

Todos los animales involucrados en el estudio son criados en el Haras Alborada, propiedad de Brandeman S.A. en la zona de Eduardo Castex, Provincia de La Pampa. Este establecimiento cuenta con 450 ha, un área de piquetes para las pariciones, boxes, corrales y manga. En estas instalaciones se alojan 120 animales, que comprenden yeguas madres, potrillos y padrillos. La dirección y el manejo del haras está a cargo del M.V. Manuel Taboada, quien dispone de un personal de campo que realiza las tareas concernientes a los animales.

En el Área de reproducción se encuentra la médica veterinaria Romina Blanco.

El manejo del haras se realiza de la siguiente manera, a las yeguas se les efectúa un control reproductivo y en el momento indicado se les da servicio natural con el padrillo. Las yeguas con distinto tiempo de gestación se encuentran en un mismo lote donde pastan todas juntas, ese lote se va cambiando de acuerdo al pasto. Cuando comienza la etapa de parto, las yeguas con proximidad a este son llevadas a recintos para un mayor control, donde son asistidas por la veterinaria encargada. En el momento que nace el potrillo se toma registro de la hora de nacimiento, del peso y la altura. Pasado 24 hs se lleva a un mismo lote a la madre y a la cría.

Pasado la cantidad de meses que considere el veterinario, en este Haras es a partir de los 6 meses y hasta los 8 meses inclusive, se comenzará con el destete. La forma de destete que se utilizará en este establecimiento será el desmadre, un destete gradual, este consistirá en sacar del grupo dos madres llevándolas a otro campo y dejando a los potrillos con el resto del lote. Así se continúa sucesivamente hasta finalizar el grupo. Los días martes y jueves son los asignados para realizar este trabajo.

Diseño Experimental

Se incluirán un total de $n=30$ animales en este estudio Potrillos PSC de ambos sexos nacidos entre julio y diciembre desde el nacimiento hasta los 18 meses de edad.

Las muestras de sangre se toman en el destete de los potrillos de edades de 6 a 8 meses.

El diseño que se va a utilizar consta de 2 tiempos:

El primero es el T0: corresponde a 7 días anteriores al momento del destete. Este tiempo nos permite registrar los valores normales que tiene el potrillo al pie de la madre sin estrés.

El segundo es el T1 correspondiente a 48h después del destete.⁷ Este momento es donde el cortisol aumenta.¹⁷

A lo largo de los dos tiempos los animales serán evaluados clínicamente para determinar condiciones generales y estado metabólico nutricional.

El destete se realizará las 9:15 AM.

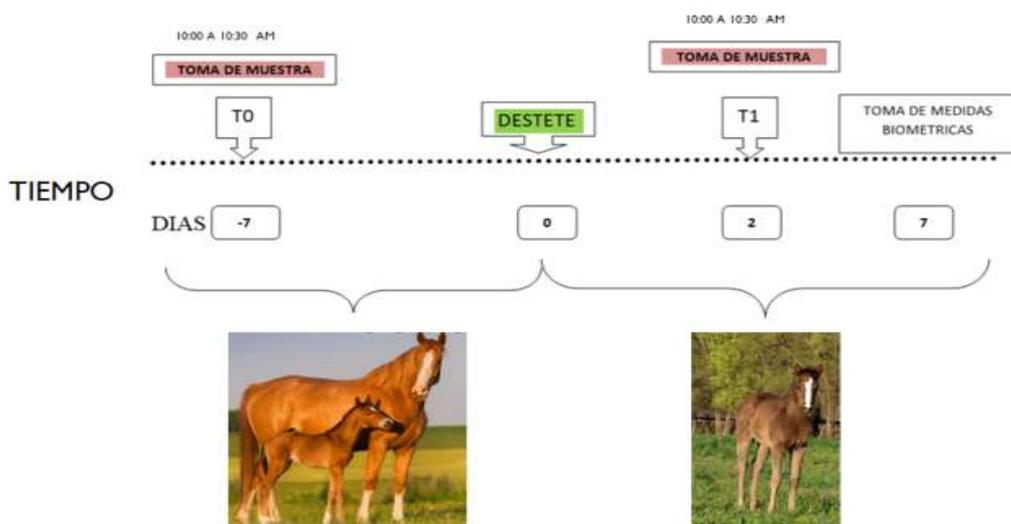
En todos los tiempos se toman las muestras de sangre entre las 10:00 AM y las 10:30 AM. También se pesará pero se medirá la alzada sólo en el T0 y una semana después del destete.

Se confeccionarán tres tipos de planillas:

En la primera planilla se registrarán los nombres de cada potrillo en una columna, en una segunda columna se los designará con una P y un número a los respectivos animales.

La segunda planilla contendrá un cronograma de muestreo. Las muestras se tomarán en primer lugar a los animales correspondientes al grupo T1. Luego se continuará con los potrillos del T0.

En la tercera planilla se registrarán las medidas, horario de la toma de muestras y número de tubo por animal.

Diseño Experimental**Extracción de muestras de sangre**

La extracción de sangre se realizará en el haras Alborada, los potrillos se dispondrán en boxes y seguidamente se procederá a la extracción, por medio de jeringa 5 cc con agujas hipodérmicas desechables (1.2 x 40 mm), de las muestras de sangre por punción de la vena yugular en tubos con separadores de suero y se mantendrán a 4 °C hasta su traslado al laboratorio (Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias), que tendrá lugar en un lapso de tiempo no mayor a 90 min. Una vez allí, las muestras se dejarán reposar a T ambiente por 15 minutos y luego se centrifugarán a 3500 x g por 15 minutos para recuperar el suero, que se almacenará en alícuotas de 250 uL a -20 °C hasta su posterior análisis.

Criterio de Inclusión/exclusión

Se incluirán en este ensayo todos los potrillos de misma raza, del mismo periodo de crecimiento hasta los 18 meses, la misma alimentación igual que sus madres que tiene las mismas condiciones de reproducción y manutención durante la preñez. Todos los animales se encuentran en el mismo haras.

Se excluirán los potrillos que por algún motivo tuvieran que ser destetados con anterioridad a los 5 meses. O presenten patologías que puedan interferir en los parámetros de estrés y/o crecimiento.

Registro de Medidas Biométricas

Los potros se pesaran el día después del nacimiento, luego a intervalos mensuales hasta los 18 meses. Otras medidas corporales se realizarán a las mismas edades. Las mediciones se realizarán con el potro parado en silencio sobre un piso plano. La altura de la cruz se medirá con un hipómetro.

Se calculará la ganancia diaria de peso corporal y altura de la cruz para períodos de 1 mes desde 1 a 18 meses edad. Ambos parámetros también se calcularán durante los períodos pre y posdestete (1-180 días de edad y 180-540 días de edad).

Determinación de cortisol

La determinación de cortisol se realizará por personal entrenado, en el Laboratorio de Reproducción de la Facultad de Ciencias Veterinarias – UNLPam. Las concentraciones séricas de cortisol se cuantificarán mediante radioinmunoanálisis (RIA) empleando un kit que consta de 100 tubos recubiertos con anticuerpo específico contra cortisol, calibradores, controles y trazador (Cortisol RIA Kit, REF IM1841, IMMUNOTECH s.r.o. Hostivař, CzechRepublic).

El día del ensayo se descongelará una alícuota de cada muestra a T ambiente. En cada tubo se dispondrá, según corresponda, 50 µL de calibrador, control o muestra. A todos los tubos se adicionará 500 µL de trazador y se incubará a ~ 400 RPM, a T ambiente por 1 h. Transcurrido ese tiempo, se descartará el sobrenadante por inversión y se dejará decantar por 10 min antes de proceder a la lectura de las cpm en contador de centelleo Multi Cristal LB 2111 (Berthold Technologies, GmbH & Co., BadWildbadGermany).

Determinación de osteocalcina

La determinación de osteocalcina se realizará por personal entrenado en el Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos (CIDEF) de la FCV UNLPam. Las concentraciones séricas de OC se cuantificarán mediante un ensayo tipo ELISA con el kit AC-11F1(ImmunodiagnosticSystems, Gaithersburg, MD)³⁷ específico para humanos y validado en equinos¹⁸. Cada kit contiene una placa de 96 pocillos recubiertos con un anticuerpo monoclonal específico para la porción media de la OC. El anticuerpo monoclonal específico para la región N-terminal acoplado peroxidasa constituye el sistema de detección. El día del ensayo se descongelará una alícuota de cada muestra a T ambiente. En cada pocillo se dispensaran 20 uL de suero o plasma y el volumen de anticuerpo secundario indicado por el fabricante. Se procederá a la lectura a 450 nm en lector de microplacas Rayto RT-6000.

Imágenes radiográficas de huesos y articulaciones

Cada potrero será monitoreado desde el nacimiento hasta los 18 meses por la inspección clínica a través de las medidas biométricas para verificar el desarrollo esquelético. También, se tomarán rayos X para evaluar la morfología, la congruencia y los signos radiográficos específicos de los huesos y las placas de crecimiento.

Las placas radiográficas se realizarán con una proyección anteroposterior de la fisis de radio distal a los 30 potrillos PSC con edades entre los 12 y 18 meses. Se van a clasificar a la imagen radiográfica de la epífisis como A (completamente madura), B (en proceso de cierre) y C (completamente abierta) (Adams, 1974).

Se utilizará un aparato radiográfico portátil y se observarán radiogramas digitales directamente en el campo (sistema de recolección de fotos por sistema digital indirecto) a través de una computadora portátil. Todos los operadores usarán delantal de plomo, collar y guantes para protección contra la radiación para realizar una radiografía.

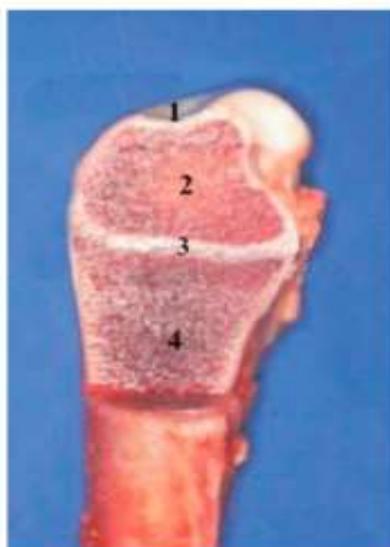


Figura 1. Corte sagital del radio distal del caballo. 1) Complejo del cartilago articular epifisario. 2) Centro secundario de osificación de la epífisis. 3) Cartilago de crecimiento metafiseal o fisis de crecimiento. 4) Centro primario de osificación de la diáfisis. (Adaptado de Hernández Vidal *et al*, 2011).



Figura 2. Radiografías del cartilago de crecimiento de distal de radio en diferentes etapas del proceso de cierre. En la imagen C se observa un cartilago abierto, en la B se encuentra en proceso de cierre y en la A el cartilago de crecimiento está cerrado. Las flechas blancas señalan la fisis de crecimiento.

Las placas serán interpretadas por consenso entre los autores y el radiólogo a cargo.

Análisis estadísticos

Se realizará estadística descriptiva para caracterizar los grupos y observar los datos de forma global.

Las variables explicatorias serán “sexo” (macho y hembra) y edad del destete (6, 7 y 8 meses).

Las variables respuestas serán:

- Cierre de cartílago de crecimiento, variable cualitativa ordinal.
- Medición de cortisol (nmol/L) variable cuantitativa continua
- Medición de osteocalcina (ng/ml) variable cuantitativa continua
- Peso (kg) variable cuantitativa continua
- Altura (cm) variable cuantitativa continua

Para evaluar el efecto del sexo y la edad del destete sobre el cierre del cartílago de crecimiento, se utilizará la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Para evaluar el efecto del sexo y la edad del destete sobre las variables continuas, se descartará el incumplimiento de los supuestos de normalidad y homocedasticidad y se analizarán los datos por ANOVA de dos factores. En el caso de incumplimiento de los mencionados supuestos, se empleará la prueba no paramétrica de Mann-Whitney.

Se utilizarán planillas de Excel para recolección y almacenamiento de datos. El análisis estadístico se realizará con R y RStudio. Se considerarán diferencias significativas cuando $p < 0,005$.

6.3. CONTRIBUCIÓN al CONOCIMIENTO CIENTÍFICO y/o TECNOLÓGICO y a la RESOLUCIÓN de los PROBLEMAS

A partir de los resultados obtenidos en esta investigación será posible establecer si el estrés influye en el cierre de las placas epifisarias distal de radio de los caballos PSC dependiendo del sexo. Esto brinda una información práctica para todos los que cotidianamente trabajan con estos animales, que puede servir para mejorar su salud y desempeño individual y el de la producción en general.

6.4. CRONOGRAMA ANUAL de ACTIVIDADES

Año 1 / Meses Actividades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Obtención de medidas biométricas - Peso							X	X	X	X	X	
Obtención de medidas biométricas - Altura							X					
Análisis de resultados											X	
Comunicación Parcial de resultados												X
Relevamiento y actualización de bibliografía	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Año 2 / Meses Actividades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Obtención de medidas biométricas - Peso	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Obtención de medidas biométricas - Altura		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Extracción de sangre.		X	X	X	X	X						
Análisis de resultados											X	X
Comunicado Parcial de resultados												X
Relevamiento y actualización de bibliografía	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Año 3 / Meses Actividades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Obtención de medidas biométricas - Peso	X	X	X									
Obtención de medidas biométricas - Altura	X	X	X									
Procesamiento de muestras y medición de cortisol		X										
Procesamiento de muestras y medición de osteocalcina		X										
Toma de placas radiográficas			X	X								
Análisis de resultados						X						
Relevamiento y actualización de bibliografía	X	X	X	X	X	X	X	X				
Publicación de resultados									X			

7. INFRAESTRUCTURA y PRESUPUESTO

7.1. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES REQUERIDOS por el PROYECTO YA EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN:

Todas las muestras conjuntamente con las medidas biométricas se realizan en el haras Alborada, propiedad de Brandeman S.A en la zona de Eduardo Castex, Provincia de La Pampa.

Las muestras son procesadas en las instalaciones del Laboratorio de Reproducción (FCV-UNLPam).

Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos (CIDEF) de la FCV UNLPam

-Equipamiento de ELISA

- Equipamiento de RIA

- Centrífuga

-Freezer

- Micropipetas

7.2. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES NECESARIOS para el PROYECTO y NO DISPONIBLES en esta FACULTAD

Equipo radiológico portátil digital (sistema de recolección de fotos por sistema digital indirecto) a través de una computadora portátil. Delantal de plomo, collar y guantes para protección contra la radiación para realizar una radiografía.

7.3. JUSTIFICACIÓN de la ADQUISICIÓN o FACTIBILIDAD de ACCESO en CONDICIONES de PRESTAMO o USO de los BIENES NO EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN

7.4. ESPECIFICAR otras FUENTES de FINANCIACIÓN**7.5. PRESUPUESTO ESTIMADO para el PROYECTO PRESENTADO (Total y Anual)
ANUAL PRIMER AÑO****1° AÑO**

Equipamiento e Infraestructura.....	\$ 0
Bienes de Consumo	\$ 10.000
Insumos para extracción de muestra	
Descartables de laboratorio	
Bibliografía.....	\$ 3.000
Viajes.....	\$ 40.000
Personal de Apoyo	\$ 0
Otro.....	\$ 0
Total	\$53.000

2° AÑO

Equipamiento e Infraestructura.....	\$ 0
Bienes de Consumo	\$ 70.000
Kits de cortisol	
Insumos para extracción de muestra	
Descartables de laboratorio	
Bibliografía.....	\$ 3.000
Viajes.....	\$ 0
Personal de Apoyo	\$ 0
Otro.....	\$ 0
Total	\$73.000

3 AÑO

Equipamiento e Infraestructura.....	\$ 0
Bienes de Consumo	\$ 100.000
Kits de ostiocalcina	
Insumos para extracción de muestra	
Descartables de laboratorio	
Bibliografía.....	\$ 3.000
Viajes.....	\$ 0
Personal de Apoyo	\$ 0
Otro.....	\$ 0
Total.....	\$103.000

TOTAL \$ 229.000

** El Consejo Directivo adjudicará presupuesto a cada Proyecto de acuerdo a su Presupuesto de Ciencia y Técnica anual, tomando en cuenta normas y criterios que el mismo determine.*

8.1. BIBLIOGRAFÍA

1. Fina E, Carrera SDE. Universidad de Chile. *An la Univ Chile*. 1955;0(97-98). doi:10.5354/0717-8883.1955.11040
2. Apter RC, Householder DD. Weaning and weaning management of foals: A review and some recommendations. *J Equine Vet Sci*. 1996;16(10):428-435. doi:10.1016/S0737-0806(96)80208-5
3. Waran NK, Clarke N, Farnworth M. The effects of weaning on the domestic horse (*Equuscaballus*). *ApplAnimBehav Sci*. 2008;110(1-2):42-57. doi:10.1016/j.applanim.2007.03.024
4. McCall CA, Potter GD, Kreider JL. Locomotor, vocal and other behavioral responses to varying methods of weaning foals. *ApplAnimBehav Sci*. 1985;14(1):27-35. doi:10.1016/0168-1591(85)90035-8
5. Moons CPH, Laughlin K, Zanella AJ. Effects of short-term maternal separations on weaning stress in foals. *ApplAnimBehav Sci*. 2005;91(3-4):321-335. doi:10.1016/j.applanim.2004.10.007
6. Houpt A, Hintz HF. DEPRIVATION ON MAINTENANCE BEHAVIOR , SPATIAL RELATIONSHIPS AND RESPONSES TO ENVIRONMENTAL Foals may be weaned at birth or during the

- first few days of life for one of several reasons . The death of the mother and the absence of a suitable foster mare is . 1983;9:221-230.
7. Hoffman RM, Kronfeld DS, Holland JL, Greiwe-Crandell KM. Preweaning diet and stall weaning method influences on stress response in foals. *J Anim Sci.* 1995;73(10):2922-2930. doi:10.2527/1995.73102922x
 8. Malinowski K, Hallquist NA, Helyar L, Sherman AR, Scanes CG. Effect of different separation protocols between mares and foals on plasma cortisol and cell-mediated immune response. *J Equine Vet Sci.* 1990;10(5):363-368. doi:10.1016/S0737-0806(06)80098-5
 9. Fazio E, Medica P, Grasso L, Messineo C, Ferlazzo A. Changes of circulating β -endorphin, adrenocorticotrophin and cortisol concentrations during growth and rearing in Thoroughbred foals. *Livest Sci.* 2009;125(1):31-36. doi:10.1016/j.livsci.2009.02.021
 10. Kreider JL, Jenkins WL. Physiological responses in foals weaned by abrupt or gradual methods. *J Equine Vet Sci.* 1987;7(6):368-374. doi:10.1016/S0737-0806(87)80007-2
 11. Weiler U, Finsler S, Claus R. *Influence of Cortisol, Gonadal Steroids and an Energy Deficit on Biochemical Indicators of Bone Turnover in Swine.* www.blackwell.de/synergy.
 12. Inoue Y, Matsui A, Asai Y, et al. Response of biochemical markers of bone metabolism to exercise intensity in thoroughbred horses. *J Equine Sci.* 2008;19(4):83-89. doi:10.1294/jes.19.83
 13. Giannetto C, Casella S, Fazio F, Messina V, Piccione G. Circadian variations in biochemical markers of bone metabolism in horse of different age. *J Appl Biomed.* 2010;8(2):73-79. doi:10.2478/v10136-009-0011-y
 14. Silvers BL, Leatherwood JL, Arnold CE, et al. Effects of aquatic conditioning on cartilage and bone metabolism in young horses. *J Anim Sci.* 2020;98(8):1-10. doi:10.1093/jas/skaa239
 15. Weiler U, Finsler S, Claus R. Influence of Cortisol, Gonadal Steroids and an Energy Deficit on Biochemical Indicators of Bone Turnover in Swine. www.blackwell.de/synergy. Accessed September 21, 2021.
 16. Carstanjen B, Amory H, Sulon J, et al. Serum osteocalcin and CTX-MMP concentration in young exercising thoroughbred racehorses. *J Vet Med Ser A PhysiolPatholClin Med.* 2005;52(3):114-120. doi:10.1111/j.1439-0442.2005.00704.x
 17. Chavez H, Araya O, Folch H, Moran G. Use of biomarkers for the diagnosis of joint disease in horses. *Arch Med Vet.* 2010;42(1):1-10.
 18. Peugnet P, Mendoza L, Wimel L, et al. Longitudinal Study of Growth and Osteoarticular Status in Foals Born to Between-Breed Embryo Transfers. *J Equine Vet Sci.* 2016;37:24-38. doi:10.1016/j.jevs.2015.11.008
 19. Price PA, Williamson MK, Lothringer JW. Origin of the vitamin K-dependent bone protein found in plasma and its clearance by kidney and bone. *J Biol Chem.* 1981;256(24):12760-12766.
 20. Camarda AJ, Butler WT, Finkelman RD, Nanci A. Immunocytochemical localization of γ -carboxyglutamic acid-containing proteins (osteocalcin) in rat bone and dentin. *Calcif Tissue Int.* 1987;40(6):349-355. doi:10.1007/BF02556698
 21. Pastoureaux P, Meunier PJ, Delmas PD. Serum osteocalcin (Bone Gla-Protein), an index of bone growth in lambs. Comparison with age-related histomorphometric changes. *Bone.* 1991;12(3):143-149. doi:10.1016/8756-3282(91)90036-I
 22. Billingham RC, Brama PAJ, van Weeren PR, Knowlton MS, McIlwraith CW. Evaluation of serum concentrations of biomarkers of skeletal metabolism and results of radiography as indicators of severity of osteochondrosis in foals. *Am J Vet Res.* 2004;65(2):143-150. doi:10.2460/ajvr.2004.65.143
 23. Donabedian M, Van Weeren PR, Perona G, et al. Early changes in biomarkers of skeletal metabolism and their association to the occurrence of osteochondrosis (OC) in the horse. *Equine Vet J.* 2008;40(3):253-259. doi:10.2746/042516408X273657
 24. Lepage OM, Marcoux M, Tremblay A. Serum osteocalcin or bone Gla-protein, a biochemical marker for bone metabolism in horses: differences in serum levels with age. *Can J Vet Res.* 1990;54(2):223-226.
 25. Napal J, Amado JA, Riancho JA, Olmos JM, González-Macías J. Stress decreases the serum level of osteocalcin. *Bone Miner.* 1993;21(2):113-118. doi:10.1016/S0169-6009(08)80013-X
 26. Barth JA, Igf-i R, Claus R, Weiler U. Endocrinology in peripheral plasma of growing pigs. 1996;104:344-349.
 27. Denis I, Cournot G, Lacroix H, Colin C, Zerath E, Pointillart A. In vivo bone metabolism and ex vivo bone marrow osteoprogenitors in vitamin D-deprived pigs. *Bone.* 2000;26(5):491-498. doi:10.1016/S8756-3282(00)00257-X
 28. O'Leary E, Lam Y, Bryant AE, Burrin JM, Hall GM. Etomidate and the osteocalcin response to

- gynaecological surgery. *Br J Anaesth*. 1999;83(3):461-463. doi:10.1093/bja/83.3.461
29. McIlwraith CW. Use of synovial fluid and serum biomarkers in equine bone and joint disease: A review. *Equine Vet J*. 2005;37(5):473-482. doi:10.2746/042516405774480102
30. Goyal HO, MacCallum FJ, Brown MP, Delack JB. Growth rates at the extremities of limb bones in young horses. *Can Vet J*. 1981;22(2):31-33.
31. NinlaElmawatiFalabiba. 濟無No Title No Title No Title. 2019.
32. Llaver LV, Sandes JF, Losinno L. Cierre radiológico tardío del cartílago de crecimiento distal del radio en caballos criollos de Argentina. 7(4):41-50.
33. Kemp-Symonds J. Carbon Dioxide Laser Surgery With Adjunctive Photodynamic Therapy As a Treatment for Equine Peri-Ocular Sarcoid: Outcome. *Equine Vet J*. 2012;42(2005):2-18. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2042-3306.2012.00641.x/abstract>.
34. Mario G, Vmd P, Pérez A, Caviglia J, Chiappe A, Dvm B. Journal of Equine Veterinary Science Effects of Live Yeast (*Saccharomyces cerevisiae* Strain 1026) Supplementation on the Closure of Articular Growth Plates in Quarter Horse Foals. *J Equine Vet Sci*. 2013;33(4):261-265. doi:10.1016/j.jevs.2012.07.004
35. Vaughn SE. of the Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching 3 (the Ag Guide). 2012;51(3):298-300. <http://www.fass.org>.
36. Bruschetta G, Fazio E, Cravana C, Ferlazzo AM. Effects of partial versus complete separation after weaning on plasma serotonin, tryptophan and pituitary-adrenal pattern of Anglo-Arabian foals. *LivestSci*. 2017;198(May 2016):157-161. doi:10.1016/j.livsci.2017.02.025
37. Adams & Stashak: *Claudicaciones en Equinos. libro*