

Interacciones entre el metabolismo y la reproducción en la vaca lechera: es la actividad gluconeogénica el eslabón perdido?

Rubén D Galvis Góez¹, Zoot; Hector J Correa Cardona², Zoot, MSc.

¹Estudiante de Maestría en Bioquímica Nutricional, Corporación Ciencias Básicas Biomédicas, Universidad de Antioquia. ²A.A. 1226* Profesor Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

(Recibido: 31 julio, 2001; aceptado: 30 septiembre, 2001)

Resumen

Los sistemas especializados de producción lechera en Antioquia presentan alta incidencia de problemas de tipo metabólico, reproductivo y nutricional, caracterizados estos últimos por deficiencias de energía y fibra y excesos de proteína cruda. Con este artículo se propone un modelo de sucesión de eventos, sustentado sobre evidencias experimentales, que podría explicar en buena medida la naturaleza de las interacciones nutricionales, metabólicas y reproductivas en las vacas en lactancia temprana. La absorción intestinal de glucosa en los rumiantes es muy baja debido a que la fermentación ruminal condiciona su disponibilidad. Dado que la glándula mamaria es capaz de utilizar glucosa en presencia de bajas concentraciones de insulina, y debido a las altas demandas por glucosa para la producción lechera, esta afecta la glicemia, la cual debe estabilizarse por incremento en la tasa de gluconeogénesis y por disminución en las tasas de oxidación de la glucosa. La capacidad de repuesta metabólica ante la reducción de la glicemia se puede ver disminuida por la exagerada movilización lipídica y el exceso de proteína cruda en la dieta. Se ha encontrado que en vacas con lipidosis hepática, la actividad de las enzimas claves de la gluconeogénesis fue más baja que en las vacas sanas. Se conoce que el ciclo de la urea está sujeto a saturación y por lo tanto es de esperar que las altas concentraciones de amoníaco presentes en el hepatocito alteren las condiciones químicas de éste, desfavoreciendo la actividad normal de la gluconeogénesis. Trabajos recientes demostraron que In vitro, la adición de cloruro de amonio (NH₄Cl) a hepatocitos ovinos disminuyó la tasa de gluconeogénesis. Los problemas de infertilidad pueden tener origen en la reducida capacidad gluconeogénica. En los resultados reportados se observan valores bajos de glicemia, lo que sugiere que los mecanismos que permiten el mantenimiento normal de la glicemia están fallando. En rumiantes el principal factor que regula la insulínogénesis es la glicemia. Tanto la glucosa como los esqueletos carbonados de aminoácidos e insulina o el factor insulinoide de crecimiento tipo 1 (IGF-1), pueden modular la tasa de ovulación independientemente de las concentraciones plasmáticas de la hormona foliculo estimulante (FSH) por efectos directos en el ovario sobre el desarrollo folicular. Se propone entonces, que en la lactancia temprana se potencializan los factores hormonales que favorecen la baja concentración de insulina e IGF-1; éstos factores sumados a la coexistencia de factores adversos como la acelerada movilización lipídica y los excesos de amoníaco reducen significativamente la tasa de gluconeogénesis y por ende la glicemia, conduciendo en último término a una disminución marcada de las concentraciones plasmáticas de insulina e IGF-1, los cuales son factores de crecimiento ovárico.

Palabras clave: Fertilidad, Ganado lechero, Metabolismo, Nutrición.

Introducción

Los sistemas especializados de producción lechera en el departamento de Antioquia, Colombia, se localizan en su mayoría en los altiplanos norte y oriente cercano. Los últimos estudios descriptivos (9, 22) del modelo tecnológico utilizado en estas zonas arrojan resultados importantes acerca de la incidencia de problemas de tipo metabólico y reproductivo que podrían ser originados por un manejo nutricional inadecuado. Ambas regiones presentan condiciones bioecológicas comunes: zonas de vida comprendidas entre bh-MB (bosque húmedo montano bajo) y bmh-MB (bosque muy húmedo montano bajo), temperatura promedio entre 13 y 17 °C, topografía ondulada con suelos ácidos de relativa baja fertilidad y con textura franco arenosa.

Las características propias de los recursos alimenticios sumadas a su utilización inadecuada han originado en las vacas de este tipo de explotaciones una serie de desbalances nutricionales generalizados, caracterizados por deficiencia de energía, exceso de proteína cruda y nitratos (NO₃⁻), deficiencias de fibra, de Ca y de Mg y algunas veces excesos de P y K. De los demás minerales poco se conoce. Esta

Tabla 1. Indicadores metabólicos para los sistemas especializados en producción de leche en el municipio de Santa Rosa de Osos (Antioquia)

Periodo/ Indicador	Glicemia (mg/%)	Urea plasmática (mg/%)	AST* sérico (U/l)	Bilirrubina sérica (mg/%)
<3 semanas postparto				
Promedio	26,5	24,9	82,3	0,2
Mediana (Me)	27	26,5	76,5	0,2
Valor de referencia	40	18-35	35	0,5
3-6 semanas postparto				
Promedio	36,8	42,6	72	0,1
Mediana (Me)	35	38,4	70	0,1
Valor de referencia	40	18-35	45	0,45
>6 semanas postparto				
Promedio	41,8	30,5	67,8	0,1
Mediana (Me)	43	32,2	72	0,1
Valor de referencia	40	18-35	≤ 35	0,30

AST* : Aspartato Succinil Transferasa
Adaptado de (9).

problemática se origina en las prácticas irracionales de manejo de las praderas como son la excesiva fertilización y períodos cortos de rotación de praderas, que da lugar a pastos con baja cantidad de materia seca, lo que puede condicionar el consumo de forrajes por el animal y favorecer el déficit energético. Recientemente (9) se han reportado algunos indicadores metabólicos alterados en la población bovina de esta zona, como se puede observar en la tabla 1.

Tratando de establecer relaciones de asociación entre los indicadores metabólicos y parámetros reproductivos deficientes (9), se encontró que un gran porcentaje de hatos con problemas reproductivos presentaban valores bajos de glicemia y bilirrubina, además de presentar valores plasmáticos de urea y Aspartato Succinil Transferasa (AST) superiores al valor de referencia (véase Tabla 2).

Al clasificar los hatos de acuerdo con el grado de alteración metabólica (9), se encontró que existe asociación entre parámetros reproductivos deficientes y el grado de alteración metabólica, medido como el

Tabla 2. Indicadores metabólicos y parámetros reproductivos para los sistemas especializados en producción de leche en el municipio de Santa Rosa de Osos (Antioquia)

Indicador/ Grupo de hatos	ERH<50 (% de hatos)	DA> Promedio (% de hatos)	IF<Valor de referencia (% de hatos)	%VP> Promedio (% de hatos)
Glicemia				
Normal	33	16,67	20	28,57
Baja	50	66,67	60	50
Sin datos	16,67	16,67	20	21,43
Urea				
Normal	25	25	30	21,43
baja	16,67	-	10	14,3
alta	41,67	58,33	40	42,3
Sin datos	16,67	16,6	20	21,43
Bilirrubina				
Normal	16,67	16,67	10	7,14
baja	66,67	66,67	70	71,43
Sin datos	16,67	16,67	20	21,43
AST				
alta	83,3	83,33	80	78,57
Sin datos	16,67	16,67	20	21,43

Abreviaturas : ERH :Estado reproductivo del hato
DA : Días abiertos
IF :Índice de fertilidad
%VP : Porcentaje de vacas problema

Adaptado de (9).

Tabla 3. Grado de alteración metabólica y parámetros reproductivos para los sistemas especializados en producción de leche en el municipio de Santa Rosa de Osos (Antioquia)

Grado de alteración / Grupo de hatos	ERH < 50 (% de hatos)	DA > Promedio (% de hatos)	IF < Valor de referencia (% de hatos)	%VP > Promedio (% de hatos)
En 1 indicador	10	-	10	-
En 2 indicadores	-	16,67	-	-
En 3 indicadores	60	25	40	100
En 4 indicadores	30	41,67	30	-

Adaptado de (9).

número de indicadores metabólicos alterados por hato. Estos resultados se presentan en la tabla 3. Como se puede observar en la tabla 3 la mayoría de los hatos presentan alteración en 3 o 4 indicadores, lo que dimensiona la magnitud del problema y sugiere la posible asociación entre parámetros reproductivos deficientes e indicadores metabólicos alterados.

Luego de analizar los resultados anteriores, es lógico pensar en la existencia de relaciones estrechas entre el desbalance nutricional, el desorden metabólico y los problemas de infertilidad en los hatos de los sistemas de explotación lechera especializada en los altiplanos norte y oriente de Antioquia. A continuación se hará énfasis en algunas evidencias experimentales que permiten una mejor aproximación teórica a la explicación de estas relaciones. Para hacer un análisis más integral acerca de esta problemática se deben considerar las relaciones suelo-planta-animal-hombre, pues cada uno de estos componentes tiene un papel preponderante en la explicación del fenómeno en estudio.

Niveles de fertilización y calidad nutritiva de los forrajes

La disponibilidad de minerales en el suelo, permite que la planta pueda sintetizar sus componentes estructurales y metabólicos; esto se ve alterado por los niveles de fertilización. Es bien conocido que en los sistemas especializados de producción lechera en los altiplanos norte y oriente de Antioquia se utilizan altos niveles de fertilización, que en muchos casos superan los 400 kg de N y 240 kg de P por hectárea por año (Comunicación personal. Sierra, JO. Profesor Universidad de Antioquia, 1999).

Los excesos de fertilización cambian radicalmente el balance de nutrientes de los pastos, como se observa

en los sistemas en mención, donde los pastos presentan un porcentaje promedio de proteína cruda del 24% (22). Es de esperar que los niveles energéticos también sean afectados por el nivel de fertilización. Ha sido demostrado (5) que la adición de dosis crecientes de nitrógeno (0, 100, 200, 400 kg/N/Ha) y dosis constantes de P₂O₅ (100kg) y K₂O (80kg) tienen efecto sobre la densidad energética de la materia seca del forraje. En este trabajo (5) se observó que la producción total de materia seca, el nivel de proteína cruda, la digestibilidad y los niveles de energía se incrementaron a medida que se incrementaba el nivel de N, sin embargo los valores de energía neta de lactancia y de energía metabolizable, calculados sobre la base del incremento en los valores de proteína y energía, decrecieron a medida que se incrementaron los niveles de fertilización nitrogenada.

Además del efecto de la fertilización sobre los niveles de energía, es posible que se presente una reducción significativa en el consumo voluntario de forraje debido a los bajos contenidos de materia seca. Se cree que el alto contenido de agua en los forrajes limita la capacidad de ingestión al ocupar un volumen mucho mayor. Es muy probable que la sumatoria de estos efectos conlleve a una reducción drástica en el consumo de energía metabolizable, favoreciendo el déficit energético.

Con respecto a los niveles de proteína cruda en los pastos de estos sistemas, se ha encontrado que ellos superan las necesidades para vacas lactantes de alta producción. Estudios realizados en Nueva Zelanda (19), describen como las praderas fertilizadas con nitrógeno contienen entre 25 y 30% de proteína cruda mientras que los requerimientos de proteína para vacas de alta producción están entre 18 y 19% (21). Este trabajo plantea que tales pasturas pueden tener

bajos niveles de carbohidratos fermentables (carbohidratos solubles (CS), fibra detergente neutra (FDN) y Pectina) y que bajo estas condiciones el exceso de proteína no puede ser utilizado por los microorganismos ruminales.

Excesos de proteína cruda y alteraciones metabólicas. Con niveles altos de proteína cruda y niveles bajos de carbohidratos fermentables se satura la capacidad de utilización del amoníaco por los microorganismos ruminales; el exceso de NH_3 pasa a la sangre y es transportado hasta el hígado para ser convertido en urea. Los excesos de NH_3 conducen a elevaciones en los niveles de urea en sangre, en orina y en leche como se demostró al alimentar vacas en diversas fases de lactancia con dietas que contenían 19 y 14% de proteína cruda y 72 y 52% de proteína degradable en rumen. En ambos grupos las concentraciones de urea en plasma, orina y leche se incrementaron con el nivel de proteína. Todas las asociaciones presentaron diferencias estadísticas a $P < 0,001$ (10).

Dadas las condiciones nutricionales preponderantes en los sistemas en estudio y la presentación de indicadores metabólicos alterados, como AST, bilirrubina, urea y glucosa en sangre, se puede plantear la existencia de alteraciones en el metabolismo hepático relacionadas con los desbalances nutricionales. Relaciones similares se han encontrado en otras latitudes (14) donde se ha observado que los excesos de proteína producen efectos más severos sobre el metabolismo que las deficiencias de proteína, puesto que muchas de las condiciones clínicas similares a la disfunción hepática observadas en ganado lechero han sido asociadas con excesos de proteína.

Este tipo de alteraciones es más común en vacas en lactancia temprana consumiendo dietas con baja energía y alta proteína, en las que las reservas corporales son movilizadas a una tasa exagerada y en las cuales la frecuencia de esteatosis es mayor; además, el tipo de proteína y su digestibilidad pueden conducir a una excesiva producción de amonio y el subsecuente riesgo de intoxicación con éste (17). Los problemas de infertilidad en el sistema en estudio parecen estar estrechamente relacionados con las alteraciones metabólicas: esto puede ser así teniendo en cuenta que el hígado de un animal sometido a condiciones metabólicas adversas, como son la excesiva cantidad de NH_3 , la continua gluconeogénesis

y la acelerada movilización y oxidación de lípidos, debe tener un riesgo alto de disfunción. Estos factores de riesgo se incrementan en la primera fase de lactancia y operan al máximo cerca del pico de producción; en este periodo se espera que la vaca realice la involución uterina y reinicie su actividad ovárica, lo que bajo estas condiciones puede ser difícil de lograr (17).

Excesos de proteína cruda: sus efectos sobre la fertilidad. Varios estudios han puesto en evidencia el efecto de los excesos de proteína sobre la reducción en la fertilidad. Tal es el caso de novillas sometidas a un exceso del 50% sobre los requerimientos de proteína degradable en rumen (1); todas las novillas tanto del grupo control como del grupo testigo fueron inseminadas por un mismo técnico y con el mismo eyaculado. Las tasas de concepción al primer servicio fueron de 83% para el control (15% PCr) y 62% para el grupo que recibió dieta alta en proteína (21% PCr). Puesto que esta investigación se realizó con novillas que, dada su condición de animales jóvenes, no habían sido sometidas a condiciones metabólicas adversas propias de la lactancia y además se controlaron los efectos de inseminador y de fertilidad del semen, se puede concluir que la disminución en la fertilidad puede ser atribuida al exceso de la fracción degradable de la proteína en el rumen.

Otro estudio más detallado sobre la asociación entre los niveles altos de proteína en la dieta y la reducción en la fertilidad fue citado por el mismo autor y permitió un acercamiento a las posibles explicaciones de estas relaciones. En este trabajo se encontró que las vacas alimentadas con mayor cantidad de proteína degradable en rumen tuvieron menor desarrollo folicular e intervalo más alto hasta la primera actividad luteal (25,2 vs 38,6 días), menos tejido luteal acumulado y menos progesterona plasmática, comparadas con las vacas que recibieron menor cantidad de proteína degradable en el rumen (1).

Se ha demostrado que los niveles de nitrógeno ureico en sangre (BUN) y de nitrógeno ureico en leche (MUN) están relacionados con los problemas de infertilidad. Los efectos de dietas altas en proteína cruda sobre la reiniciación de la actividad ovárica no son consistentes, aunque en muchas investigaciones las concentraciones bajas de progesterona plasmática en la lactancia temprana fueron asociadas con dietas altas en proteína (7).

Dada la importancia de la producción hormonal para el adecuado desarrollo folicular y viceversa, y apoyados en los resultados en los altiplanos norte y oriente de Antioquia (ciclos estrales irregulares), se podría plantear que una buena proporción de los problemas de infertilidad en el sistema estudiado tienen su origen en una baja producción hormonal, condicionada por una baja disponibilidad de sustratos para su síntesis y por condiciones metabólicas adversas.

Algunas observaciones (7) sugieren que el mecanismo potencial de reducción de la fertilidad, asociado con excesos de proteína dietética, está relacionado con los efectos sobre el medio ambiente uterino; niveles altos de proteína en la dieta ocasionaron cambios iónicos en la composición de los fluidos uterinos propiciando valores bajos de pH que interfirieron con la sobrevivencia del espermatozoide.

Con respecto a la influencia sobre la vida embrionaria poco se conoce, aunque en vacas sometidas a superovulación y dietas altas en proteína se observaron alteraciones en el número de embriones colectados y en otras medidas de la viabilidad del embrión (1). La mortalidad embrionaria temprana (día 7 de preñez) en vacas lactantes está asociada con concentraciones iónicas y proteicas diferentes en el ambiente uterino. Las vacas con dietas altas en proteína cruda presentan niveles altos de urea en las secreciones uterinas y alteraciones en la secreción de Mg, K y P durante la fase luteal. Otro autor (7), encontró degeneración temprana y desarrollo pobre de los embriones de vacas sometidas a dietas altas en proteína degradable en rumen (RDP). En este experimento el estado energético del grupo experimental y control fue diferente creando confusión sobre los resultados.

El pH uterino está inversamente relacionado con BUN. En cultivos de células endometriales se ha encontrado que las células se polarizan y establecen un gradiente de pH entre el compartimiento basal y el apical; éste gradiente de pH es sensible a estradiol y progesterona. La presencia de urea disminuyó significativamente los efectos de la progesterona en el mantenimiento de la diferencia de pH y aumentó la secreción de PGF_2 alfa y PGE_2 , lo cual posiblemente interfiera con el desarrollo y viabilidad del embrión (7).

Es probable que los dos mecanismos propuestos (sobre la actividad ovárica y sobre el ambiente uterino) como responsables de la reducción de la fertilidad, asociados con dietas altas en proteína, se presenten conjuntamente con intensidades variables, provocando una reducción variable en la fertilidad. La influencia de la nutrición sobre los problemas metabólicos y la fertilidad no se limita solo al balance de proteína, sino que involucra también al balance de los demás nutrientes. Puesto que en la problemática estudiada se observan balances energéticos negativos generalizados es necesario revisar algunos resultados que sugieren estas asociaciones.

Balance energético negativo y alteraciones metabólicas. La primera fase de la lactancia coincide con condiciones metabólicas adversas originadas en el déficit energético ocasionado por los bajos consumos de energía y la alta producción lechera. En esta fase de la lactancia normalmente se dan procesos catabólicos. Dependiendo de la severidad del déficit energético, el catabolismo puede alcanzar magnitudes exageradas y, si a él se suman los excesos de amoníaco, es probable que fenómenos que son fisiológicos se conviertan en patológicos. Este fenómeno puede ser el que suceda bajo las condiciones propias del sistema en estudio.

El balance energético negativo (BEN) provoca cambios en las concentraciones de glucosa y de las hormonas relacionadas con el metabolismo intermediario de la energía (19). En las vacas en lactancia temprana estos fenómenos son fisiológicos; en vacas sanas se ha encontrado que los valores de glucosa, triglicéridos y lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) son más altos en el periodo seco que en la lactancia temprana (un mes postparto) y en la lactancia tardía (cuatro meses postparto). Los niveles de colesterol y de lipoproteína de alta densidad (HDL) son más altos en la lactancia tardía (2). Estos resultados sugieren que las vacas en lactancia temprana y tardía pueden ser susceptibles a esteatosis por los bajos niveles de VLDL y glucosa y evidencian la susceptibilidad de las vacas en lactancia temprana a la hipercetonemia, por presentar los más bajos niveles de insulina.

Puesto que el BEN en la lactancia temprana se hace más marcado cuando las condiciones nutricionales son deficientes, en el sistema en estudio se observan déficits energéticos severos que provocan una exagerada movilización y oxidación lipídica,

denotadas en la acelerada pérdida de la condición corporal en la lactancia temprana. Aunque en el sistema en estudio no se conoce la variación de indicadores tales como cetonas, triglicéridos (TG), ácidos grasos libres (FFA) y colesterol-VLDL, se ha podido, determinar que el 95,7 % de los animales estudiados presentó niveles altos de AST (9), lo que sugiere un compromiso de la actividad hepática. El incremento de la actividad de AST y de los indicadores de alteración en el metabolismo lipídico, indican la presentación de esteatosis (25). Dadas las exageradas pérdidas de condición corporal concomitantemente con los niveles elevados de AST, es lógico pensar que en el sistema en estudio la esteatosis puede ser una condición patológica frecuente y que parcialmente puede ser responsable de los problemas de infertilidad.

Acelerada movilización y oxidación lipídica: su efecto sobre la fertilidad. La acelerada pérdida de condición corporal afecta el desempeño reproductivo debido a los efectos de la excesiva tasa de movilización de tejidos sobre la salud del útero y su motilidad, además está íntimamente relacionada con el balance energético negativo y sus efectos sobre la concentración de metabolitos que influyen el balance hormonal (30). Varios estudios sugieren la asociación entre la acelerada movilización y oxidación lipídica sobre la salud y fertilidad de las vacas. A continuación se consignan los resultados de algunos de ellos: La variación en VLDL, lipoproteína de baja densidad (LDL) y HDL en vacas sanas y en vacas con infiltración grasa en el hígado a intervalos regulares antes y después del parto presenta diferencias: se ha encontrado que los niveles de colesterol y fosfolípidos de la fracción VLDL se incrementan en las vacas sanas mientras decrecen en las vacas enfermas (4).

Un estudio que evaluó los niveles de VLDL y colesterol en vacas en lactancia temprana (20 - 25 días postparto), encontró que las vacas con mastitis, cojeras, y problemas reproductivos presentaron porcentajes más altos de grasa en leche que las vacas sanas; en las vacas con problemas reproductivos la grasa en leche fue de 5,1% comparada con 3,9% en las vacas sanas ($p < 0,05$); la concentración de colesterol-VLDL fue más baja ($p < 0,05$) en las vacas con mastitis, con cojeras, y con problemas reproductivos que en las vacas sanas (0.14, 0.16, 0.15 y 0.21 milimoles/litro respectivamente). Los autores sugieren que los niveles bajos de colesterol-VLDL pueden ser resultado de una gran acumulación lipídica

en el hígado y que los niveles hallados en los animales sanos se pueden deber a una mayor producción de apoproteínas (16).

Como se puede observar, los resultados de los estudios anteriores son consistentes en mostrar la asociación entre los bajos niveles de colesterol en la fracción VLDL y la presentación de problemas reproductivos. El metabolito lipídico más directamente relacionado con la función ovárica es el colesterol; esto se puede evidenciar en el efecto positivo del suplemento de grasa sobre el tamaño del folículo y la producción de progesterona (1). Sin embargo, la importancia de los niveles de colesterol en sangre sobre la funcionalidad ovárica aún no es clara, pues un trabajo reciente ha reportado que la función ovárica se afecta con los niveles de glucosa plasmática pero no con los niveles de colesterol plasmático (26).

Parece ser que la movilización lipídica exagerada repercute directamente sobre la actividad ovárica, pues se ha observado que las vacas que en las dos primeras semanas postparto presentan una relación FFA : triglicéridos mayor a seis (> 6), tienen niveles más bajos de progesterona entre los días 40 a 60 postparto, a la vez que presentan un mayor número de servicios por concepción (6). Estos autores concluyen que los desórdenes lipídicos alteran la producción de progesterona y los índices de fertilidad.

Los niveles de acetona en sangre y en leche parecen ser un buen indicador de oxidación lipídica que además en varios trabajos ha tenido una alta asociación con los desórdenes de fertilidad. Se ha observado que las vacas que presentan altos niveles de acetona en leche en el día 50 postparto, tienen menor tasa de concepción al primer servicio, comparadas con las vacas que presentan niveles bajos (17). En Europa se estudiaron 11690 lactancias para observar el efecto de los niveles de acetona en leche sobre la fertilidad, encontrando que las vacas que presentaron niveles más altos de acetona ($> 1,4$ milimoles/litro) presentaron un intervalo entre el parto y el primer servicio 4,9 días más largo y un riesgo de ovarios quísticos 5,7 veces mayor, comparadas con las vacas que presentaron los niveles más bajos de acetona (12). En la figura 1 se resume la sucesión de eventos de origen nutricional que afectan el metabolismo energético y proteico en vacas en lactancia temprana.

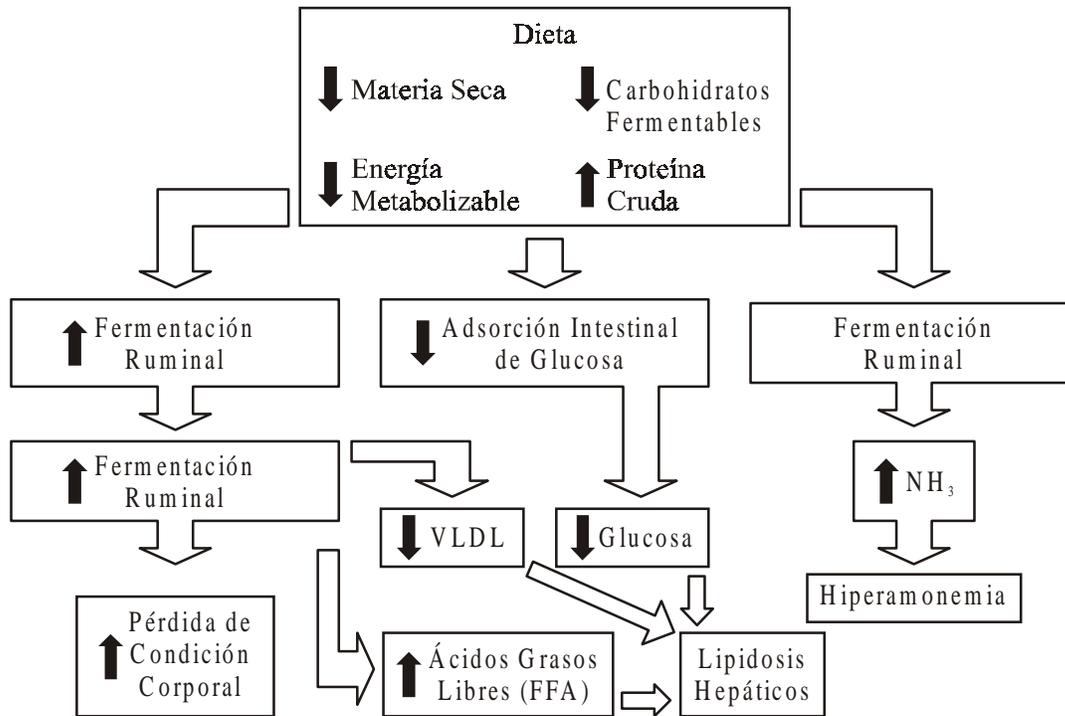


Figura 1. Sucesión de eventos de origen nutricional involucrados en el trastorno metabólico en vacas en lactancia temprana. ↑ Aumento ↓ Disminución

Balance energético negativo: sus efectos sobre el balance hormonal y la función ovárica. En los resultados reportados para el altiplano Norte de Antioquia (9) se observa que una gran proporción de los hatos presentaron bajos niveles de glucosa en todos los estadios de lactancia, siendo más bajos en las vacas que se hallaban en las tres primeras semanas postparto; estos hallazgos sugieren que bajo las condiciones nutricionales preponderantes en el sistema en estudio, no se satisfacen las necesidades mínimas de glucosa y precursores glucogénicos, debido a ello es de esperar bajas concentraciones plasmáticas de insulina (1).

Después del parto y durante el período de alta producción lechera y déficit energético, el útero, los ovarios y el eje hipotálamo-hipófisis deben restablecer su actividad. En este período se esperan la maduración hormonal del eje hipotálamo-hipófisis, cambios morfológicos e histológicos en el útero y el establecimiento de la nueva población folicular en el ovario que conducirá a la primera ovulación. Todo esto puede ser afectado por el BEN. Una combinación de efectos asociados con BEN incluye cambios en la concentración de hormonas y metabolitos circulantes que pueden interactuar con

los centros superiores del cerebro, hipotálamo e hipófisis (17).

El desarrollo folicular está relacionado directamente con el estado energético de las vacas en el postparto. La relación entre BEN y función ovárica se cree debida en parte a la secreción de LH. Los centros cerebrales superiores donde se estimula la secreción de LH son sensibles a los niveles de hormonas secretadas en ovarios y también al BEN. Se ha encontrado que el balance energético positivo al día 15 postparto incrementa los niveles de Hormona Luteinizante (LH) en sangre y el desarrollo folicular. El BEN ocasiona bajos niveles de progesterona, los cuales se asocian con baja fertilidad. Se cree que la baja producción de progesterona es debida a la alteración en la capacidad esteroidogénica del cuerpo lúteo (17).

Estudios en vacas lactantes sugieren que la liberación pulsátil de LH es restaurada después del nadir del BEN, además de que una demora en la respuesta ovárica puede ser dependiente de la disponibilidad de insulina y su relación con la disponibilidad energética (1). La subnutrición puede ocasionar fallas en los mecanismos que controlan el desarrollo folicular y la ovulación: se postula que en

casos de subnutrición se provoca inhibición de la producción alta, frecuente y pulsátil de LH, necesaria para estimular la secreción de niveles altos de estradiol y (o) la inhibición central de la onda de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRh) en respuesta a estradiol (15).

Con respecto a la influencia de la subnutrición sobre la producción de FSH, se plantea que los resultados de las investigaciones no son consistentes (14), aunque en vacas subalimentadas se ha observado bajo desarrollo y conociendo la importancia de la FSH en la estimulación del desarrollo folicular, en la inducción y en el mantenimiento de la actividad de la aromatasas, se puede suponer una influencia de la subnutrición sobre la actividad y/o producción de FSH y el consecuente desarrollo folicular (15).

La potenciación del mecanismo de retroalimentación negativo, mediado por estradiol, sobre la secreción de gonadotropinas, puede estar relacionada con el incremento en las concentraciones de esteroides libres (no ligados) en plasma, debido a la reducción del recambio metabólico o al reducido ligamiento proteico en el plasma. La capacidad reducida de ligamiento de la proteína(s) ligadora(s) de esteroides sexuales ha sido asociada con los bajos consumos de energía y con la supresión del incremento de la capacidad ligadora estimulada por la hormona del crecimiento y estradiol (15).

Según los autores revisados se concluye que la concentración plasmática de hormonas esteroideas que afectan la regulación por retroalimentación de la secreción de gonadotropinas o el mantenimiento de la preñez temprana es determinada no solo por los productos del ovario, sino también, por los factores que afectan el ligamiento proteico en el plasma o las tasas de despacho metabólico, las cuales pueden variar con el estado nutricional y lactacional.

Si los efectos nutricionales sobre el desarrollo y funcionamiento folicular en las especies monoovulares como son las vacas, son debidos simplemente a cambios en la secreción de gonadotropinas o involucran efectos locales entre el ovario mediados por hormonas metabólicas o factores de desarrollo, es desconocido. Sin embargo, todos los estudios en vacas muestran que los efectos de la subnutrición sobre el desarrollo y funcionalidad del folículo son similares a los ocasionados por una reducida secreción

de LH o FSH; aunque ninguno de estos estudios ha examinado si la nutrición puede modular la concentración de LH o FSH requerida para inducir estos efectos y, por tanto, la sensibilidad del ovario a la estimulación por gonadotropinas (15).

La acción gonadotrófica de LH y particularmente de FSH, se conoce que es modulada por otras hormonas y factores de crecimiento. Estos incluyen insulina, hormona del crecimiento (GH) e IGF-1, los cuales tienen un papel importante en el metabolismo energético intermediario y son nutricionalmente regulados por sí mismos. Se ha observado que en ovejas tanto la glucosa como los esqueletos carbonados de aminoácidos o insulina e IGF1 pueden modular la tasa de ovulación, independientemente de la circulación de concentraciones de FSH, por efectos directos en el ovario sobre el desarrollo folicular. Sin embargo, la mayoría de los estudios que soportan estas premisas, son derivados de estudios con especies polítoicas, lo que hace que estas aseveraciones con respecto a las vacas sean especulaciones (15).

Los autores citados en esta revisión han hecho énfasis en los efectos de los excesos de proteína cruda ó el déficit energético ó las alteraciones metabólicas sobre la fertilidad de las vacas en lactancia temprana. En el sistema en estudio concomitantemente se presentan excesos de proteína cruda, déficit energético y alteraciones metabólicas, lo que sugiere que la complejidad de estas relaciones puede alterar significativamente la dinámica y la severidad de sus efectos.

Gluconeogénesis: Importancia en el metabolismo del rumiante. El rumiante es un animal gluconeogénico por excelencia. La absorción de glucosa en éstos es muy baja debido a que la fermentación ruminal condiciona su disponibilidad. En vacas lactantes el hígado contribuye con el 80 al 90% de la gluconeogénesis y el riñón con el restante 10 a 20%, aunque en el estado de ayuno prolongado el riñón aumenta su participación. El principal precursor glucogénico en los rumiantes es el propionato, cerca del 90% del cual es removido de la sangre por el hígado. La utilización de propionato por el hígado y los patrones fermentativos pueden alterar la cantidad total de propionato disponible para gluconeogénesis (18).

En animales bien alimentados el glicerol suministra cerca del 5% de los substratos para gluconeogénesis,

pero en animales en ayuno prolongado suministra entre el 20 y 30%. En rumiantes alimentados para suplir solo las necesidades de mantenimiento, los aminoácidos, principalmente alanina y glutamina, suministran cerca del 15 al 32% de los sustratos para gluconeogénesis (18).

En animales en ayuno, si la hipoglicemia es aguda, el hipotálamo envía impulsos a la médula adrenal para secretar epinefrina incrementando la lipólisis. Si la hipoglicemia es crónica, la pituitaria secreta GH y Hormona Liberadora de Corticotropina (ACTH), lo cual origina incremento de glucocorticoides que favorecen la lipólisis y la proteólisis en músculo. Estos pueden favorecer la oxidación de FFA y cuerpos cetónicos más que de glucosa (18).

La gluconeogénesis se controla por el suministro de precursores y por el paso de precursores a través de transportadores mitocondriales. El suministro de propionato y aminoácidos en rumiantes aumenta la tasa de gluconeogénesis, en tanto que la disponibilidad de oxaloacetato limita la gluconeogénesis. El flujo de precursores para gluconeogénesis está sujeto al control hormonal; es así como el aumento de la relación glucagón : insulina ocasiona movilización de tejidos que suministran precursores para la gluconeogénesis (18).

El glucagón incrementa la entrada de glutamina, alanina y lactato al hígado y riñón, pero este control no se observa para propionato y glicerol. La membrana mitocondrial puede cumplir un importante papel en la regulación de la gluconeogénesis, puesto que se ha observado que el paso de piruvato a través de ésta es mediado por glucagón, epinefrina y cortisol; también se ha encontrado que éstos alteran la velocidad de las enzimas de gluconeogénesis, dado que el glucagón y los glucocorticoides la aumentan, pero la insulina la reduce (18).

Es bien conocido que la lactancia es un estado fisiológico que demanda grandes cantidades de nutrientes. La glándula mamaria es uno de los tejidos más altamente diferenciados y metabólicamente activos y la lactancia condiciona el flujo de nutrientes hacia ésta. Las hormonas pueden inducir cambios en enzimas claves del metabolismo y cambios en los receptores de membrana. Se han encontrado relaciones inversas entre niveles de insulina y

producción lechera (3). La insulina y GH rigen el flujo de nutrientes a la glándula mamaria (18).

En la lactancia se altera la partición de nutrientes entre los tejidos, lo cual se cree que es debido a los cambios en glucosa, insulina y tiroxina. La mayor entrada de nutrientes a los tejidos observada en vacas alimentadas con alimentos concentrados se puede deber a los niveles elevados de insulina y glucosa, los cuales son los factores cruciales para el mantenimiento del balance de tejidos en vacas lactantes. En la lactancia hay menos insulina y glucosa y se reduce la sensibilidad de los islotes pancreáticos a glucosa, lo que explica el origen del BEN. La cinética de la glucosa debe variar y debe estar determinada por los niveles hormonales de insulina y glucagón y la sensibilidad específica de cada órgano a estos (18).

La producción lechera demanda altas cantidades de glucosa y la glándula mamaria es capaz de utilizar glucosa con bajos niveles de insulina, lo que sumado al incremento de glucagón luego del parto favorece la toma y utilización de glucosa por ésta. La leche contiene 90 veces más azúcares que la sangre, pero la producción de lactosa utiliza desde el 60 al 85 % de la glucosa del metabolismo total en animales de mediana a alta producción. La glucosa suministra los equivalentes reductores necesarios para la síntesis de ácidos grasos en tanto que para la formación de triacilglicéridos aporta el glicerol. Dado que la glándula mamaria es capaz de utilizar glucosa con bajos niveles de insulina, y dadas las altas demandas de glucosa para la producción lechera, la toma de glucosa por la glándula mamaria afecta la glicemia, la cual debe estabilizarse por incremento en la tasa de gluconeogénesis, así como por la disminución en las tasas de oxidación de la glucosa (18).

En los resultados encontrados para el altiplano norte de Antioquia (9), se observa como las vacas del sistema en mención presentan bajos niveles de glicemia, lo que sugiere que los mecanismos que permiten el mantenimiento de la glicemia normal están fallando.

Aunque los rumiantes toleran largos períodos de hipoglicemia (hasta 18 mg/%) sin que se comprometa su funcionamiento cerebral, estos tienen mecanismos de control necesarios para el mantenimiento de la glicemia normal (40 - 60 mg/%). Algunas evidencias experimentales demuestran estos mecanismos. Por estudios con animales hipoglicémicos se ha observado

que la inyección intravenosa de 200 gramos de glucosa provoca la siguiente partición de glucosa entre los tejidos: 20g se excretan en orina (posiblemente debido a la saturación del umbral renal tras la inyección), 40g se distribuyen en la circulación sanguínea y 140 gramos se emplean para la síntesis del glucógeno hepático. La glucosa no se desvió hacia la glándula mamaria y el cerebro. Como puede observarse, en animales hipoglicémicos la prioridad de partición de la glucosa se dirigió a restablecer los niveles de glicemia y de glucógeno hepático (18).

Se ha demostrado que novillas sujetas al efecto de florizina, un secuestrante de glucosa a nivel renal, aumentaron la tasa de gluconeogénesis en respuesta a este tratamiento. De igual forma vacas lactantes tratadas con florizina y alimentadas constantemente, adaptaron su metabolismo a corto plazo al incremento en la demanda de glucosa sin disminuir la producción lechera. Este autor sugiere que el incremento en la gluconeogénesis en respuesta a florizina puede acompañarse de una reducción en la oxidación periférica de glucosa, un aumento en el catabolismo de aminoácidos y un aumento de la lipólisis (23). Ante el incremento en la demanda por glucosa parece ser que el animal no solo adapta las tasas de oxidación de substratos alternativos sino también la expresión de las enzimas de gluconeogénesis. Es así como recientemente se ha demostrado que la expresión de los mRNA para fosfoenol piruvato carboxikinasa (PEPCK) y piruvato carboxilasa (PC) fueron acordes y sincrónicos con la demanda esperada de glucosa, la disponibilidad de precursores gluconeogénicos y la disponibilidad de substratos para oxidación en el hígado de vacas en la lactancia temprana (11); este estudio, sin embargo, no estableció ningún tipo de análisis que permitiera determinar cual debe ser la magnitud del aumento en la expresión de estas enzimas en función a las necesidades de glucosa asociadas a la lactancia temprana.

Según las evidencias experimentales descritas, los animales lactantes tienen la capacidad de adaptar su metabolismo a las demandas altas de glucosa sin alterar significativamente su estado fisiológico. Parece ser que en el sistema en estudio, este tipo de adaptaciones metabólicas no se corresponden con la demanda de glucosa, lo que puede explicar los bajos niveles de glicemia.

Capacidad gluconeogénica: Su sensibilidad a las alteraciones metabólicas. La capacidad de

repuesta metabólica ante las bajas concentraciones de glucosa plasmática se puede ver disminuida debido a diversos factores adversos que coexisten en las vacas del sistema en estudio, tales como la exagerada movilización lipídica y el exceso de proteína cruda.

Por estudios con vacas con lipidosis hepática en la lactancia temprana, se ha encontrado que la actividad de las PEPCK y fructosa 1-6 difosfatasa (F1-6dPasa) es más baja que en las vacas sanas, aunque la actividad de la enzima glucosa 6 fosfatasa (G6Pasa) fue mas baja en las vacas sanas. Los autores concluyen que la lipidosis hepática altera la cinética de las enzimas de la gluconeogénesis (29).

Con respecto al efecto de altas concentraciones de amoníaco y/o urea sobre la actividad gluconeogénica poco se conoce, aunque se sugiere la coexistencia de altas concentraciones de amoníaco y urea con bajos valores de glicemia (9). Se conoce que el ciclo de la urea está sujeto a saturación y por lo tanto es de esperar que las altas concentraciones de amoníaco presentes en el hepatocito alteren las condiciones químicas de éste, desfavoreciendo la actividad normal de la gluconeogénesis. Recientemente se ha demostrado *In vitro*, que la adición de 2,5 mM de NH_4Cl a hepatocitos aislados de ovejas sometidas previamente al efecto hipoglicémico de florizina, disminuyó la conversión de propionato y alanina a glucosa (24).

En cuanto a la relación existente entre la expresión de enzimas de gluconeogénesis, PEPCK y PC y del ciclo de la urea, ornitina transcarbamilasa (OTC), y arginosuccinato sintetasa (AS), en respuesta al aumento de la proteína no degradable en el rumen en vacas en la lactancia temprana, resultados recientes (13) sugieren que la expresión de mRNAs para PEPCK y para PC aumentan en respuesta al inicio de la lactancia, pero los mRNA para OTC y AS no se aumentan en respuesta a la proteína no degradable en el rumen, lo que sugiere serias limitaciones en la adaptación del ciclo de la urea que bajo estas condiciones fisiológicas representa un alto riesgo de intoxicación con amonio dada la continua generación de este por desaminación de aminoácidos gluconeogénicos así como por la continua entrada de amonio al hepatocito generado en la fermentación ruminal, que bajo nuestras condiciones de producción es de esperar se encuentre a altas concentraciones. Sin embargo, es necesario considerar que bajo estas

condiciones existe la posibilidad que el amonio se ligue al α -cetoglutarato par formar glutamato y posteriormente, glutamina, la que vía sanguínea llega hasta los riñones y por reacciones inversas, el amonio se libera como tal y es excretado en la orina.

En mamíferos no rumiantes se ha puesto en evidencia que IGF-1 estimula la actividad gluconeogénica; cabe preguntarse el tipo y complejidad de los mecanismos que operan en vacas en lactancia temprana dado el balance hormonal y las condiciones metabólicas preponderantes. Debido a que IGF-1 opera a través de la transducción de señales por receptores de tirosina kinasa, la cual fue estudiada en diversos organismos incluyendo, levaduras, insectos y mamíferos y en los cuales resulto ser muy parecida siendo organismos tan diversos (27), es lógico pensar que en la vaca en lactancia temprana se puede presentar una reducción drástica en la actividad gluconeogénica debido a las bajas concentraciones plasmáticas de IGF-1 en este estado metabólico.

En la figura 2 se esquematizan los principales factores que pueden afectar la actividad hepática y por tanto la tasa de gluconeogénesis en vacas en lactancia temprana.

Metabolismo energético intermediario, balance hormonal y actividad ovárica. Los problemas de infertilidad observados en el sistema en estudio pueden tener su origen en la reducida capacidad gluconeogénica. Varios estudios sugieren que en rumiantes el principal factor que regula la insulinogénesis es la glicemia y que el propionato tiene un bajo poder insulinogénico (18). Por lo tanto bajos niveles de glicemia conducirán a bajos niveles de insulina plasmática.

Se conoce muy poco acerca de las vías específicas en las cuales la información acerca del estado nutricional es convertida en señales neuroendocrinas que afectan la secreción de GnRH. Los mecanismos propuestos incluyen los posibles papeles de las hormonas involucradas en el metabolismo intermediario, particularmente insulina. Recientemente con el descubrimiento de la leptina se ha abierto un nuevo campo de estudio para las relaciones entre el estado nutricional y la reproducción en la vaca lechera. La leptina se produce en el tejido adiposo y tiene efectos sobre el consumo de energía, la deposición de reservas, la liberación de LH y la respuesta a FSH y LH en células hipofisiarias y en células de la granulosa (8).

La biología de la leptina es un objeto de estudio bien importante en la vaca lechera debido a los fenómenos de movilización de tejido adiposo, depresión del consumo de energía y retardo en la actividad ovárica observados en la lactancia temprana.

La acción gonadotrófica de LH y particularmente de FSH, se conoce que es modulada por otras hormonas y factores de crecimiento. Estos incluyen insulina, GH e IGF-1, los cuales tienen un papel importante en el metabolismo energético intermediario y son nutricionalmente regulados por sí mismos. Se ha observado que en ovejas tanto la glucosa como los esqueletos carbonados de aminoácidos o insulina e IGF-1 pueden modular la tasa de ovulación independientemente de la circulación de concentraciones de FSH por efectos directos en el ovario sobre el desarrollo folicular (15).

Es posible que la relación insulina : glucagón, más que la insulina por sí sola, tenga efectos directos sobre el metabolismo intermediario y la reproducción. Varios estudios sugieren que las dietas altas en proteína incrementan la producción de glucagón luego de su ingesta. El propionato también puede estimular la secreción de glucagón y se sugiere que la proporción entre ácidos grasos volátiles altera la relación insulina : glucagón. Se conoce que el pico de producción de insulina se alcanza 10 a 30 minutos luego de la ingesta (19); si a la par la dieta origina picos de insulina y por su alto nivel proteico, picos de glucagón, es de esperar que el efecto de la insulina se vea contrarrestado por el efecto de glucagón. Es posible que los picos de insulina más que su nivel constante estimulen la actividad ovárica.

En la lactancia parece ser que la relación GH : nivel nutricional, es inversa pero en ésta los niveles de GH no están ligados con el aumento del catabolismo. Con bajos planos nutricionales la actividad de IGF-1 es baja, así la GH esté presente en niveles altos. Niveles altos de GH se asocian con mayor producción láctea, posiblemente debido a la reducción de ACTH e IGF-1 que impide que los nutrientes sean desviados preferencialmente a los tejidos extramamarios. Los bajos niveles de glucosa favorecen la baja producción de IGF-1 y por ende la potenciación de GH en glándula mamaria (19).

En la figura 3 se resume la sucesión de eventos de origen metabólico involucrados en el balance hormonal y la actividad ovárica en vacas en lactancia temprana.

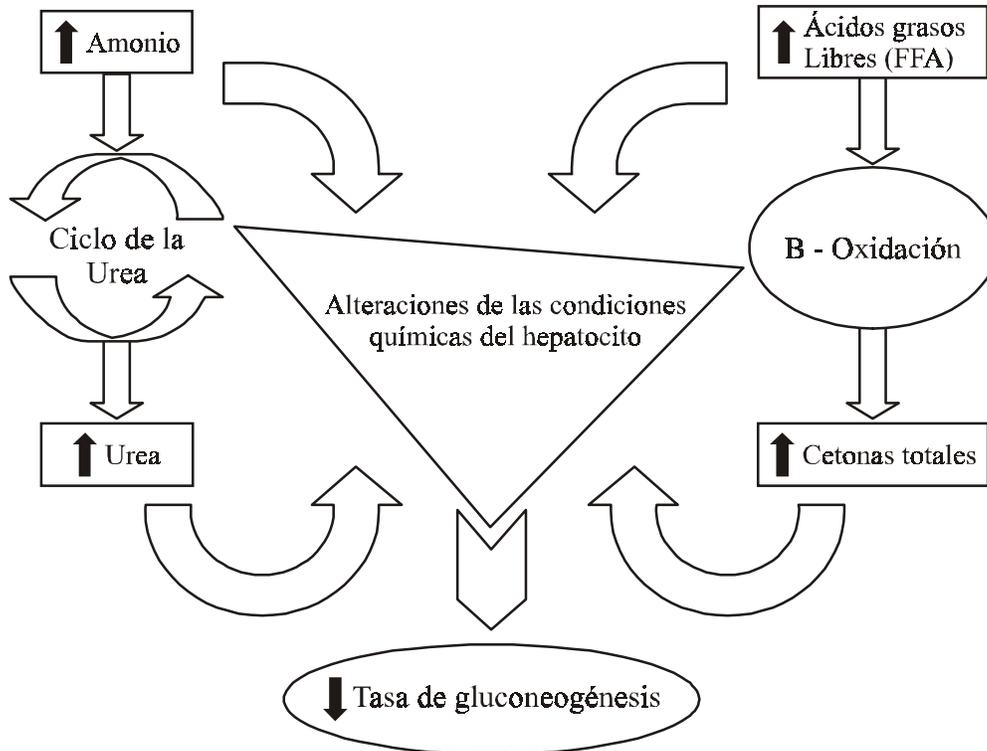


Figura 2. Efecto combinado de las alteraciones metabólicas sobre la actividad gluconeogénica en vacas en lactancia temprana. ↑ Aumento ↓ Disminución

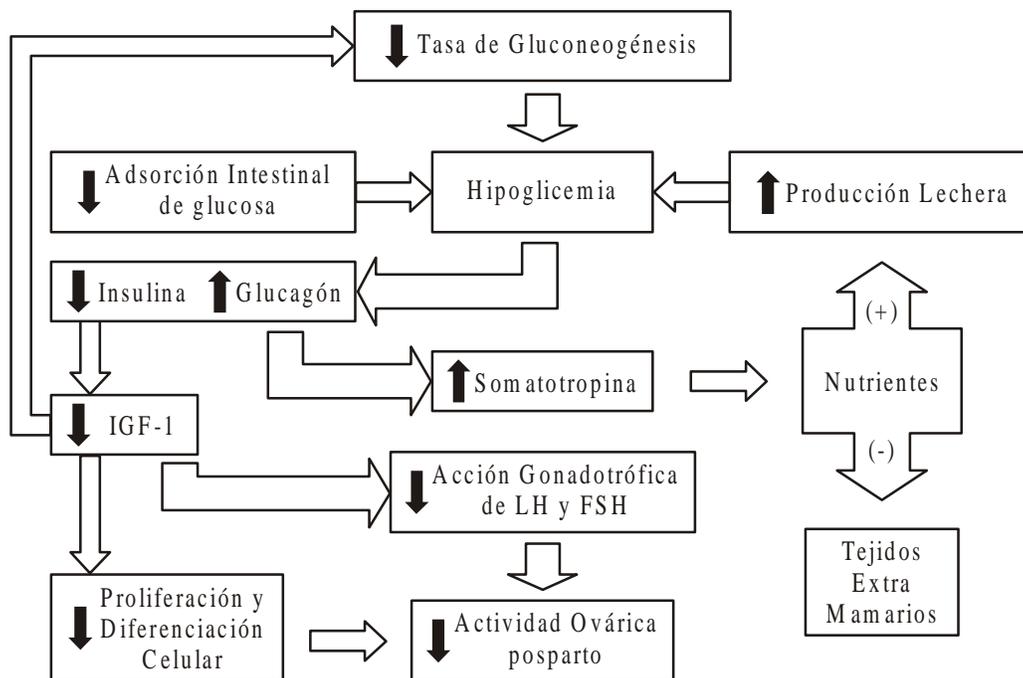


Figura 3. Sucesión de eventos de origen metabólico involucrados en el trastorno reproductivo en vacas en lactancia temprana. (+) Flujo positivo. (-) Flujo negativo

3. Planteamiento del modelo

Apoyado en las evidencias experimentales citadas anteriormente, a continuación se presenta un marco conceptual que pretende plantear un modelo de sucesión de eventos, que podría explicar en parte la reducción en la fertilidad observada en las vacas en lactancia temprana, en los sistemas especializados de producción lechera en Antioquia.

En la lactancia temprana se potencializan los factores hormonales que favorecen la baja concentración de insulina e IGF-1; estos factores sumados a la coexistencia de factores adversos como la acelerada movilización lipídica y los excesos de amoníaco, que posiblemente reducen significativamente la tasa de gluconeogénesis y por ende la glicemia, conducen en último término a una disminución marcada en los niveles de factores de crecimiento ovárico como son la insulina e IGF-1,

provocando reducción en la fertilidad. El modelo propuesto se esquematiza en la figura 4.

El conocimiento de los mecanismos metabólicos por los cuales se altera la eficiencia reproductiva en las vacas lecheras es de suma importancia, puesto que sólo a partir de éste se pueden plantear soluciones a dicha problemática, desde el manejo nutricional y el monitoreo del metabolismo. Los sistemas especializados de producción lechera en Antioquia presentan bajas eficiencias tanto biológicas como económicas, causadas en parte por la alta dependencia de insumos externos al sistema, como también por las bajas eficiencias reproductivas. Dado que la producción lechera es un fenómeno dependiente de la reproducción es bien conocido que toda mejora en la eficiencia reproductiva conducirá a aumentar la producción acumulada de leche por vaca, por lo tanto una de las estrategias a seguir para mejorar la eficiencia de éstos sistemas, consistirá en conocer los mecanismos para incrementar la eficiencia reproductiva.

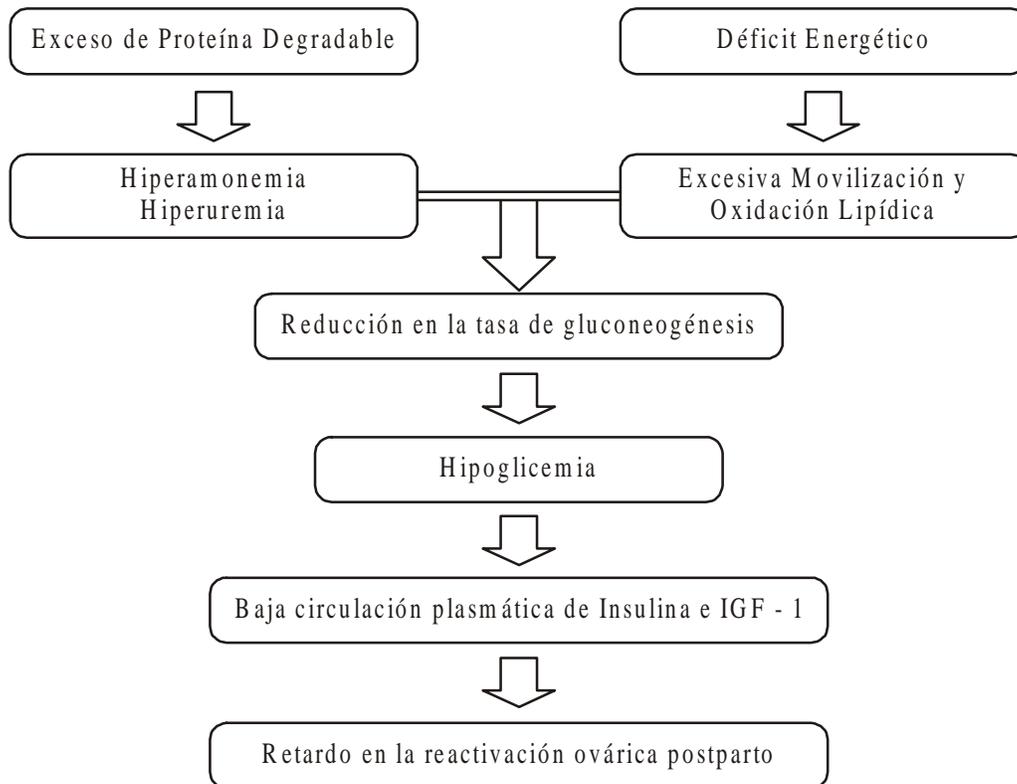


Figura 4. Modelo hipotético para las interacciones entre nutrición, metabolismo y fertilidad en vacas en lactancia temprana.

Agradecimientos

¹El autor expresa sus sentimientos de gratitud y admiración al profesor Hemerson Moncada Ángel por la valiosa revisión de este manuscrito y por el apoyo y testimonio de maestro durante su formación.

Summary

Interactions between metabolism and reproduction in dairy cows: is gluconeogenic activity the lost link?

The specialized systems of milk production in Antioquia, Colombia exhibit a high incidence of metabolic, nutritional and reproductive disorders, whereas the nutritional ones are characterized by energy and fiber deficits and by excesses of crude protein. This review proposes a model of sequence of events supported on experimental evidences which can explain in a good manner the nature of the nutritional, metabolic and reproductive interactions in the cows in early lactation. The intestinal absorption of glucose is very low in ruminants because of its disponibility is conditioned by ruminal fermentation. Given the mammary gland is able to use glucose under low insulin concentrations and that the demands of glucose for milk production are very high, the effect on the glicemia must be stabilized through an increase in the gluconeogenesis and decrease in the glucose oxidation rates. The capacity of metabolic response to the glicemia reduction could be diminished by exaggerated lipid mobilization and by excess in crude protein. In cows with hepatic lipidosis it was found that the activity of key enzymes for gluconeogenesis was lower than in healthy cows. It is also know that the urea cycle is submitted to saturation, and it is therefore expected that the high ammonia concentrations, present in the hapatocyte will alter its chemical conditions, affecting the normal gluconeogenesis. Recent work demonstrated in vitro that the addition of NH_4Cl to ovine hepatocytes decreased gluconeogenesis rate. So the infertility problems could origin from the reduced gluconeogenic capacity. Reported results show low glicemia values and this suggest that the mechanism which permit the maintenance of the normal glicemia are failing. The main factor regulating insulinogenesis in ruminants is glicemia. Both glucose and the carbonated skeletons of amino acids or insulin or Insulin-Like Growth Factor (IGF- 1), can modulate the ovulation rate, independent of the plasmatic concentrations of Follicular Stimulant Hormone (FSH), through direct effect on follicular development on the ovary. It is proposed then that during early lactation the hormonal factors that favours low concentrations of insulin and IGF-1 are potentialized; this factors and the coexistence of adverse ones, like the accelerated lipid mobilization and the excess of ammonia, significantly reduce the gluconeogenesis rate and thus glicemia, bringing at last to a marked reduction on the plasmatic concentrations of insulin and IGF-1, which are both factors of ovarian growth. This would explain the fertility decrease observed in milk cows in early lactation.

Key words: Dairy cattle, Fertility, Metabolism, Nutrition.

Referencias

1. Anzola HV. Relaciones entre la nutrición y la reproducción en ganado lechero. *Despertar Lechero*. 1993; 9: 5-17.
2. Basoglu A, Sevinc M, Ok M, Gokcen M. Peri- and postparturient concentrations of lipid lipoprotein, insulin and glucose in normal dairy cows. *Turk-Veterinerlik-ve-Hayvancilik-Dergisi*. 1998; 22: 141-144.
3. Bauman DE, Currie WB. Partitioning of nutrient during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorrhetics. *J. Dairy Sci*. 1980; 63: 1514-1529.
4. Bobowiec R, Filar J, Marczuk J, Kosior U. Periparturient changes in plasma lipoprotein composition in dairy cows. *Medycyna-Weterynaryjna*. 1997; 53: 734-738.
5. Braun B, Kolar I, Pozdisek J. Effect of different rates of nitrogen fertilizers on the nutrition and production characteristics of temporary grasslands. *Zivocisna-Vyroba*. 1996; 41: 455-459.
6. Bronicki M, Dembinski Z, Bronicka A. Effect of lipid metabolism disorders on the blood progesterone level in cows in the perinatal period. *Zeszyty-Naukowe-Akademii-Rolniczej-w-Szczecinie,-Zootechnika*. 1996; 33: 7-13.

7. Butler WR. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 1998; 81: 2533-2539.
8. Chemineau P, Blanc M, Caraty A, Bruneau G, Monget P. Sous-nutrition, reproduction et système nerveux central chez les mammifères: rôle de la leptine. *INRA Prod. Anim.* 1999; 12: 217-223
9. Gaviria BG, Gutiérrez HN, Molina SE, Ruiz MI, Tamayo PC, y col. Estudio de la infertilidad bovina en las zonas lecheras de Antioquia. U de A, Sec. Agric, ICA, Colanta. 1999. 100 p.
10. Gonda HL, Lindberg JE. Evaluation of dietary nitrogen utilization in dairy cows based on urea concentrations in blood, urine and milk, and on urinary concentration of purine derivatives. *Acta-Agriculturae-Scandinavica-Section-A,-Animal-Science.* 1994; 44: 236-245.
11. Greenfield RB, Cecava MJ y Donkin SS. Changes in mRNA expression for gluconeogenic enzymes in liver of dairy cattle during the transition to lactation. *J. Dairy Sci.* 2000; 83: 1228-1236.
12. Gustafsson AH, Emanuelson U. Milk acetone concentration as an indicator of hyperketonaemia in dairy cows: the critical value revised. *Anim. Sci.* 1996; 63: 183-188.
13. Hartwell JR, Cecava MJ and Donkin SS. Rumen undegradable protein, rumen-protected choline and mRNA expression for enzymes in gluconeogenesis and ureagenesis in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2001; 84 :490-497.
14. Hibbitt KG, Haresign W. Effect of protein on the health of dairy cows. En: Cole DJA (ed). *Rec. Develop. rumm nutri.*, vol 2. First ed, Oxford, 1988; 184-195.
15. Jolly PD, McDougall S, Fitzpatrick LA, Macmillan KL and Entwistle KW. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *J. Repr. Fertil. suppl.* 1995; 49: 477-492.
16. Kampl B, Zdelar F, Pracny G, Martincic T. Relationship between concentrations of fat in milk, and very low density lipoproteins cholesterol fraction in blood and incidence of productive diseases in dairy cows. *Veterinarski-Arhiv.* 1995; 65: 149-154.
17. Lucy MC, Thatcher WW, Staples RC. Postpartum function: Nutritional and physiological interactions. En: Van Horn, Wilcox CJ (ed). *Large Dairy Herd Management.* First ed, Champaign, 1992; 135-145.
18. Madsen A. Metabolism in liver cells. In: Riis PM. *Dynm. Biochem. Anim. Prod.* Amsterdam, Elsevier Science Publishers B.V., 1983. p. 53 - 74.
19. Miettinen PVA. Prevention of bovine ketosis with glucogenic substance and its effect on fertility in Finnish dairy cows. *Berl-Münch-Tierärzt-Wsch.* 1995; 108: 14-19.
20. Moller S. "Protein penalty" in cows consuming pasture. *Cattle Practice.* 1996; 4: 71; 7.
21. National Research Council. *The nutrient requirements of dairy cattle.* Sixth edition; Natl. Acad. Sci., Washington, D. C. 1989; 157p.
22. Osorio SF. Manejo nutricional de nuestros hatos lecheros. *Indust. Prod agrop.* 1994; 2: 4, 6-12 p.
23. Overton TR, Drackley JK, Otteman CJ, Beaulieu AD, Clark JH. Metabolic adaption to experimentally increased glucosa demand in ruminants. *J. Anim. Sci.* 1998; 76: 2938-2946.
24. Overton TR, Drackley JK, Otteman CJ, Beaulieu AD, Clark JH et al. Substrate utilization for hepatic gluconeogenic is altered by increased glucose demand in ruminant. *J. Anim. Sci.* 1999; 77: 1940-1951.
25. Pechova A, Illek J, Halouzka R. Diagnosis and control of the development of hepatic steatosis in dairy cows in the postparturient period. *Acta-Veterinaria-Brno.* 1997; 66: 235-243.
26. Rabiee AR, Lean IJ, Gooden JM, and Miller BG. Relationships among metabolites influencing ovarian function in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 1999; 82: 39-44.
27. Roskoski R. *Bioquímica.* Primera edición; McGRAW-HILL INTERAMERICANA, México DF, 1998; 560p.
28. Comunicación personal. Sierra, JO. Profesor Universidad de Antioquia, 1999.
29. Theera R, Wensing T, Geelen MJ. Effect of fatty liver on hepatic gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1999; 82: 500-505.
30. Titterton M. The interaction between energy balance, hepatic metabolism and return to cyclicity in dairy cows in early lactation: a review and report on recent studies. *J. Zimbabwe-Soc. Anim Prod.* 1994; 6: 3-14.