

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
DEPARTAMENTO DE PRODUCCION ANIMAL



MECANISMOS DE CONTROL DE LA GLUCONEOGENESIS EN LA VACA EN TRANSICION

WILMER ALFONSO CUERVO VIVAS
Ztc. Universidad Nacional de Colombia

MEDELLIN, JULIO 2009

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCION	1
CARACTERIZACION DE LA VACA EN TRANSICION	4
Periodo Seco Fresco	5
Periodo Seco preparto	7
Periodo Posparto Temprano	9
CARACTERIZACION DEL METABOLISMO ENERGETICO	12
Metabolismo de los Carbohidratos	13
Metabolismo de los lípidos	17
CARACTERIZACION DEL PROCESO DE GLUCONEOGENESIS	21
Causas y efectos de la Gluconeogenesis	22
GLUCONEOGENESIS HEPATICA EN VACAS EN PERIODO DE TRANSICION	29
Mecanismo de control de la Gluconeogenesis	34
<i>Control hormonal de la GNG</i>	35
<i>Control por precursores alimenticios</i>	36
<i>Control enzimático de la GNG</i>	38
• Papel de la PEPCK	40

Regulación de la expresión del mRNA de PEPCK	44
Regulación Transcripcional de la PEPCK	44
Factores limitantes de la GNG en el periodo de transición	45
NOCIONES PARA EL DESARROLLO DE MODELOS DE ALIMENTACION DE LA VACA LECHERA POSPARTO	47
BIBLIOGRAFIA CITADA	50

1. INTRODUCCIÓN

Las particularidades digestivas de los rumiantes hacen de su estudio un reto para las áreas de la nutrición, alimentación fisiología y endocrinología. Debido a estas características, la forma en que los nutrientes son digeridos, fermentados y absorbidos difiere en gran medida de los animales no rumiantes (Church 1988, Cunningham 2003). Parte de la explicación de estos cambios pueden explicarse por medio de teorías evolutivas, en el caso de la rumia se cree que los rumiantes (*Bos taurus* y *Bos indicus*) al ser animales pertenecientes al orden artiodáctilo y el suborden de los rumiantes, fueron y son típicamente pastoreadores (Lenstra et al 1999), sin embargo con el fin de evitar el ataque de depredadores en las sabanas debieron almacenar la mayor cantidad de forraje en su estomago, que eventualmente se especializo en este mecanismo generando divisiones en su cavidad estomacal y posteriormente en el retorno del material previamente digerido, de nuevo a la cavidad bucal. Este tipo de digestión he permitido que el principal sitio de fermentación y de absorción de nutrientes en el bovino sea el rumen (Church 1988).

Esta situación ha generado que la mayoría de los nutrientes de importancia para los tejidos del bovino, y especialmente la glucosa (y también los ácidos graso volatiles) sean absorbidos en su gran mayoría en la pared ruminal o sean utilizados para el metabolismo de las poblaciones microbianas que en el existen (Church 1988, Van Soest 1994, Cunningham 2003). Es por esto que la cantidad de azúcares (glucosa) provenientes de la dieta suministrada, que alcanzan al intestino es muy baja, además la absorción intestinal de glucosa en los rumiantes es muy baja debido a que la fermentación ruminal condiciona su disponibilidad (van soest 1994). La molécula de la glucosa es de vital importancia para el bovino, no solo por ser el metabolito clave en el metabolismo de la vaca (Correa 2001) sino porque se requiere para la síntesis de nutrientes vitales para la vida productiva y reproductiva del animal como los carbohidratos, los lípidos y las proteínas.

En vacas productoras de leche, el volumen de producción esta condicionado por la cantidad de lactosa sintetizada por el animal, este disacárido esta compuesto por una unidad de azúcares simples, glucosa y galactosa (Conn y Stumpf 2000, Cunningham 2003). De tal forma que en explotaciones con altos niveles de producción de leche, la disponibilidad de glucosa en el medio representa un interés especial, sin embargo la condición antes descrita cuenta con una ventaja importante y es el carácter independiente de la glándula que

produce la leche, la glándula mamaria. Este es uno de los tejidos que no depende de la cantidad de I₂ circulante para la toma de glucosa (Church 1988, Drackley et al 1999, González y Koenenkamp 2006) y puede tomar glucosa del medio incluso con bajas concentraciones de I₂, por ello de la baja cantidad de glucosa que esta disponible para la absorción intestinal y distribución a los órganos periféricos, una gran mayoría se dirige para la GM con el objetivo de sintetizar la lactosa y con ello determinar el nivel de producción de leche. Otro de los tejidos que presenta la condición de insulino - independencia es el útero gravido, de tal forma que La tasa de extracción de la glucosa por la glándula mamaria y el útero no varía en función de la concentración de insulina en la sangre pero si en función del nivel de producción de leche oscilando entre 25 y 50% (Brockman, 1993), además es importante indicar que estos dos procesos, la preñez (y específicamente la preñez tardía en el periodo de transición) y el inicio de la lactancia privilegian la toma de nutrientes (glucosa) para estos dos órganos, GM y útero (Bauman y Currie 1980).

Teniendo en cuenta todos los procesos que se llevan a cabo durante este periodo, mantener el nivel de glucosa (glicemia) resulta un mecanismo difícil de generar, por ello los bovinos se han generado diversas alternativas metabólicas para el mantenimiento de la glicemia y de los requerimientos de los tejidos periféricos (Church 1988, Conn y Stumpf 2000, Relling et al 2003). Uno de ellos, la cual es el proceso de la gluconeogenesis (GNG), el otro es la absorción intestinal, que como ya se discutió es limitante en bovinos. El proceso de la GNG permite la producción de glucosa a partir de precursores o sustratos no glúcidos o provenientes de la dieta, dentro de los cuales podemos citar el propionato (que es de baja disponibilidad en el periodo de transición), el ácido pirúvico o piruvato (PIR), el glicerol proveniente de la lisis de los triglicéridos (Conn y Stumpf 2000) e incluso los AA (Drackley et al 1999, 2001, 2009, Cunningham 2003). Este proceso se lleva a cabo principalmente en el hígado y en riñón (por medio del sustrato lactato). En rumiantes la GNG hepática es la principal fuente de glucosa (Church 1988, Correa 2001, 2004, Cunningham 2003).

En términos generales el proceso de la GNG es la vía metabólica inversa a la glicolisis, salvo 4 pasos que son irreversibles y requieren la activación de enzimas específicas que controlan esas conversiones, además es una vía de alto gasto energético. Se han realizado diversos trabajos en busca de determinar el comportamiento de estas enzimas que controlan el proceso de GNG, se han realizado (Galvis et al 2003, Govorko et al 2007) cuantificaciones de su RNA mensajero (mRNA) e incluso se ha llegado a medir la expresión del gen (Dobson et al 1992, Quinn 2005, Greenfield et al 2002) que codifica para estas enzimas, especialmente la fosfoenol-piruvato-carboxi-kinasa (PEPCK)

por ser la enzima limitante del proceso (Govorko et al 2007). De interés especial en la investigación animal y humana es la comprensión y sobre todo la investigación del modo y el control de la transcripción (regulación transcripcional) del gen que codifica para PEPCK.

Durante el periodo de transición existen varios fenómenos que limitan el proceso de la GNG, entre ellos tenemos el bajo consumo de materia seca (CMS) así como una baja concentración de I₂ plasmática (Drackley et al 1999, Galvis et al 2003) y un aumento drástico en los requerimientos nutricionales debido al mantenimiento de la preñez tardía y el inicio de la lactancia (Correa 2001, 2004). Es por esto que el metabolismo de la vaca en transición debe incrementar la tasa de GNG así como disminuir la tasa de oxidación de glucosa (Madsen 1983). Sin embargo por la ocurrencia de esos fenómenos en el periodo de transición, el metabolismo activa de igual forma la movilización excesiva de grasas desde el tejido adiposo (en forma de ácidos grasos no esterificados en paquetes denominados lipoproteínas) e incluso de proteína del músculo esquelético (Drackley et al 1999, 2001) con el fin de cubrir el déficit energético existente principalmente durante el posparto temprano, donde la disminución en el CMS es máximo y buscan activar el metabolismo hepático de las grasas (Cunningham 2003).

En síntesis, luego del parto y sumado esto a la iniciación de la producción de leche (la cual puede incrementar rápidamente), aumentan los requerimientos de glucosa para la síntesis de la lactosa de la leche (Church 1988, Correa 2001, Gonzalez y Koenenkamp 2006) y esto al mismo tiempo en el que el CMS es mínimo y la movilización de . Incluso Drackley (2000) afirmó que sin importar la cantidad de CHO dietarios suplidos al animal y los mismos sean fermentados en el rumen, una muy baja cantidad de glucosa se absorbe directamente en el tracto digestivo. Es por estas razones que la vaca lechera depende casi exclusivamente de la GNG desde propionato (Drackley 2009) para cubrir sus requerimientos, sin embargo esta molécula es escasa especialmente en el periodo de transición por lo anteriormente discutido. De esa forma la vaca lechera en transición debe recurrir a métodos como la movilización de AA o glicerol (desde músculo y tejido adiposo respectivamente) para contribuir a la síntesis de glucosa. Es por ello importante la formulación de planes o modelos de alimentación específicos para este grupo de vacas (García 2009), para evitar la aparición de estos desordenes metabólicos o en menor medida disminuir su nivel de incidencia en el hato lechero.

2. CARACTERIZACIÓN DE VACA EN TRANSICIÓN

Uno de los estados fisiológicos que presenta mayores retos metabólicos y fisiológicos en la vida productiva de una vaca lechera es el que se presenta en el periodo denominado de transición, que comprende el tiempo entre la tercera a cuarta semana antes del parto y la tercera o cuarta posparto (Stallings, 1998; Drakley, 1999). Los cambios fisiológicos constituidos por adaptaciones endocrinas y cambios en niveles hormonales durante la preñez tardía y la lactancia temprana, sumados a cambios nutricionales caracterizados por disminución en la ingestión de materia seca, generan una cascada de cambios metabólicos que mas tarde se verán evidenciados en movilización de reservas energéticas a partir del tejido adiposo y de glicógeno hepático, (NRC 2001).

Estos cambios tienen como objetivo preparar a la vaca para el parto y para la futura producción de leche. En este sentido numerosos autores han afirmado que, uno de los factores que más influye en el impacto de este periodo es la rapidez con la cual sucedan los cambios antes mencionados (Correa 2001) y la agudeza de los mismos. Si consideramos como periodo critico las 3 semanas pre y posparto es durante este tiempo que la mayoría de los desordenes de salud aparecen. De igual forma, comparado con otros periodos del ciclo de la lactancia es relativamente escaso el conocimiento de los procesos biológicos fundamentales durante el periodo de transición (Drackely 1999)

En los últimos años, se ha creado conciencia acerca de la importancia de este periodo de la vida productiva de la vaca, de tal forma que en algunas explotaciones especializadas se maneja el termino de "programa de vaca en transicion" y en las cuales la prevención económica de perdida por fallas en dichos programas son significantes y las mismas envuelven efectos a corto y largo plazo en componentes de la leche, incidencia y severidad de enfermedades, en el desempeño reproductivo subsecuente, en labores asociadas, tratamientos y costos (Eicker *et al*2003)

Ha sido amplia la investigación sobre la relación entre los desbalances alimenticios, metabólicos (hipocalcemia, cetosis, acidosis, desplazamiento de abomaso, laminitis), hormonales y la manifestación clínica de alguna afeccion como distocias, retención de placenta, mastitis, edema de ubre (Garcia 2009)

La mayoría de los autores coinciden en dividir el periodo de transición en tres periodos que coinciden con tres estados fisiológicos determinantes a saber, gestación (específicamente gestación tardia), parto y lactancia

(temprana). Algunos discriminan únicamente 3 etapas, Pre-parto, parto y post-parto (Andresen 2008), para otros autores el periodo de transición se compone del periodo seco preparto (tres últimas semanas preparto) y periodo posparto temprano (tres a cuatro primeras posparto) (Stallings, 1999; Drakley, 1999). Como también otros autores afirman que de igual forma las primeras semanas del periodo seco merecen atención especial y dicho periodo ha sido denominado periodo seco fresco (Kurz, 1998; Hutjens, 1999).

Estas diferencias en la división del periodo de transición pueden estar explicadas por consideraciones técnicas de las últimas décadas en las cuales se ha tomado conciencia de que las vacas en hatos de alta producción (principalmente en explotación intensiva), deben ser sometidas a un proceso de secado diferenciado en 2 etapas, la primera o secado propiamente dicho que se inicia unas 8 semanas antes del parto y termina unas 3 semanas antes del parto correspondería al denominado *periodo seco fresco* y el periodo de preparto que dura las 3 semanas previas al parto que sería equivalente al denominado *Periodo seco preparto*, estas dos etapas se diferencian fundamentalmente en sus necesidades de nutrición, alimentación y manejo (Andresen 2008).

Es claro hoy en día que el periodo de transición se compone de 3 etapas que se tendrán en cuenta para el presente análisis, así como los diferentes cambios y adaptaciones, endocrinas, hormonales, nutricionales y metabólicas que de igual forma serán descritas.

2.1 PERIDO SECO FRESCO.

Este periodo comprende desde el momento del secado hasta la tercera semana preparto y en el se empiezan a presentar fenómenos que desencadenaran en los principales cambios en todo orden. Uno de los principales problemas que inicia la cascada de trastornos metabólicos y nutricionales, radica en el manejo que se le da a la vaca recién seca. Normalmente las vacas de alta producción deben ser secadas utilizando varios métodos, el primero es reducir la producción láctea por medio del retiro de los suplementos concentrados (correa 2002), con este mismo objetivo son trasladadas a potreros con forrajes de menor calidad nutricional e incluso en algunas producciones se las pone en un corral adonde reciben los alimentos de peor calidad (incluso material mohoso y descarte del silo) del que se dispone en la finca (García 2009). De igual forma el tratamiento más común en vacas de alta lechería es el secado artificial, que tiene como principal objetivo evitar la aparición de infecciones y complicaciones preparto que puedan conducir a

mastitis, también tiene como objetivo asegurar el cese completo de la producción.

Teniendo en cuenta las interacciones fisiológicas de tipo-microbio sustrato, este tipo de manejo nutricional, genera en primer lugar un cambio en las poblaciones microbianas del rumen, especialmente aumentos en bacterias celulolíticas con disminución de bacterias amilolíticas debido al cambio en la dieta en donde desaparecen los suplementos concentrados. Explicado por el hecho de que normalmente con dietas a base de concentrados, el pH del rumen puede oscilar entre 5,5 y 6,5, mientras que con dietas basadas en forrajes, cabe esperar valores de 6.2 a 7.

El pH suele ser mínimo entre 30 minutos y 4 horas después del consumo de concentrado, reflejando el equilibrio entre la tasa de producción de ácidos, la llegada de tampones procedentes de la saliva y la presencia o liberación de tampones o bases del concentrado. En este sentido la digestión de la celulosa queda inhibida con un pH menor a 6, este pH bajo puede retrasar la fijación de los microbios a la celulosa, debido a la ausencia de compuestos que estimulan dicha fijación como bicarbonato o también la presencia de inhibidores de fijación como el almidón soluble (Church 1988). De tal forma que cuando estas condiciones cambian radicalmente como en el periodo seco fresco, las poblaciones (Amilolíticas, Celulolíticas principalmente) cambian de acuerdo al sustrato (forraje pobre sustituye a una dieta con suplemento concentrado) y a los cambios generados en el ambiente Ruminal (alteración en el patrón fermentativo), principalmente en el pH.

Otro de los cambios que se empieza a presentar en este periodo es el reajuste de tipo metabólico (que incluye diversos procesos homeorreticos) que se presenta debido al cambio en las condiciones del tracto gastrointestinal del animal, especialmente en el rumen, así como en el cambio de los productos de la fermentación en el rumen, especialmente en cantidades y tipos de AGV como el acetato ya que con una digestión intensa de celulosa (lo que ocurre normalmente con las vacas en el periodo seco fresco) por los microorganismos celulolíticos y fermentación de los carbohidratos solubles por las bacterias sacarolíticas, la producción de acetato Ruminal (Church 1988).

Cuando el rumen no ha sido preparado de forma adecuada se pueden observar distinto tipo de complicaciones pero las tres más frecuentes son la acidosis (clínica/subclínica), laminitis y desplazamiento de abomaso, La aparición de cualquiera de estas afecciones luego del parto lleva a menudo a problemas metabólicos (García 2009). Con el desarrollo de los capítulos posteriores se

explicaran mas específicamente los procesos metabólicos, nutricionales y hormonales que se presenta en este y en los otros periodos que componen el estado o periodo de transición en la vaca lechera.

Es en este periodo en el cual se deben realizar las acciones correctivas en el plan de alimentación y en el de manejo de las vacas. El principal objetivo de estas consideraciones apunta a preparar el rumen para la dieta postparto, mantener la calcemia (nivel de Ca en sangre) y fortalecer el sistema inmunitario, de esta forma tenemos que el objetivo central es prevenir tanto afecciones nutricionales como metabólicas y sanitarias (Goff y Horst 1997 citados por García 2009).

2.2 PERIODO SECO PREPARTO.

En este periodo los cambios antes descritos, continúan presentándose pero de una forma más critica, ya que al acercarse el parto y luego del mismo, la incidencia de desórdenes tales como hipocalcemia, retención de placenta, cetosis, mastitis y desplazamiento de abomaso, están muy asociados con el manejo y la alimentación de la vaca durante este periodo (Kurz, 1998; Goff y Horst, 1997 citados por correa 2002).

Como ya se ha mencionado anteriormente, a raíz del manejo tradicional que se tiene con las vacas secas en hatos de alta producción, se generan problemas de índole metabólico, hormonal e incluso anatómico (cambios en superficie de papilas Ruminales). Para tratar este tipo de problemas se tienen claros los objetivos a conseguir, como la adaptación de papilas a nueva dieta de lactancia, el mantenimiento del nivel de Ca, y el fortalecimiento del sistema inmunitario, adicionalmente para este periodo tan critico de la transición de la vaca, se deben tener en cuenta otras dos, el mantenimiento del nivel de energía en la dieta (balance energético) y el control sobre el consumo de materia seca (Hutjens 1999). Normalmente las vacas próximas al parto experimentan una disminución en el consumo de materia seca, condición que empeora cuando las mismas son trasladadas a potreros con forrajes de baja calidad o cuando son alimentadas con desperdicios (como en algunas explotaciones). Es por esto que una de las principales recomendaciones es que la dieta que se suministre en este periodo tenga características similares a las que tendrá la dieta posparto. En este sentido es aconsejable que a las vacas próximas se les suministre concentrado unas 3 semanas antes del parto (5 semanas antes en las vacas primíparas). La función es estimular el desarrollo de las papilas del rumen y optimizar el crecimiento de los microorganismos específicos encargados de degradar determinados nutrientes. Esta especificidad de determinados grupos microbianos hacia determinados

nutrientes lleva a la necesidad de que los alimentos a incluir en la dieta de las vacas próximas sean de características similares o aún los mismos que van a recibir las vacas una vez comenzada la lactancia (García 2009). En este respecto se ha determinado que al comparar el nivel energético de dietas preparto, las vacas con dieta energéticamente altas presentaron un consumo de energía y materia seca total mayor que dietas con concentración energética tradicional aunque se notó una depresión en consumo durante el día anterior al parto. (Moyá y Coppock 1997).

Uno de los aspectos que más influye en la serie de cambios observados y descritos en este periodo, es el cambio hormonal antes y en el momento del parto, que es en gran parte responsable de los cambios nutricionales y metabólicos y que además condicionara los cambios típicos del posparto temprano que a su vez determinarían de forma directa la producción y la rentabilidad de los hatos de alta producción.

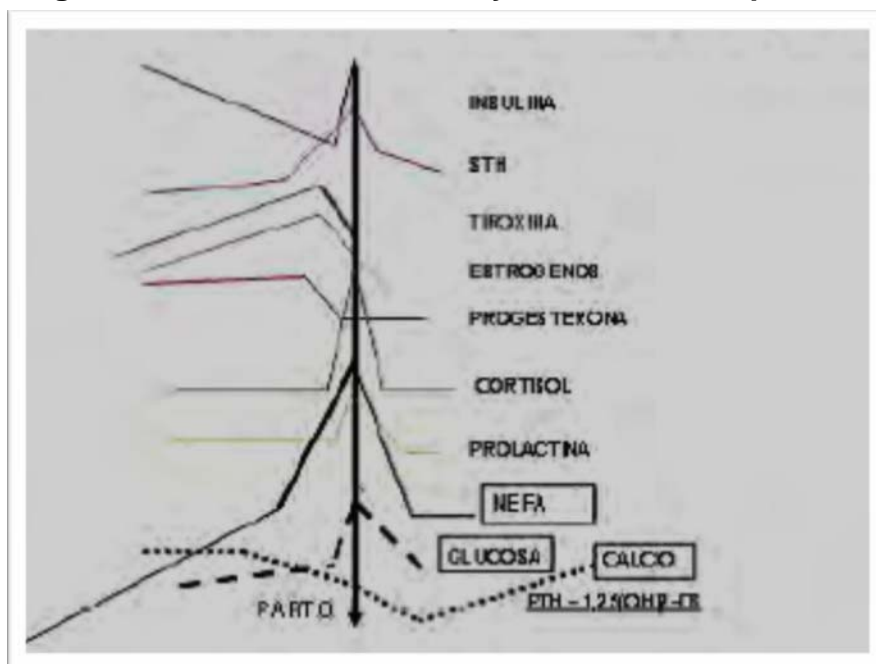
Dentro de las hormonas que presentan cambios importantes durante este periodo y en el momento del parto encontramos a la Insulina que tiene una disminución lineal aproximadamente desde el inicio del periodo seco y alcanza su punto más bajo unos días previos al parto, momento en el cual presenta un aumento brusco. Comportamiento distinto tiene la somatotropina (STH) que presenta niveles bajos durante el periodo seco para mostrar un aumento considerable en el momento del parto y luego una caída en su concentración. Lógicamente que la progesterona presenta una caída abrupta unos días antes del parto para mantenerse así durante toda la lactancia. Ciertas hormonas que tienen implicaciones específicas dentro del proceso del parto como los corticoides, por lo que presentan un aumento crítico durante el parto para disminuir después del mismo.

El otro cambio de tipo hormonal, lo constituyen las sustancias relacionadas con los cambios metabólicos como por ejemplo la glucosa sérica, que es un indicador específico de metabolismo. La concentración de esta sustancia en el periodo preparto es baja debido en parte a la menor disponibilidad de sustratos para su formación que a su vez se debe a la menor concentración energética de la dieta por un menor consumo característico en este periodo. En el mismo sentido los ácidos grasos no esterificados (AGNE o NEFA) presentan concentración anormal, lo cual indica el estado de balance negativo en el cual se encuentra el animal. La principal razón del aumento dramático de la concentración de este metabolito hacia el momento del parto es que existe una relación entre la disminución en el consumo antes del parto (periodo seco preparto) y la movilización de tejido adiposo. Este aumento en la movilización de grasa genera un aumento en dichos ácidos grasos y su concentración en

sangre. Adicional al aumento en AGNE, la incidencia de alteraciones de tipo metabólico (hígado graso, cetosis) cobran importancia durante este periodo, cambiando de esta forma el funcionamiento normal del hígado en las vacas. En este sentido recientemente se ha encontrado que la insulina, hormona que sufre un aumento importante durante el periodo seco hasta el parto, incrementa la proporción de toma de oleato y conversión hacia TG, en muestras cultivadas a partir de hepatocitos de terneros prurumiantes. De esta forma un efecto insulínico puede ayudar a explicar la alta incidencia del desarrollo de hígado graso en vacas que están sobrealimentadas en el periodo seco. (Cado'rniga-Valin', citado por Drckley 1999) Este tema será profundizado en capítulos posteriores.

Los principales cambios hormonales que se presentan en el periodo preparto y su consecuente comportamiento luego del mismo, se resumen en la siguiente grafica.

Figura 1 Cambios hormonales y metabólicos al parto



Fuente Andrensen S. 2008

2.3 PERIODO POSPARTO TEMPRANO.

Este periodo comprende el lapso de tiempo entre el parto y aproximadamente 3-6 semanas después. Los cambios que se empezaron a presentar al principio

del periodo de transición producen efectos presentados en este, como la disminución de consumo de materia seca que agudiza el efecto del balance energético negativo característico de los primeros estadios del posparto temprano. Un aspecto ampliamente citado por un gran numero de autores es que la vaca pasa de estar en preñez y sin producción de leche a estar vacía (esto es sin el feto) y produciendo grandes cantidades de leche. (Correa 2001, NRC 2001, S) el cual enmarca la cantidad y variedad de cambios característicos de este periodo.

Como se observa en la figura 1, al momento del parto los cambios hormonales son generalizados y dichos cambios generan una serie de alteraciones nutricionales (hipocalcemia, hipomagnesemia) y metabólicas (cetosis, edema de ubre, hígado graso) e incluso las disfunciones sanitarias y productivas, las cuales se presentan en su gran mayoría durante las 2 primeras semanas (Goff y Horst 1997, citado por correa 2001). Dentro de los cambios hormonales destacables encontramos los cambios en niveles séricos de estrógenos y corticoides alrededor del parto, los cuales no solo contribuyen a la disminución en el CMS sino también coordinan cambios metabólicos que favorecen si no es que fuerzan la movilización de reservas de grasa corporal por medio de los adipocitos (Grummer, 1995, citado por Block y Sanchez 2000).

En cuanto a niveles de metabolitos es necesario considerar el cambio radical en los niveles sericos de acidos grasos no esterificados (AGNE), los cuales después de un aumento importante 3 semanas antes del parto, sufren una caída dentro de las 2-3 primeras semanas posparto. Mientras que en el preparto (ultimas semanas preparto) los niveles altos de AGNE estaban relacionados con alta incidencia de cetosis, desplazamiento de abomaso y retención de placenta (Block y Sanchez 2000), en el parto y posparto temprano, se indica que incluso desde el primer día después del parto, se observa sintomatología del hígado graso (Grummer 1993) y que dicho hígado graso precede e induce la aparición de cetosis (Veenhuizen, Drackley, Richard, 1993) lo cual puede sugerir que el hígado esta propenso al aumento de la esterificación de AGNE y la deposición de tirgliceridos (TG) en este periodo. Sin embargo este tema se discutirá a fondo en el capitulo de metabolismo.

Otro de los aspectos estudiado en profundidad es la depresión (que viene desde antes del parto) en el consumo de materia seca. Es conocido que esta disminución en el consumo puede conllevar a una disminución de hasta el 1.4% del peso corporal en la primera semana posparto (sumado al hecho de bajas de peso de hasta 2% del peso corporal durante el periodo preparto) y la tasa de disminución del consumo de materia seca (CMS) puede ser de hasta 2.5kg/día por semana (Block y Sanchez 2000). Sin embargo dentro del mismo

grupo de vacas pueden presentarse variaciones en el CMS, así como la adaptación al periodo de lactancia, de hecho la variación en CMS durante la primera semana posparto puede ser de hasta el 30-40% mientras que la variación de CMS en el pico de lactancia puede ser de apenas 6-10%. La alta incidencia de alteraciones sanitarias en este periodo puede contribuir a esta alta variación del CMS al principio de la lactancia (Drackley 1999).

Dicha disminución en el CMS puede aumentar el efecto que tiene el balance energético negativo BEN durante las primeras semanas posparto en el animal. Sin restarle importancia a los otros factores que alteran el equilibrio hormonal, metabólico y nutricional del animal en el posparto, el fenómeno que produce gran parte de dichos desbalances y problemas es la aparición del balance energético negativo (BEN). Aunque algunos autores (Correa 2002, 2004, NRC 2001) afirman que este balance negativo no se trata únicamente de energía sino también de proteína y de minerales, ya que en este periodo los requerimientos nutricionales no solo de energía sino también de proteína y minerales del animal aumentan drásticamente debido al inicio de la lactancia, este hecho sumado a que el animal no está alcanzando dichos requerimientos por la disminución de CMS hacen que el desbalance se extienda a otros nutrientes.

Como se ha mencionado, la gran necesidad del animal por la producción de leche especialmente al inicio de la lactancia, hace que los requerimientos, especialmente de energía y específicamente de glucosa aumenten, razón por la cual el aporte de glucosa hacia la glándula mamaria debe ser mayor de lo normal, resultando en una menor disponibilidad de este nutriente para otros tejidos. Esta es una de las razones por las cuales se pueden presentar disfunciones metabólicas como cetosis (Herdt 2000, citado por Correa 2002). El transporte y la disponibilidad de nutrientes (incluyendo glucosa) está controlado de forma hormonal, metabólica e incluso nutricional.

Un fenómeno ligado a la aparición del BEN es la movilización de reservas desde tejido adiposo, muscular y en menor proporción el óseo, dicha movilización está motivada por el aumento brusco en los requerimientos nutricionales del animal para la producción de leche, y está a su vez altamente relacionada con la aparición de disfunciones metabólicas como el síndrome de hígado graso y cetosis. En cuanto a la incidencia de dichas alteraciones se ha descubierto en años recientes que la esterificación de ácidos grasos como el palmitato o ácido palmítico por parte del hígado (muestras de hígado) aumenta marcadamente incluso al primer día del parto (más que en días previos o posteriores al parto), incluso se ha encontrado evidencia en tejido hepático de rata que indica que la insulina aumenta la actividad de las enzimas

responsable de la formación de TG en el hígado, sin embargo no se conoce si la misma situación ocurra en vacas alrededor del parto. (Drackley 1999). Los detalles de adaptación del metabolismo al periodo de transición serán descritos en el capítulo de metabolismo.

3. CARACTERIZACIÓN DE METABOLISMO ENERGÉTICO

Normalmente en los sistemas de producción bovina especializados en leche (en donde la incidencia de problemas en el periodo de transición puede ser mayor) los animales no solo necesitan alimentos para su mantenimiento sino también para efectuar su trabajo productivo, es decir crecimiento, engrasamiento, gestación, lactancia. En este sentido se ha sostenido el alto valor que dentro de los costos de producción tiene la alimentación, de esta forma tenemos que; para un animal como un ternero el 45% de la energía consumida se pierde en forma de calor, otro 40% en forma de heces y un 10% como orina y gases combustible y únicamente un 5% persiste en el animal, demostrando el alto costo no solo económico sino biológico que tiene este nutriente en comparación con los otros, de allí su gran importancia (Church 1988).

Dentro del estudio del metabolismo de la energía se han descrito muchas definiciones y abreviaturas, esto en parte basado en el gran numero de estudios (compilados en modelos y sistemas como el NRC, ARC, Neozelandés) que convergen hacia una ley común de la energía denominada ley de Hess que sirve a su vez como base de la bioenergética, en dicha ley se establece (Blaxter 1962) que la energía no se crea ni se destruye aunque una forma de energía puede transformarse en otra, además que todas las formas de energía pueden ser convertidas cuantitativamente en calor.

A partir de esta ley se estableció aproximadamente en los años 60`del siglo pasado se estableció el reparto de energía tomando en cuenta el proceso digestivo donde del total de energía consumida, también denominada energía bruta (EB), una gran parte se perdía en las heces (EH) y de esa diferencia se obtiene el termino de energía digestible aparente (ED). Luego se estableció que después de este proceso se generaban mas pérdidas en forma de orina (EO) y de gases (EG), por lo tanto la energía restante luego de esto se denominó energía metabolizable (EM) (Church 1988).

Durante mucho tiempo se trabajo bajo esta terminología para expresar tanto los requerimientos energéticos del animal como los aporte de energía de los alimentos. Recientemente otros sistemas de alimentación (ARC, NRC) han

determinado una nueva terminología para expresar aporte y requerimientos introduciendo la unidad de energía neta (EN) y más específicamente la energía neta de lactancia (ENL) que expresa tanto el aporte como el requerimiento de energía para el mantenimiento y para la producción de leche (NRC 2001).

En general la división de energía metabolizable se divide o se dirige hacia varias funciones fisiológicas como el mantenimiento (que incluye la tasa metabólica basal, movimiento involuntario, mantenimiento de la temperatura corporal entre otros), ganancia de peso de los diferentes tejidos, gestación, gastos de lactancia y para actividad muscular (Church 1988)

3.1 METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS

El metabolismo de la energía enmarca una gran cantidad de procesos de alta incidencia en el estado de transición en las vacas lechera. Dentro del metabolismo de la energía podemos distinguir nutrientes de tipo energético, entre los cuales encontramos los carbohidratos, las grasas e incluso las proteínas, las cuales en condiciones extremas (movilización exagerada de tejidos como la que ocurre en el periodo fresco posparto) son utilizadas como fuente de energía. El metabolismo de cada una de estas moléculas difiere ampliamente, por lo cual a continuación se mostrara de forma general el mecanismo de cada una de ellas, haciendo énfasis en el metabolismo de los carbohidratos y de las grasas por tratarse de las principales fuentes de energía en el animal.

El metabolismo de los carbohidratos esta compuesto por varias vías metabólicas de importancia como la glicolisis (aeróbica y anaeróbica), la vía de las pentosas fosfato, el ciclo del ácido tricarboxílico, sin embargo es importante describir a grandes rasgos por el proceso fisiológico general así como realizar una descripción bioquímica de su estructura y función. Los carbohidratos (CHO) pueden definirse como polihidroxialdehidos o polihidroxiacetonas, o como sustancias que producen uno de estos compuestos al hidrolizarse. Muchos carbohidratos tienen la fórmula empírica $(CH_2O)_n$, donde n es 3 o un número mayor, lo que los puede definir como hidratos de carbono, sin embargo cuando se encontraron sustancias con propiedades similares pero que contenían nitrógeno, fósforo, azufre se obtuvo que la definición no era tan precisa, además azúcares de importancia como la desoxirribosa (presente en todas las células haciendo parte del ADN) tiene forma molecular $C_5H_{10}O_4$ en vez de $C_5H_{10}O_5$.

Los carbohidratos pueden dividirse en tres grupos (basados en criterios bioquímicos) principales como monosacáridos los cuales son azúcares de una sola unidad que no pueden hidrolizarse en unidades más pequeñas, oligosacáridos que son CHO compuestos por 2 a 6 unidades de azúcares simples, dentro de este grupo los de mayor importancia y abundancia son los disacáridos. El tercer grupo denominado polisacáridos corresponde a aquellos CHO compuestos por cientos y miles de unidades de azúcares, son denominados según su composición como homo-polisacáridos (cientos de unidades de un mismo azúcar simple) o hetero-polisacáridos (compuesto por dos o más tipos de azúcares). (Conn y Stumpf 2000).

Para el metabolismo energético en rumiantes los monosacáridos de mayor importancia son las aldopentosas (DL-Arabinosa y la D-Xilosa) las aldohexosas (glucosa, manosa, Galactosa) que regularmente también componen algunos polisacáridos de importancia, las cetoheptosas (D-Fructosa). Dentro de los oligosacáridos de importancia encontramos la sacarosa (unión de glucosa y fructosa), la maltosa (dos unidades de glucopiranosas), la lactosa también denominada azúcar de la leche (glucosa y galactosa) y otros de menor importancia como la rafinosa (trisacárido común en harinas de soya y de algodón es un azúcar no reductor) y la estequiosa (tetra sacárido presente en las semillas de soya, azúcar no reductor degradado únicamente por organismos microbiales del intestino de mamíferos) (Church 1988)

Teniendo en cuenta que en las lecherías especializadas en nuestro país (altiplano cundiboyacense y nariñense, norte y oriente antioqueño) basan la alimentación del ganado en forrajes y más específicamente en pastoreo al igual que en países como Uruguay, Argentina, Paraguay y Nueva Zelanda (Correa 2009), dicha estructura de alimentación se complementa en la mayoría de los casos con suplementación con alimentos balanceados animales (ABA) de tipo comercial. Los carbohidratos que aporta el forraje estarían divididos en CHO estructurales (CE), estos son los que se encuentran en la pared de las células vegetales y los CHO no estructurales (CNE) que corresponden principalmente a los que se encuentran en el contenido celular (citoplasma).

Dentro de los CE de importancia aportados por el forraje encontramos a la celulosa (homopolisacárido de glucosa con enlaces glicosídicos B 1-4) de gran importancia por su aporte como fibra digestible, hemicelulosa (formada por xilosa, manosa y galactosa, con enlaces B 1-4 y B 1-3) y las pectinas (que contienen arabinosa, galactosa y ácido galacturónico). Los microorganismos en el rumen permiten a la vaca obtener energía de los carbohidratos fibrosos (celulosa y hemicelulosa) que son ligados a la lignina en las paredes de las células vegetales. Adicionalmente existen otro tipo de compuestos como la

lignina (polifenol), presente en la pared celular que liga la hemicelulosa y la celulosa (Wattiaux *et al* 2000) y además parecen inhibir la degradación de los CE de los vegetales por los microorganismos del rumen (Harkin 1973)

Los CNE que aportan los forrajes están divididos en CHO solubles e insolubles, la mayor parte del aporte de CNE corresponde al almidon (homopolisacarido de glucosa) el cual aporta más del 50% de los CNE en el pasto Kikuyo (Fulkerson 1999), que es ampliamente utilizado en nuestras lecherías especializadas. Sin embargo otros autores (Kaiser citado por correa 2008) encontraron que una gran parte (>55%) de CNE esta compuesto por azucares solubles. A su vez el almidon esta constituido por dos unidades de homo-polisacáridos, la amilosa y amolipectina, de las cuales la ultima tiene mas ramificaciones con enlaces tipo α 1-6 que generan dichas ramificaciones. Otro de los CNE encontrados en forrajes corresponde a los fructosanos o fructanos.

Es de anotar que principalmente los polisacáridos como el almidon y fructosanos son CHO de reserva para el rebrote y su concentración desciende desde el rebrote, punto vital para tener en cuenta en nuestras lecherías especializadas en cuanto a la relación del tiempo en que están pastoreando los animales y el aporte de CNE del forraje.

Mientras que los aportes de los ABA en la dieta en cuanto a CHO corresponden principalmente a CNE tipo almidon y azucares simples que son altamente solubles y de rápida fermentación, razón por la cual el nivel de inclusión en la dieta debe ser cuidadosamente establecido ya que en dietas con altos niveles de ABA las poblaciones microbianas normales del rumen se pueden ver afectadas, debido a que la pauta de la digestión Ruminal y su regulación esta afectada directamente por la composición de la dieta, y a que los productos de la fermentación difieren según sea la composición de la dieta por que los distintos microbios tienen mayores afinidades y preferencias para digerir carbohidratos específicos (Church 1988).

El principal producto de los CHO aportados por la dieta es la glucosa obtenida por acción de grupos de bacterias amilolíticas y dextrinolíticas (*B. Amylophilus*, *S. Bovis*, *S. Amilolitica* y *S. Dextrinosolvens*), así como sacarolíticas (*B. Ruminicola*, *B. Fibrisolvens* y *S. Ruminantium*) y celulolíticas (*B. Succinogenes*, *R. Albus* y *R. Flavefaciens*) (Church 1988). De igual forma es importante señalar que bajo ciertas circunstancias (tratamientos previos del almidon dietario) uno de los productos de la digestión de los CHO es el almidon resistente al ataque Ruminal, el cual pasa al intestino.

La posterior fermentación de la glucosa y de otros monosacáridos tiene lugar principalmente mediante el ciclo de Embden-Meyerhof (glicolisis). En dicho ciclo se realiza la conversión de una molécula de hexosa (glucosa) en dos moles de piruvato, dicha conversión produce a su vez 2 moléculas de ATP (adenosin trifosfato) y dos moléculas de NADH₂ (nicotinamida adenina dinucleotido reducido) (Church 1988). Son precisamente las moléculas de ATP las que son utilizadas como fuente de energía para el crecimiento y mantenimiento de las bacterias Ruminales. En general los microorganismos realizan la descomposición desde polisacáridos hasta unidades de glucosa y algunas de maltosa y otros azúcares simples. De tal forma que estos azúcares simples toman rutas como la glicolisis o en el caso de azúcares de cinco carbonos (pentosas) toman la vía de las pentosa fosfato donde tres pentosas fosfatos son convertidas en dos hexosas fosfato y una triosa fosfato mediante reacciones de transquetolasa y transaldolasa (Baldwin *et al*/1983), posteriormente esas hexosas fosfato entran al ciclo de Embden–Meyerhof para generar como producto intermedio el piruvato.

Luego de la fermentación de los CHO y de los azúcares simples procedentes de la dieta hasta llegar a la formación de piruvato como compuesto intermedio, este compuesto es fermentado a su vez por un grupo específico de bacterias (como *M. Eldsdenii*, *B. Ruminicola*, entre otras) para la formación de ácidos de cadena corta (3 carbonos) denominados ácidos grasos volátiles (AGV) por medio de vías como el sistema piruvato-formato liasa para la formación de acetato (C2) a partir de piruvato (PIR) o el ciclo del ácido di-carboxílico para la formación de propionato (C3) a partir de PIR y la vía inversa de la β -oxidación para la formación de butirato (C4) y otros ácidos de cadena más grande. Además de la formación de AGV, la fermentación de los azúcares simples genera gases como el CO₂ y el CH₄ (este último a menudo perdido en forma de eructo) además de la generación de calor y producción de lactato (que en niveles elevados pone en peligro las condiciones normales del rumen) la cual puede aumentarse en dietas ricas en ABA.

Los AGV producidos en el rumen atraviesan la pared Ruminal con facilidad, un gran porcentaje de C2 y todo el C3 pasan al hígado por medio del sistema portal hepático. La mayoría del C4 producido en el rumen es convertido en un cuerpo cetónico denominado β -OH-Butirato dentro de la pared Ruminal, el cual es oxidado (en su mayoría) en los músculos cardíacos y esqueléticos y se usa para síntesis de ácidos grasos en el tejido adiposo y en la glándula mamaria (Church 1988, Wattiaux *et al*/2000), los demás AGV viajan vía portal hepática hacia el hígado.

El hígado representa el principal órgano metabólico de la energía en el sistema digestivo del rumiante, hacia el llegan gran cantidad de sustratos energéticos dentro de los cuales encontramos AGV principalmente C2 y C3 y una pequeña parte de C4 (Relling *et al*/2003), incluso cuerpos cetónicos producidos en la pared del rumen (Wattiaux *et al*/2000) aminoácidos (que en situaciones de extrema movilización de tejidos sirven como fuente de energía), ácido láctico AGNE (que pueden ser convertidos a TG y a ácidos grasos de cadena corta y larga) glicerol y glucosa. El principal objetivo del hígado es la obtención de carbono (C) y de nitrógeno (N) (Reynolds *et al*/1993) para realizar una nueva síntesis de moléculas de interés metabólico como la glucosa y la urea, dicha síntesis a su vez está fuertemente controlada por los requerimientos del animal (Bergman *et al*/1970) de tal forma que el hígado toma primero la cantidad suficiente de moléculas energéticas para llenar los requerimientos de las vísceras del sistema portal o tejidos espláncnicos (Reynolds *et al*/1993) de gran importancia en el funcionamiento digestivo y endocrino de los rumiantes y luego distribuyen dichas moléculas a los demás tejidos.

En el metabolismo de la energía tanto de la proveniente de carbohidratos como de lípidos, la principal molécula para los diferentes tejidos es la glucosa, de la cual el propionato es el principal precursor hepático (Church 1988, Relling *et al*/2003, Correa 2001,2002) a partir del cual se sintetiza del 25 al 55 % de la glucosa, aunque esta proporción puede variar de acuerdo a las condiciones de aporte de almidones y CNE en la dieta. De hecho la glucosa puede constituir la única fuente energética para tejidos como el nervioso (Relling 2003). De esta forma el metabolismo del rumiante obtiene energía a partir de CHO siendo varias las moléculas consideradas como los productos finales en el proceso del metabolismo energético, la glucosa (Relling *et al*/2003), los AGV (Church 1988, Bergman 1970) e incluso la obtención de C y N (Reynolds *et al*/1993).

3.2 METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS.

Mientras que el proceso de metabolismo energético a partir de los lípidos difiere en muchos aspectos del metabolismo de CHO, como en el tipo de enzimas utilizadas en el proceso (lipasas del animal y lipasas microbianas del rumen), la inclusión de grasas en la ración que usualmente no supera el 4-6% (Wattiaux *et al*/2000) la concentración de lípidos en los forrajes que es mucho menor que la de CHO y por último la concentración energética por unidad de lípidos que es mucho mayor que la de los CHO (Relling *et al*/2003). No así en las hojas de las plantas forrajeras que por lo general contienen 3-15 % de sustancia seca en forma de lípidos, algunos presentes como lípidos superficiales y otros como componentes de las células de las hojas y especialmente de las membranas de los cloroplastos. Los fosfolípidos son los

lípidos predominantes en los tejidos vegetales, los glicolípidos (mono y digalactosil diacilgliceroles) y las clorofilas constituyen hasta el 40 – 50% de los lípidos de la membrana (Church 1988). Dentro de las dietas normales para ganado especializado en la producción de leche el mayor aporte de lípidos está representado por las grasas que aunque tienen limitaciones en su nivel de inclusión, así como los alimentos balanceados para animales que son utilizados para suplementar la dieta y en general pueden presentar concentraciones de hasta 6-8% y aportes de 3.37 Mcal/kg MS de energía digestible (ED) (NRC 2001). A pesar de que los forrajes no presentan un contenido alto de lípidos, si tienen una importante concentración de ácidos grasos esenciales así como ácidos grasos insaturados (AGI), mientras que los granos de oleaginosas, como girasol y soja, son ricos en lípidos (20-40 % de la MS) con un elevado contenido de triglicéridos. Las tortas, subproductos de la extracción del aceite, contienen hasta un 3 % de lípidos, mientras que los granos de cereales varían entre el 2,1 % (trigo) y el 7,1 % (avena) (Relling *et al* 2003).

Tabla 1: Composición porcentual de ácidos grasos en alimentos usados corrientemente en dietas para ganado

Alimento	Palmítico (16:0)	Estearico (18:0)	Oleico (18:1)	Linoleico (18:2)	Linolénico (18:3)
Ray Grass	13	2	2	10	66
Alfalfa	30	4	4	22	40
Heno de gramínea	15-26	2-3	3-4	12-16	46-61
Heno de alfalfa	26	6	5	17	31
Semilla de soja	12	4	25	51	8

Fuente: Relling y Mattioli 2003

El proceso general empieza en la boca del animal con la masticación en donde el principal efecto es el rompimiento del forraje y otros alimentos generando así una mayor superficie de ataque para las enzimas y bacterias del tracto gastro intestinal. Al llegar al rumen procedente del esófago, los granos (en forma de triglicéridos) y el forraje (en forma de galactolípidos principalmente), sufriran procesos como la lipólisis, bio-hidrogenación (Conn y Stumpf 2000), así como síntesis y saponificación de ácidos grasos (Relling *et al* 2003), en donde por acción de lipasas microbianas ubicadas en la superficie de los microorganismos se generan productos simples como ácidos grasos libres (AGL) y glicerol. Normalmente el proceso es secuencial primero la hidrólisis para producir AGL y glicerol, es seguida por la biohidrogenación dependiente del medio ácido del rumen, esta reacción también depende de la presencia de

un grupo carboxilo libre, por lo tanto la lipólisis es una primera etapa obligatoria en la modificación de los lípidos esterificados que aporta la dieta (Church 1988).

En la reacción proveniente de triglicéridos (TG) se generan 3 ácidos grasos (o 2 ácidos grasos y una molécula de galactosa en el caso de los galactolipidos), la biohidrogenación de estos ácidos grasos que están insaturados (o sea con dobles enlaces en su cadena) constituye un mecanismo importante a través del cual los microbios pueden disponer de H procedente de un ambiente ruminal en vías de reducción. Este proceso es el resultado de la adición de H a los ácidos grasos con dobles enlaces, al terminar este proceso se espera que todos los dobles enlaces se convierten en enlaces sencillos y los ácidos grasos quedan por lo tanto saturados. Es importante remarcar la importancia de este proceso ya que los AG al ser grasas son moléculas bipolares disminuyen la digestibilidad de los alimentos, debido a que los extremos hidrofílicos se adhieren al alimento dejando expuesto los extremos hidrofóbicos, lo que dificulta el acceso de las enzimas digestivas bacterianas. Por otro lado los ácidos grasos insaturados alteran la tensión superficial y la permeabilidad de las membranas bacterianas, perjudicando especialmente a la flora celulolítica. Esta hidrogenación (denominada por algunos autores Biohidrogenación) no es completa, afecta entre el 70 y el 90 % de los ácidos grasos y queda un remanente que en parte es incorporado al propio soma bacteriano, pasando a ser una fuente de ácidos grasos esenciales e insaturados para el rumiante al ser absorbidos en el intestino (Relling *et al* 2003).

Seguidas de estas reacciones se genera la producción de AG que son alterados ya que son producidos por los microorganismos, dichos microorganismos producen normalmente una variedad de isómeros *trans* (teniendo en cuenta casi todos los AG vegetales insaturados presentan la configuración *cis* entre los átomos de C insaturados), de los ácidos grasos, así como también alteraciones en la longitud de su cadena, cambios en la posición de los dobles enlaces y ácidos grasos de cadenas impares y ramificadas. Además de esto algunos ácidos grasos son usados por las bacterias para la síntesis de fosfolípidos que son necesarios para la formación de membranas celulares. Como ya se había mencionado la biohidrogenación realizada en el rumen no es completa y puede depender de condiciones como la cantidad de AGI que llegan al rumen (Relling *et al* 2003), así como el pH del Rumen (Church 1988, Relling *et al* 2003) que de ser muy bajo o más ácido tiende a inhibir el desarrollo de las bacterias que generan la última saturación (de 18:1 a 18:0) generando por tanto mayor cantidad de metabolitos secundarios, estos son AG de cadena intermedia que son utilizados para el metabolismo de los microorganismos Ruminales.

De esta forma se tiene que gracias al aporte de fuentes de grasa como los suplementos concentrados e incluso algunos forrajes, leguminosas y cereales, la dieta aporta grasas en forma de glicolípidos, TG y fosfolípidos (FL), los cuales son atacados por lipasas microbianas específicas al sustrato (Church 1988) generando Azúcares (especialmente galactosa), glicerol y AGI respectivamente. Los azúcares en su gran mayoría toman la vía de las hexosas mono fosfato para producir glucosa 6 fosfato (G6P) la cual a su vez por medio de glicolisis anaeróbica (realizada en la matriz mitocondrial) producen ácido pirúvico también conocido como piruvato (PIR) (Conn y Stumpf 2000). Por esta misma vía (Glicolisis anaeróbica) se obtiene PIR a partir de glicerol.

En cuanto al destino de los AGI, por medio de la biohidrogenación se obtienen Ácidos grasos saturados (AGS) tanto de cadena corta como de cadena larga, los de cadena corta en la mayoría de los casos son utilizados por los microorganismos Ruminales y entran a hacer parte de un "pool" de reserva de AG de cadena corta. Los AG de cadena larga no pueden ser utilizados por los microorganismos Ruminales (Reynolds *et al*/1993) y normalmente son agrupados como fosfolípidos bacterianos (FLB). Uno de los principales objetivos que persiguen todas estas vías metabólicas es la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) los cuales como ya se había explicado son la principal fuente para la posterior glucogénesis en el hígado, que es la principal fuente de energía para muchos tejidos de importancia productiva, reproductiva y de mantenimiento del animal.

El siguiente paso en el metabolismo de lípidos es el paso de FLB, AGS y AGL al lumen intestinal, su paso se facilita por simple difusión (parte hidrofílica e hidrofóbica). Ya en el intestino este grupo de moléculas lipídicas se agrupan formando estructuras denominadas lipoproteínas (LPP) (Wattiaux *et al*/2000, Conn y Stumpf 2000). La bilis, secretada por el hígado, junto con las secreciones pancreáticas (ricas en enzimas y bicarbonato) se mezclan con el contenido del intestino delgado. Estas secreciones son esenciales para preparar los lípidos para absorción, formando partículas mezclables con agua que pueden entrar las células intestinales. Sumado a esto, parte del glicerol (proveniente en su mayor parte de la glucosa en sangre) es ligado a los AGL formando TG en las células intestinales, los cuales junto con los AGL, colesterol (Wattiaux *et al*/2000, Church 1988, Conn y Stumpf 2000) son recubiertos por así decirlo, por proteínas generando LPP ricas en TG. Dichas estructuras se distribuyen de tal forma que transportan moléculas lipídicas en un medio acuoso gracias a su carácter anfipático, es decir que tienen su exterior hidrofílico (parte proteica de la molécula) y su interior o contenido hidrofóbico, viajando por vía linfática hasta tejidos como el hígado e incluso por sangre (circulación general) hacia la glándula mamaria y a tejido adiposo.

Ya en el hígado la lipoproteína lipasa es procesada por medio de una enzima denominada lipoproteína lipasa (dispuesta en el tanto en el tejido como en la superficie de la LPP) liberando al medio hepático, AGL, TG, colesterol. Los TG pueden ser almacenados en su forma original (como posterior fuente de energía) o pueden, dependiendo del estado nutricional y metabólico del animal, producir AGL y glicerol para general glucosa y con ello entrar en el mismo ciclo de los CHO para la producción de energía. Algunos AGL son fuentes potenciales de cuerpos cetónicos (BOH-butirato principalmente) especialmente en condiciones metabólicas particulares como en el caso de la vaca en transición (Correa 2001, García 2009). La importancia de estas vías metabólicas radica en el tipo y la cantidad de moléculas energéticas producidas, además de los sustratos utilizados ya que los mismos varían fuertemente como se mencionó anteriormente en estados nutricionales y metabólicos específicos.

4. CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE GLUCONEOGENESIS

Otra de las formas en que el animal puede obtener energía para satisfacer sus requerimientos, aparte del suministro exógeno es la generación de glucosa a partir de sustratos potencialmente energéticos denominados glucogénicos por medio de un proceso anabólico denominado gluconeogenesis (GNG). Es necesario aclarar que existen otro tipo de procesos por medio de los cuales se puede generar biosíntesis de CHO como la vía del glioxilato, la cual se lleva a cabo únicamente en plantas y microorganismos en donde el proceso se puede llevar a cabo a partir de CHO de 2 carbonos (2C), síntesis y degradación de glucógeno, biosíntesis de lactosa entre muchos otros.

El proceso de la GNG es predominantemente hepático aunque también se tiene evidencia de GNG renal (Donkin *et al*/1995). En el músculo la principal función de este proceso es aumentar las reservas de glucógeno, sin embargo en este tipo de tejidos la enzima glucosa 6 fosfatasa (G6Pasa) es ausente, no así en el hígado y en el riñón, por lo que dicha enzima permite tanto la hidrolización de la glucosa como su exportación (Conn y Stumpf 2000).

Normalmente los animales deben mantener un nivel constante de glucosa en la sangre (glicemia) y al no tener un suministro constante de energía (glucosa) o al agotar las reservas de azúcares el animal debe sintetizar glucosa por medio de la gluconeogenesis. Este equilibrio en el nivel de glucosa en sangre está estrechamente regulada por tres procesos interrelacionados: la síntesis de glucosa en el hígado, la captación y utilización de la misma por los tejidos periféricos (en particular el músculo) y la secreción de insulina. La secreción de insulina está modulada de forma que la producción y utilización de glucosa

aumenta o disminuye para mantener la glicemia dentro de límites normales.

La glucemia está determinada, en todo momento, por el equilibrio entre la cantidad de glucosa que entra al torrente sanguíneo (es decir la proveniente de los alimentos procesada por medio del metabolismo) y la que sale de él (es decir la glucosa transportada desde la sangre hacia los tejidos). Las principales causas determinantes son: la ingestión dietética, la velocidad de entrada a las células musculares, al tejido adiposo y a otros órganos, así como la actividad glucostática del hígado. El 5% de la glucosa ingerida es convertida rápidamente en glucógeno por el hígado y 30 a 40% en grasa (Church 1988, Reynolds *et al*/1993), el resto es metabolizado en el músculo y otros tejidos. Durante el ayuno el glucógeno hepático es degradado y el hígado aporta glucosa a la corriente sanguínea, con ayuno mas prolongado, el glucógeno se agota y se incrementa la gluconeogénesis a partir de los aminoácidos y el glicerol en el hígado.

El proceso de la GNG es predominantemente hepático aunque también se tiene evidencia de GNG renal (Donkin *et al*/1995). En el musculo la principal función de este proceso es aumentar las reservas de glucógeno, sin embargo en este tipo de tejidos la enzima glucosa 6 fosfatasa (G6Pasa) es ausente, no así en el hígado y en el riñón, por lo que dicha enzima permite tanto la hidrolización de la glucosa como su exportación (Conn y Stumpf 2000).

4.1 CAUSAS Y EFECTOS DE GNG

En los rumiantes la mayor parte del proceso digestivo de los CHO tiene lugar en el rumen durante la digestión fermentativa. El resultado es que casi lo único que llega al intestino para la digestión glandular y la absorción de glucosa son los CHO indigeribles. Por ello los rumiantes presentan un estado constante de deficiencia potencial de glucosa. Para evitar esta situación, estos animales han desarrollado sistemas eficaces, tanto para la producción como la conservación de glucosa. En esencia toda la glucosa disponible para los rumiantes que consumen casi cualquier tipo de dieta procede de la GNG. (Cunningham 2003) Cuantitativamente el precursor mas importante de la glucosa es el propionato (C3) que contribuye a su síntesis tras incorporarse al ciclo de krebs al nivel del succinato lo cual se explicara mas adelante en este mismo capitulo.

Cuando el animal consume alimentos sean estos forrajes, cereales, granos, suplementos concentrados, recibe un fuente energética que puede o no (dependiendo del tipo de dieta y la cantidad de materia seca consumida) satisfacer sus requerimientos diarios de energía de tal forma que luego del procesamiento inicial de los alimentos y en el momento mismo en que la

glucosa proveniente del metabolismo de los mismos ingresa al sistema sanguíneo, se produce a nivel pancreático (Church 1988, Reynolds *et al*/1993, Villanueva 2004), específicamente en el retículo endoplásmico de las células denominadas islotes de Langerhans tipo β , insulina(I2), una hormona de origen proteico compuesta por 31 aminoácidos (AA), (Conn y Stumpf 2000).

Ya liberada en el torrente sanguíneo la insulina puede cumplir funciones como transporte (específicamente aumentarlo) de glucosa al interior celular produciendo una disminución de los valores de glucosa en sangre, aumento en la GNG, así como la actividad de enzimas como la glucógeno-sintetasa (disminuyendo el proceso de glucógenolisis) entre otras funciones importantes que desempeña en el metabolismo de ácidos grasos y AA. En general la I2 tiene varios efectos a nivel hepático, adiposo y muscular que diferencia su tipo de acción.

De esta forma a nivel hepático la acción de la insulina inicia con la activación de diversos receptores como el IRS1-2, PLC, los cuales son receptores de señalización (de la familia *no-tirosina-cinasa*) y cuya principal función es servir como sustrato para el IR (receptor de I2), los cuales a su vez aumentan la actividad de receptores (proteínas intracelulares) tipo PI3K e IP3 respectivamente, los cuales tienen diversas funciones, mientras que el IP3 activa la esteroidogénesis, el PI3K genera una fosforilación activa para aumentar la síntesis de transportador de glucosa 4 (GLUT4) intracelular, produciendo con ello un aumento en la captura de glucosa por parte de (en este caso específico) el hígado.

Posterior a estos pasos, se inicia el proceso antes descrito de la glucólisis con la obtención de piruvato como principal producto en su fase aeróbica, esto por ser un proceso llevado a cabo en el citosol. Adicionalmente la I2 produce otros efectos a nivel hepático como el aumento en la síntesis de glucógeno (glucogenogénesis) por medio de una mayor actividad de la enzima glicocinasa y glucógeno sintetasa (Conn y Stumpf 2000, Church 1988) y consecuentemente disminuye la glucogenolisis, además disminuye la conversión de AGL a CC, entre otras funciones.

No obstante, bajo ciertas circunstancias especiales, la producción de insulina se ve disminuida, como por ejemplo con ejercicio prolongado, que en el caso de las vacas en producción, correspondería a desplazamientos largos (principalmente al momento del ordeño) o en momentos de ayuno o disminución de consumo de materia seca CMS como el que ocurre en el periodo de transición (principalmente entre preñez tardía y lactancia temprana). Es en esos momentos en los que el nivel de glucosa en sangre es bajo, es

decir tendiente a 50mg/dl o menos (límite inferior del valor de referencia de glucemia en bovinos) se genera un aumento en la producción de una hormona proteica de 29 AA denominada glucagon, en las células pancreáticas (islotos de Langerhans) tipo α .

Inmediatamente después, el glucagon viaja vía sanguínea para activar en los hepatocitos receptores (extracelulares) de 7 dominios que a su vez se transporta a través de las glicoproteínas de la membrana para activar una enzima denominada adenilato ciclasa (Conn y Stumpf 2000). En el mismo momento en que se activa dicha enzima, inicia la conversión de la molécula adenosina-trifosfato (ATP) en una molécula denominada AMP cíclico (cAMP) cuya función es activar una enzima proteica, la protein-quinasa A, la cual desencadena la activación de las enzimas de mayor importancia en el proceso de la biosíntesis de glucosa más importante para el ganado lechero (Church 1988, Donkin 1993, NRC 2001, Relling *et al*/2003), la gluconeogénesis. La activación de la proteína quinasa A, fosforila un complejo enzimático denominado fosfofructokinasa2 – fructosa2,6bifosfatasa2 (PFK2/F2,6BPasa) el cual puede generar 2 procesos activar la enzima F2,6BPasa-2 o inactivar la PFK2, estas dos acciones conllevan a una misma acción que es la disminución en la producción de fructosa 2,6 bifosfato (F2,6BP).

Este es uno de los pasos vitales en el proceso de la GNG, ya que al disminuir la producción de F2,6BP se genera la desinhibición de una de las 3 enzimas vitales del proceso que es la F2,6BPasa-1 la cual permite la conversión de F1,6BP a Fructosa 6P (F6P). De igual forma la disminución en F2,6BP genera disminución en la actividad de la enzima PFK-1 que a su vez es uno de los pasos irreversibles del proceso de la glicólisis (Conn y Stumpf 2000, Relling *et al*/2003) produciendo por tanto la disminución en dicho proceso. En resumen tenemos que la acción del glucagon como hormona estimulante del proceso de GNG se puede dividir en 5 pasos principales, siendo el primero la activación de la protein-quinasa A, luego la activación de la F2,6BPasa junto con la inactivación de la PFK-2, el tercer paso es la disminución de la producción de F2,6BP, el cuarto la disminución en la actividad de PFK-1 y el quinto paso y posiblemente el más importante es el aumento en el proceso de GNG por medio de la desinhibición de la enzima F1,6BPasa.

De esta forma se sabe que las principales hormonas que controlan el proceso tanto de la glicólisis como la GNG son la I2 y el glucagon, además se sabe que gran parte de la explicación de la importancia de este último proceso, es el tipo de digestión (pre-gástrica y fermentativa) que genera que el animal tenga estrategias de producción y almacenamiento de glucosa diferentes al suministrado en la dieta para abastecer una gran mayoría de la glucosa

sanguínea y con ello mantener la glicemia constante. Es importante establecer las contrapartes, a menudo denominados By-pass, (Cunningham 2003, King 1999) en el proceso de GNG que determinan los productos Y efectos del mismo.

Como se ha establecido las primeras dos etapas irreversibles del proceso de la glicolisis y por tanto pasos obligados en el proceso de la GNG son, primero el proceso de la hexo-kinasa (HK) que cataliza la conversión de glucosa a glucosa 6 fosfato (G6P) por medio de la adición de 1 molécula de ATP (Conn y Stumpf 2000) cuya contraparte en el proceso de la GNG es la activación de la enzima G6Pasa que como ya se había mencionado esta presente en hígado y en riñón. El segundo proceso es el de la PFK-1 que cataliza el paso de F6P a F1,6BP también por la adición de una molécula de ATP (Conn y Stumpf 2000, Donkin *et al*/1993, 2002) y la contraparte en la GNG es la activación (o desinhibición) de la F1,6Bpasa que cataliza el paso de F1,6BP a F6P.

La tercera etapa irreversible de la glicolisis es la conversión de dos moléculas de PEP a dos moléculas de PIR catalizado por la enzima piruvato kinasa (PK) (Conn y Stumpf 2000, Govorko 2007) llevado a cabo por medio de la adición de 2 moléculas de ATP, al igual que las dos etapas antes mencionadas tiene una contraparte en la GNG que corresponde a la acción de dos enzimas de suma importancia como la piruvato carboxilasa (PC) y la fosfoenol-piruvato-kinasa (PEPCK), las cuales (véase capítulo mecanismos de control, papel de la PEPCK) están controladas hormonalmente no solo por el glucagon sino también por los corticoides de tal forma que la enzima PC permite la conversión de 2 moléculas de PIR en dos moléculas de oxalo-acetato (OAA) por medio de la adición de dos moléculas de ATP (Conn y Stumpf 2000). Sin embargo la PC al ser una enzima mitocondrial y al generar la molécula de OAA que no puede ser exportada al citosol (King 1996, 1999) requiere una segunda reacción mediada por la PEPCK, dicha enzima esta presente en la misma cantidad en el citosol y en la matriz mitocondrial, es decir forma mitocondrial y citosólica (PEPCKc, PEPCKm, respectivamente).

Por ello para que la gluconeogénesis prosiga, el OAA producido por la PC necesita ser transportado desde la mitocondria al citosol. Sin embargo, no existe un mecanismo de transporte para su transferencia directa y el OAA no se difunde libremente. El OAA mitocondrial puede llegar al citosol por tres vías, conversión en PEP (como se indico anteriormente por acción de la PEPCK mitocondrial), transaminación a aspartato o reducción a malato, todos estos pueden transportarse al citosol (King 1999, Conn y Stumpf 2000) dando lugar a la denominada lanzadera malato-aspartato. Si el OAA es convertido a PEP por

la PEPCK mitocondrial, este es transportado al citosol en donde es un sustrato directo para la gluconeogénesis y no se requiere nada más.

La transaminación del OAA a aspartato permite que el aspartato se transporte al citosol en donde existe una transaminación reversa dando lugar a la formación de OAA citosólico. Esta reacción de transaminación requiere un transporte continuo de glutamato dentro y α -cetoglutarato fuera de la mitocondria. Por tanto este proceso esta limitado por la disponibilidad de estos otros sustratos. Normalmente el camino que sigue el OAA es convertirse a PEP, sin embargo cualquiera de estas dos últimas reacciones (OAA a ASP ó OAA a MAL) predominará cuando el sustrato de la gluconeogénesis es el lactato y no el propionato o piruvato (Conn y Stumpf 2000, King 1993). Si ocurre decarboxilación o transaminación mitocondrial dependerá de la disponibilidad de PEPCK o de los intermediarios de la transaminación, además en la reacción de conversión de OAA a PEP se requieren 2 moléculas de guanosin-trifosfato (GTP).

El OAA, que ahora será mitocondrial puede también ser convertido a malato por medio de una reacción reversa a la que se sucede en el ciclo de Krebs que es catalizada por la enzima malato deshidrogenasa (MDH) (Conn y Stumpf 2000). La reducción del OAA a malato requiere de NADH, que se acumulará en la mitocondria cuando la carga energética aumenta. Este incremento en energía permitirá a la célula llevar a cabo el proceso de gluconeogénesis que es costoso en ATP. El malato resultante es transportado al citosol en donde es oxidado a OAA por la enzima citosólica MDH que requiere NAD^+ y produce NADH. El NADH producido durante la oxidación citosólica del malato a OAA es utilizado durante la reacción catalizada por la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa de la glucólisis.

El acoplamiento de estas dos reacciones de oxidación-reducción es necesario para mantener la gluconeogénesis funcionando cuando el piruvato es la principal fuente de átomos de carbono. La conversión de OAA a malato predomina cuando el piruvato (derivado de la glucólisis o del metabolismo de los amino ácidos) es la fuente de los átomos de carbono para la gluconeogénesis. Cuando está en el citoplasma el OAA, este es convertido a PEP por la enzima PEPCK citoplasmática. Algunas señales hormonales controlan el nivel de la enzima PEPCK para regular el flujo de la gluconeogénesis (véase capítulo de mecanismos de control de GNG). En general el balance del proceso de PC y PEPCK (la tercera etapa By-pass) se puede resumir de la siguiente manera:



Por lo tanto se puede decir que La gluconeogénesis partiendo desde dos moles de piruvato hasta 2 moles de 1,3-bifosfoglicerato consume 6 moles de ATP (incluyendo las dos moléculas de GTP). Esto hace que el proceso de la gluconeogénesis sea muy costoso desde el punto de vista energético considerando que la glucólisis del piruvato solamente produce 2 moles de ATP y teniendo en cuenta que este gasto es generado únicamente en el primer Bypass (PC y PEPCK).

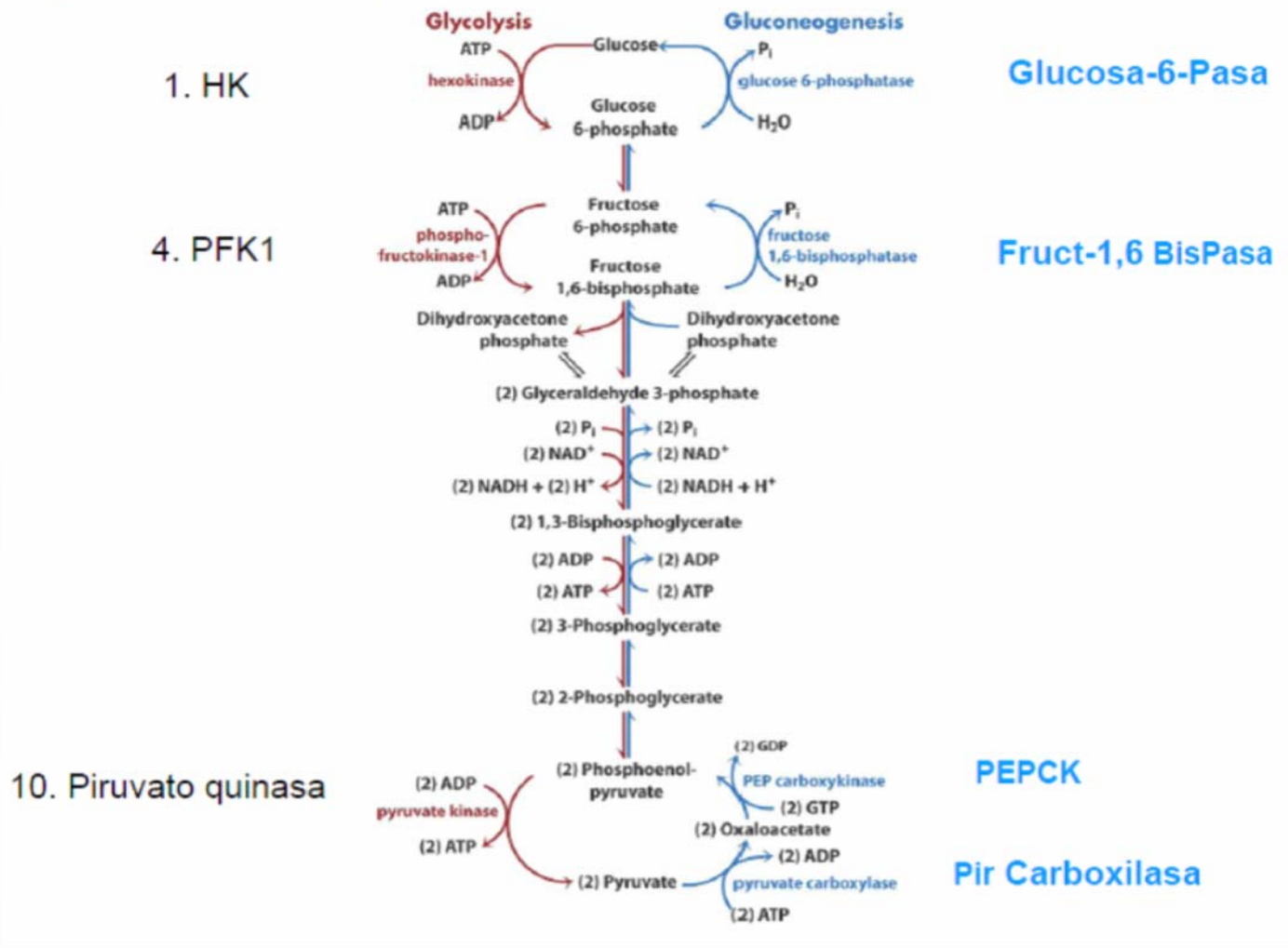
Antes de llegar al segundo "Bypass" (F1,6BPasa) las reacciones son las inversas a las de la glicolisis y empiezan con la adición de dos moléculas de PEP en el citosol las cuales son convertidas a dos moléculas de fosfoglicerato, y luego a dos moléculas de 3-fosfoglicerato. Seguidas a estas dos reacciones, la toma de dos moléculas de ATP para la conversión a 1.3 bifosfoglicerato y luego en la producción de 2 moléculas de gliceraldehído 3 fosfato (GLI3P) gracias a la toma de 2 moléculas del cofactor $\text{NADH}+\text{H}^+$ reducido procedente de la glicolisis. Gracias a la adición de una molécula de dihidroxiacetona fosfato procedente de la vía de la glicolisis (véase fig 2) se obtiene una molécula de F1,6BP con lo cual la vía alcanza el segundo Bypass, el de la F1,6BPasa, enzima que cataliza la conversión hacia Fructosa 6 fosfato (F6P). seguida esta reacción y por medio de una isomerasa la molécula F6P es convertida en G6P. El último bypass es el que envuelve la participación de la enzima G6Pasa la cual toma la molécula de G6P y remueve el grupo fosfato produciendo glucosa lista para ser utilizada por parte del animal.

De esta forma tenemos que la regulación de la GNG estará en contraste (evidenciado por las etapas denominadas bypass) directo a la regulación de la glucólisis. En general, los efectores negativos de la glucólisis son efectores positivos de la GNG. La regulación de la actividad de la PFK1 y F1,6BPasa en el sitio más significativo para controlar el flujo hacia la oxidación de la glucosa o la síntesis de glucosa. La glucólisis, esta controlada predominantemente por la fructosa-2,6-bifosfato, F2,6BF que es un efector alostérico negativo poderoso de la actividad de la F1,6BPasa que corresponde al segundo bypass de la GNG (King 1999).

Figura 2 Etapas irreversibles de la glicolisis, pasos Bypass de la gluconeogenesis

Etapas irreversibles de glucolisis

Nuevas reacciones



Fuente: <http://www.uam.es>

Se puede por tanto concluir que el proceso de la GNG no es económico en términos de balance energético (ATP, GTP y cofactores) aunque en ultimo termino es el mecanismo mas importante y vital para el mantenimiento de los niveles sanguíneos y tisulares de glucosa en los animales rumiantes (Cunningham 2003) no obstante el balance energético del proceso se puede resumir como:



De tal forma que es un proceso reciproco con la glicolisis en donde los tiempos de alimentación o ayuno (incluso en algunos casos, desordenes metabólicos) marcan la puesta en marcha de uno u otro mecanismo, siendo el momento del ayuno la partida para el proceso de GNG controlado hormonalmente por la hormona glucagon, mientras que la alimentación del animal marca el inicio del

proceso de glicolisis gobernada por la hormona Insulina.

5. GNG HEPÁTICA EN VACAS EN PERIODO DE TRANSICION

Para que una vaca haga una transición exitosa desde la preñez tardía hacia la lactancia temprana, necesita una delicada coordinación del metabolismo entre los múltiples tejidos para proveer, en último término, suficiente glucosa para satisfacer las necesidades productivas propias de este estado fisiológico (Bauman and Currie, 1980). Es de gran importancia recordar que el paso de un estado de preñez no lactante (vaca preparto) a un estado de no preñez y lactante (vaca postparto) es a menudo una experiencia desastrosa para la vaca lechera (Goff y Horst 1997). Como ya se había mencionado este paso, a menudo traumático esta acompañado por un aumento drástico en los requerimientos de glucosa, esto sumado a el hecho que en los animales de alta producción de leche se han llevado al límite algunas funciones hepáticas claves para satisfacer los requerimientos nutritivos, principalmente energéticos, durante el período que abarca desde las etapas finales de la gestación hasta la consolidación de la lactancia al momento de alcanzar el peak de producción. El hígado reacciona, produciéndose una serie de adaptaciones metabólicas con la finalidad de abastecer la demanda extra de glucosa desde sustratos gluconeogénicos endógenos diferentes a la vía más importante que es la del propionato, producto de la fermentación ruminal (González y Koenekamp 2006, Drackley *et al* 2001, Donkin 2000).

Por tanto los rumiantes han evolucionado y creado estrategias que reducen el gasto de la glucosa por rutas metabólicas que dejan de ser críticas (Van Soest, 1994). Un ejemplo de ello es la baja capacidad de transformar glucosa hacia grasas en vista de la baja actividad de la enzima Citrato liasa y la baja capacidad de oxidar cuerpos cetónicos en hígado (Madsen, 1983 citado por Correa 2002). Debido a las altas demandas por glucosa que se establecen al final de la preñez y al inicio de la lactancia (Correa, 2001) y a la baja absorción intestinal, la gluconeogénesis se convierte en el centro del metabolismo energético del animal.

Siendo uno sino el principal mecanismo de reacción del hígado, para satisfacer los requerimientos de glucosa de los tejidos del animal (diferentes a los requerimientos del rumen) la GNG al verse limitada en ocasiones, puede causar aumento en la eliminación de animales por problemas reproductivos ya que son los problemas mas evidentes y de mayor detección y adicionalmente en el periodo de transición la gran mayoría de desordenes alimenticios pueden resultar en problemas de índole reproductivo, de tal forma se ha determinado

que enfermedades como la hipocalcemia (Drackley *et al* 2001, Goff y Horst 1997), condición corporal excesiva, desbalance en dietas preparto, desplazamientos de abomaso, cetosis el hígado graso (Meléndez 2008) pueden estar directa o indirectamente relacionados con la aparición de retención de membranas fetales, metritis, mastitis, y cojeras, que son problemas de fácil detección en comparación con las alteraciones metabólicas que son el centro de atención de los nutricionistas en este periodo de la vida del animal.

Para caracterizar el proceso de la GNG durante este periodo se debe tener en cuenta los sustratos que hacen posible obtener glucosa, y en último termino, energía, a partir de sustratos no energéticos. Dentro de las fuentes alternativas para la GNG el lactato es una fuente predominante de átomos de carbonos para la síntesis de glucosa por la gluconeogénesis (King 1993). Durante la glucólisis anaerobia en el músculo esquelético, el piruvato es reducido a lactato por la lactato deshidrogenasa (LDH). Esta reacción tiene dos funciones críticas durante la glucólisis anaerobia. Primero, en la dirección de la formación de lactato la reacción de la LDH requiere de NADH y produce NAD^+ que entonces esta disponible para ser utilizada en la reacción de la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa de la glucólisis. Estas dos reacciones están por tanto íntimamente relacionadas en la glucólisis anaerobia. Segundo, el lactato producido por la reacción de la LDH es liberado a la sangre y transportado al hígado en donde es convertido a glucosa.

La glucosa producida entonces regresa a la sangre para ser utilizada por el músculo como fuente de energía y para llenar las reservas de glicógeno. El ciclo de Cori involucra la utilización de lactato, producido en la glucólisis en tejidos no-hepáticos, (como el músculo y los eritrocitos) como una fuente de carbono para la gluconeogénesis hepática. En esta forma el hígado puede convertir el producto de la glucólisis anaerobia (típica del musculo), el lactato, otra vez en glucosa para su re-utilización por parte de tejidos no-hepáticos. Es importante anotar que parte de la gluconeogénesis del ciclo (en si mismo) consume energía, lo que le cuesta al organismo. Normalmente el lactato no es la fuente predominante para la GNG en el periodo de transición, sin embargo en casos específicos como el ejercicio prolongado sumado a un ayuno moderado puede producir acido láctico en exceso. En la mayoría de los casos el lactato que llega al hígado es convertido a PIR el cual puede sigue la vía de la GNG para la producción de glucosa.

Como ya se había indicado en el capitulo anterior uno de los principales sustratos Gluconeogenicos es el PIR, el cual se genera en el músculo y otros

tejidos periféricos, puede ser trans-aminado a alanina, la cual es llevada al hígado para la GNG. La reacción de trans-aminación requiere de un α -aminoácido (α -AA) como donador del grupo amino, generándose un α -cetoácido en el proceso. Esta vía se denomina el ciclo de la glucosa-alanina. Aunque la mayoría de aminoácidos se degradan en el hígado algunos son desaminados en el músculo. El ciclo de la glucosa-alanina es, por tanto, un mecanismo indirecto del músculo para eliminar nitrógeno y a la vez para llenar su reserva de energía. Sin embargo, la función más importante del ciclo glucosa-alanina es permitir a los tejidos no-hepáticos entregar la porción amino de los aminoácidos metabolizados al hígado para que sea excretada como urea. En el hígado la alanina se vuelve a convertir en piruvato que es utilizado como sustrato de la gluconeogénesis (si ese es el requerimiento hepático) o es oxidado en ciclo de Krebs. El nitrógeno amino es convertido a urea en el ciclo de la urea que es excretada por los riñones.

Por ello, al contrario de lo que se cree la movilización de proteínas (músculo) que puede ser menos severa que la de tejido graso, está apoyando el proceso de la GNG al aportar AA que en su gran mayoría pueden ser transformados virtualmente en cualquier compuesto intermedio del ciclo de Krebs (Conn y Stumpf 2000) convirtiéndose hasta OAA el cual por acción de la PEPCK puede sintetizar el PEP vital para la GNG y la producción de glucosa. Mientras que la excesiva movilización de grasas y su acumulación en el hígado en el periodo de transición puede llegar a limitar la función normal del hígado (incluyendo acción de enzimas, vías metabólicas y hormonas) incluyendo la capacidad gluconeogénica del mismo. Todos los veinte aminoácidos, excepto leucina y lisina, pueden ser degradados a intermediarios del ciclo de Krebs como se mostró anteriormente esto permite que los esqueletos de carbono de los aminoácidos se conviertan al esqueleto del OAA y luego a piruvato. El piruvato así formado puede utilizarse en la vía de la gluconeogénesis. Cuando las reservas de glicógeno están vacías, en el músculo durante el ejercicio y en el hígado durante el ayuno, el catabolismo de las proteínas del músculo a aminoácidos contribuye como la principal fuente de carbonos para el mantenimiento de los niveles de glucosa (King 1993). Bell (1995) remarca la importancia en este respecto, demostrando que el útero grávido extrae el 72% de los AA en circulación al final de la gestación (periodo de transición). De esta forma, cuando no existe suficiente proteína y sobre todo AA en el medio, la vaca movilizará sus limitadas reservas en los tejidos periféricos y en el músculo, incluso teniendo en cuenta que la eficiencia de la de proteínas aumenta durante este periodo la dieta debería teóricamente requerir una mayor concentración de proteína debido a la disminución de consumo de materia seca (CMS) típico en este periodo (García 2009, Drackley 1999, Church 1988). Estas recomendaciones acerca del nivel de proteína en la dieta

pueden también estar dirigidas hacia mantener la producción de leche posparto, además del fenómeno anteriormente descrito (Bell 1995).

Dentro de los principales sustratos para el proceso de la GNG en el proceso de transición en vacas productoras de leche, se encuentra el glicerol el cual proviene de la oxidación de los ácidos grasos y especialmente de los triglicéridos que son convertidos en 3 unidades de ácidos grasos libres (AGL) y una molécula de glicerol. Si bien este proceso produce cantidades enormes de energía en moles, dichos carbonos de los ácidos grasos no pueden utilizarse para la síntesis de glucosa. Mientras que la unidad de dos carbonos de acetil CoA que se deriva de la β -oxidación de los ácidos grasos, si puede incorporarse en el ciclo de Krebs, sin embargo, durante el ciclo de Krebs se pierden 2 carbonos como CO_2 . Así se explica por que los ácidos grasos no sufren una conversión neta a carbohidratos.

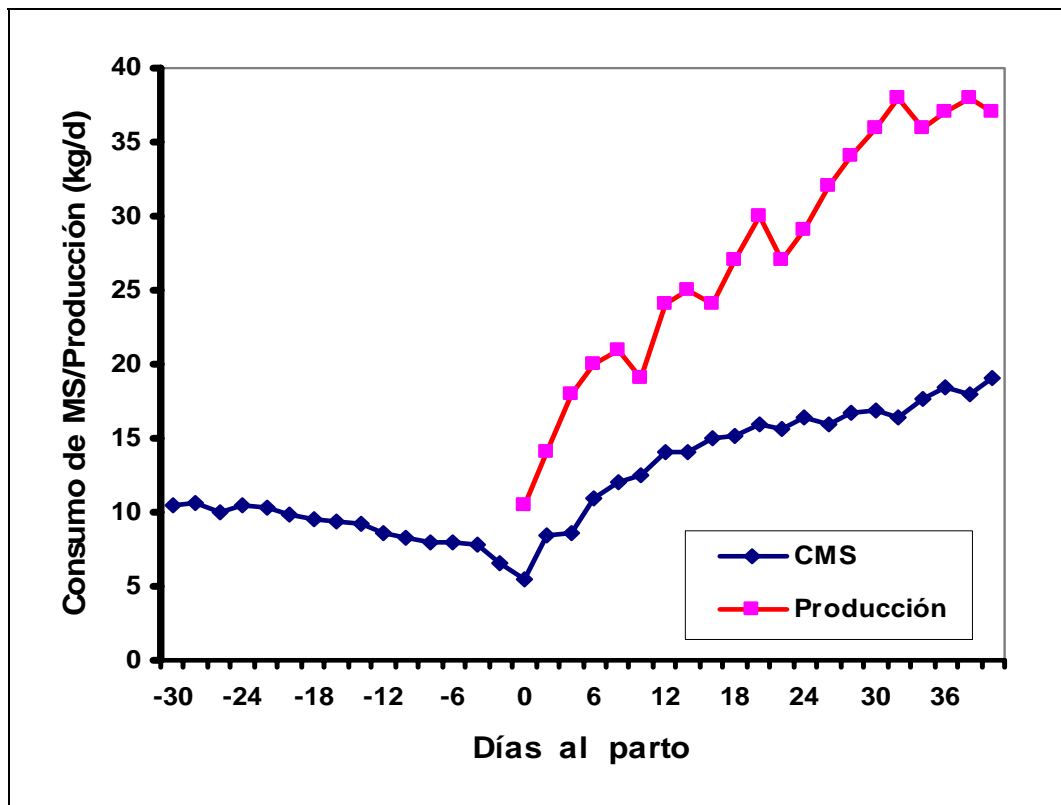
El esqueleto de glicerol de los lípidos puede ser utilizado para la gluconeogénesis. Esto requiere la fosforilación de glicerol-3-fosfato-cinasa de glicerol y de la deshidrogenación de la molécula de dihidroxiacetona fosfato (DHAP) por parte de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH). Esta reacción es la misma que la utilizada en el transporte citosólico de la reducción de equivalentes en la mitocondria para su uso en la fosforilación oxidativa. Esta vía de transporte es la lanzadera de glicerol-fosfato. El glicerol estaría presente en el hígado durante el periodo de transición especialmente debido a la excesiva movilización de tejido graso. AA glucogénicos y el glicerol proveniente de la movilización de grasa, contribuye para alcanzar o cubrir el déficit del periodo de transición, incluso se ha llegado a medir por métodos indirectos (Overton *et al* 1998) un incremento de hasta tres veces la tasa de movilización de proteína durante la primera semana posparto comparado con los valores preparto. De igual forma el glicerol como sustrato gluconeogénico, cobra vital importancia durante el periodo de transición, debido a la disminución de CMS (típica en el periodo) y con ello disminuye el suministro de propionato, que es en los rumiantes (Church 1988, Drackley *et al* 1999, 2001, Goff y Horst *et al* 1997) la mayor fuente de glucosa por vía de GNG. A pesar de la importancia del glicerol como fuente de GNG, la excesiva movilización de grasa del tejido adiposo (principal fuente de glicerol contenido en los TG) puede generar disminución sino inhibición de la GNG (Drackley *et al* 2001) en parte debido a que la acumulación de grasa está gobernada por la enzima insulina, la cual como ya se explicó inhibe el proceso de la GNG, sin embargo algunos autores (Armentano 1998) han determinado que la infiltración de grasa en el hígado per se no afecta la GNG por parte de los hepatocitos bovinos.

El propionato por su parte puede sintetizarse de la oxidación de ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono así como de la oxidación de algunos aminoácidos, lo cual genera como producto final de la oxidación propionil-CoA. La propionil-CoA se convierte en el intermediario del ciclo de Krebs, succinil-CoA. Esta conversión se lleva a cabo por la enzima dependiente de ATP, propionil-CoA carboxilasa, la metilmalonil-CoA epimerasa y finalmente por la enzima que requiere vitamina B₁₂, la metilmalonil-CoA mutasa. La utilización del propionato en la gluconeogénesis solamente tiene una significancia cuantitativa en los rumiantes (King 1999, Church 1988, Drackley *et al.* 2001). El rápido incremento de la demanda de glucosa para la producción de leche plantea un esfuerzo de parte de la habilidad de la vaca para proveer esa glucosa, sin embargo el CMS y con ello el suministro de propionato (como ya se había indicado) no aumenta tan rápido como la producción de leche en el periodo del posparto temprano. Incluso se ha determinado ((Drackley *et al.*, 2001). Que durante la primera semana posparto el suministro de glucosa para la fermentación de CHO dietarios consumidos puede estar por debajo de los requerimientos hasta 500gr/d.

El proceso de la GNG en el periodo de transición reviste importancia debido a varias razones, la primera de ellas es que el control más importante del proceso se lleva a cabo por medio de hormonas como el I2 y el Glucagon, cuya acción a la vez está determinada en gran medida por el nivel de glucosa en sangre. La glicemia puede variar (dentro de los rangos normales) por la ingesta de alimentos (Church 1988, Block y Williams 2000), dicha ingesta o CMS está fuertemente alterado durante la totalidad del periodo de transición (Correa 2001, Drackley *et al.* 1999, 2001, Goff y Horst 1997) lo cual a su vez altera los mecanismos de control de la GNG. Otra de las razones de la importancia de la GNG en el proceso de transición es el hecho de que las curvas de CMS y producción de leche son diferentes, siendo la de producción de leche mucho más acelerada que la de CMS, específicamente, la recuperación del CMS normal (niveles preparto). Por ello el requerimiento de nutrientes se eleva al momento del parto por varias razones entre ellas, la producción de leche (incluyendo la de calostro que supone especialmente un alto requerimiento de Ca⁺⁺) redireccionamiento de nutrientes (del útero vacío a la glándula mamaria especialmente) entre otros. Pero el requerimiento de glucosa específicamente se dispara en los primeros días (1-2 semanas) posparto debido a la producción de leche, mientras que la recuperación del animal en cuanto a su apetito es más lenta (véase figura 3), por ello la GNG se convierte en el principal mecanismo de biosíntesis de esa molécula, teniendo en cuenta que el metabolismo hepático también se ve modificado durante el periodo de transición y su peso puede incrementar hasta en 40%, se modifican la actividad

de enzimas relacionadas con el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas: se reduce la oxidación de la glucosa y se incrementa la GNG.

Figura 3 Evolución en el consumo de materia seca durante el periparto y de producción de leche en el posparto temprano.



Fuente Grummer y Hayirly, 2000 citados por correa 2000

5.1 MECANISMOS DE CONTROL DE LA GLUCONEOGENESIS

A modo general, el metabolismo de los CHO esta controlado por diversos factores, uno de los principales es la glucosa, la cual desempeña un papel central en procesos como la glicolisis (glucosa hasta PIR) asi como la síntesis de glicógeno (donde muchos residuos de glucosa se combinan para formar ese polímero) además su nivel en sangre desencadena la liberación de hormonas como la I2 y el glucagon que controlan el proceso de la GNG y la glicolisis. Estos dos procesos son recíprocos y determinados por la acción de las mismas hormonas pero no así de las mismas enzimas, en el momento en que un proceso como la GNG llegue al pico de producción de glucosa y con ello el nivel de glicemia activa la liberación de I2 que genera la inhibición del mismo proceso (GNG). Adicional a estos mecanismos y hormonas existen enzimas y dipos de dietas que generan un control sobre el proceso de la GNG en el

ganado productor de leche.

5.1.1 Control Hormonal GNG

Como ya se había examinado en profundidad en esta revisión, las principales hormonas que regulan el inicio o inactivación de la GNG son el glucagon y la I2 (véase capítulo 4) respectivamente. Sin embargo se ha determinado (Tolbert *et al*/1973) que la adición de glucagon o epinefrina (adrenalina) a células parenquimales de hígado de rata, estimuló la GNG desde sustratos como alanina, lactato, glicerol, xilitol, OAA, PIR y fructosa. Los resultados de ese estudio además de indicar que existe otra hormona (adrenalina) aparte de I2 y glucagon que controla (en este caso positivamente) el proceso de GNG, probaron que la estimulación de la GNG ya sea por glucagon o adrenalina no se restringe a los sustratos que entran a las vías de formación de glucosa previo a PEP. La adrenalina puede modular el proceso de la GNG por un cAMP 3`5` con un modo de acción distinto e independiente al que tiene el glucagon (Tolbert *et al*/1973).

Dentro de las hormonas que actúan aumentando la gluconeogénesis en el hígado de vacas lecheras en el periparto incluyen a insulina, glucagón, somatotropina bovina (bST) y cortisol. La concentración de bST e insulina aumentan al parto (Kunz *et al*, 1985). Se ha determinado (Pocius y Herbein 1986) igualmente que bST aumenta la conversión de propionato a glucosa y CO₂ en el hígado de vacas lactantes, pero no afecta la conversión de alanina a glucosa y CO₂, siendo esta conversión aproximadamente un 25% de aquella con propionato. Lo que se ha observado es que la acción del glucagon aumenta en mayor proporción la GNG ya sea desde propionato (C3) o desde AA (alanina) mientras que la acción de la bST restringe ese aumento en la actividad gluconeogénica que parte desde C3 (Donkin *et al*/1995). Por el contrario la acción principal de la I2 es la de inhibir la estimulación que el glucagon genera sobre los hepatocitos (Cunningham 2003, Church 1988, Donkin *et al*/1995), el modo de acción de la I2 es discutida en el capítulo 4.

5.1.2 Control Por Precursores Alimenticios

Se puede afirmar que existen algunos componentes de las dietas, así como suplementos no nutricionales, que generan condiciones metabólicas especiales para estimular o inhibir la GNG, sea por producir compuestos intermedios que se pueden incluir en las vías metabólicas de este proceso o por que activen el control hormonal que estimule el mismo.

En las producciones lecheras especializadas de algunos países (México, EEUU) es rutinario el uso de este tipo de sustancias (no nutricionales) que pueden ejercer como mecanismos de control del proceso de la GNG, aunque normalmente son formulados con objetivos específicos como controlar efectivamente enfermedades metabólicas en vacas lecheras tales como hígado graso, cetosis y en general síndrome de movilización de grasas (Cunningham 2003). Entre estas sustancias se encuentran la L-carnitina, los proliferadores peroxisomales en general y otras sustancias que buscan; activar vías de detoxificación (especialmente la vía del amoniaco) y controlar el estrés oxidativo (especialmente con el síndrome de movilización de grasas).

Es un fenómeno conocido que las vacas movilizan grasa desde su tejido adiposo para cubrir el déficit energético típico de la lactancia temprana (Church 1988, Drackley *et al*/1999, 2001, Correa 2001), movilizados como lipoproteínas (LPP) las cuales contienen cantidades significativas de TG, especialmente las denominadas LDL o lipoproteínas de baja densidad por sus siglas en inglés (low density lipoprotein). Estos TG se acumulan en el hígado especialmente en las primeras semanas posparto (Drackley *et al*/1999, Donkin *et al*/2002), que junto con la acumulación de otros procesos metabólicos típicos del periodo de transición producen un síndrome denominado "hígado graso" que puede estar presente hasta en un 50% de las vacas de alta producción (Grummer 1993, Drackley *et al*/1991). Este síndrome puede generar a largo plazo un deterioro de la función hepática (Church 1988, Grummer 1993, Cunningham 2003) y con ello la síntesis de y biotransformación de metabolitos, así como la detoxificación y excreción de desechos tóxicos, además ha estado ampliamente asociado con un incremento en la enfermedades metabólicas e infecciosas como la cetosis, desplazamiento del abomaso, fiebre de leche, síndrome de vaca caída infertilidad, mastitis y metritis (Eicker *et al*/2003) generando finalmente agudización en el problema de la disminución del CMS bien conocido en la etapa posparto temprano del periodo de transición (Correa 2001) e incluso disminución en el estatus inmunitario del hato (Cunningham 2003).

Sustancias como la L-carnitina son coadyuvantes indirectos para el aumento en

la actividad de la GNG, ya que una excesiva movilización de lípidos (TG) desde el tejido adiposo, (que es alta en el periodo de transición) puede disminuir la capacidad de GNG hepática (Drackley *et al*/2001), de forma que ayuda a disminuir la acumulación lipídica en el hígado, aumentando la oxidación de los ácidos grasos (β -oxidación) en la membrana interna de las mitocondrias (Conn y Stumpf 2000, Cunningham 2003) ya que ante el exceso existente de lípidos hepáticos en el síndrome de hígado graso, dicha membrana aumenta su impermeabilidad, la L-carnitina (AA sintetizado a partir de lisina y de Metionina en hígado y riñones) actúa como transportador de los ácidos grasos hacia el interior de la misma permitiendo el aumento en la oxidación y por ende disminuyendo la acumulación lipídica en el hígado y aumentando la capacidad GNG del hígado. De igual forma algunos productos comerciales que promueven la activación de la β -oxidación peroxisomal como un camino alternativo para la oxidación de los AG en hígado, son una alternativa importante especialmente en los estados productivos en los cuales se produce una extensa movilización de AGNE como en el periodo de transición. Estos productos comerciales (por ejemplo el HEPAGEN®) actúan como proliferadores peroxisomales (activando sus receptores en hepatocito), este grupo de proteínas nucleares (cuya denominación es receptor activado por proliferadores peroxisomales) regulan la expresión de un conjunto de genes involucrados en el catabolismo de ácidos grasos, así como las vías metabólicas involucradas en la manutención del balance energético (Uauy *et al*/2000) incluso en genes responsables de la expresión de enzimas propias de la GNG.

Como ya se ha discutido ampliamente en esta revisión, el principal sustrato de la GNG hepática en rumiantes es el propionato (Church 1988, Drackley *et al*/1991, Grummer 1993, Relling *et al*/2003, González y Koenekamp 2006) de tal forma que las dietas que tengan una composición que genere mayor producción de este AGV permitirá un aumento en la GNG. Sin embargo en el periodo de transición el factor de la disminución del CMS es vital, disminuyendo por ende, tanto el suministro del propionato (producto de la fermentación ruminal) como la producción de insulina. Estos dos fenómenos generan en el animal por una parte la necesidad de buscar sustratos gluconeogénicos diferentes al C3 como el glicerol, los AA y por el otro lado el aumento en la síntesis de glucosa para los tejidos insulino-dependientes ya que al existir un nivel bajo de insulina en sangre los tejidos no dependientes de la insulina como la glándula mamaria priman en la toma de la glucosa existente en el medio lo cual disminuye su disponibilidad. Por ello es de vital importancia que dietas en la etapa de posparto temprano del periodo de transición contengan una proporción mayor de proteína (Drackley *et al*/2001) que pueda aumentar el suministro de AA como sustratos de la GNG. De igual forma se ha probado la

utilización de suministro directo de sustratos GNG diferentes a los provenientes de la dieta como infusión de glicerol o propilenglicol (Lopez-mazz *et al*/2007) que suministrarían al animal dichos metabolitos directamente de forma oral o parenteral.

Otro tipo de sustancias no nutricionales como los antibióticos y especialmente los ionoforos como la monensina. Esta sustancia es producida por el *Streptomyces cinnamonensi*, ha sido muy utilizado en la prevención de brotes de coccidiosis en aves y otras especies animales. Actualmente debido a su efecto inhibitor sobre bacterias Gram(+) y protozoarios de esta utilizando en alimentación bovina con el fin de modificar de alguna forma la actividad de fermentación en el rumen (Alvarez *et al*/1994). En general lo que busca la utilización de este antibiótico es producir un incremento en la EM liberada en el rumen debido al aumento de la producción de C3 (como precursor de la GNG) sobre los otros AGV, además de mejorar el metabolismo proteico disminuyendo la degradación ruminal de AA y péptidos dietarios, y por ultimo disminuir la ocurrencia de desordenes digestivos como acidosis ruminal y meteorismo (McGuffey *et al*/2001).

5.1.3 Control Enzimático

En el capítulo 4 se discutieron los 3 pasos limitantes en el proceso de la GNG, estos a su vez determinan cuales son las enzimas que ejercen control sobre dicho proceso. De tal forma las enzimas que están controlando principalmente el proceso de la GNG son cuatro, la piruvato carboxilasa (PC), la PPCK, la F1,6BPasa, G6Pasa, que fueron ampliamente examinadas en el capítulo 4. Dichas enzimas están controlando las siguientes conversiones, desde PIR a PEP, compuesta por dos reacciones, y finalmente de F1,6BP a F6P y de G6P a glucosa. Es importante recalcar que el control enzimático de la GNG esta a su vez controlado por las hormonas glucagon e I2.

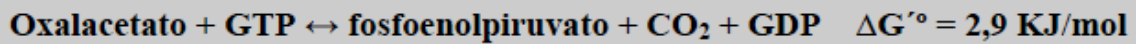
El control que ejerce la PC es ejercido por medio de metabolismo catalítico donde el ΔG (diferencial energético de la reacción) es negativo y se resumen como:



El mecanismo de control ejercido por la PC y por la PEPCK serán examinadas

a profundidad en el siguiente capítulo.

El mismo mecanismo permite el control ejercido por la PEPCK en la reacción donde se obtiene una molécula de PEP y que presenta un ΔG positivo:



Mientras que la obtención de F6P y Glucosa como tercer y cuarto paso de la GNG respectivamente tienen ΔG negativos, demostrando el alto costo energético que tiene el proceso.



Adicionalmente se puede afirmar que algunas enzimas propias de la glicólisis también pueden ejercer control de la GNG. La hexokinasa (HK) con una constante de Michaelis (K_m) de 0,1 mM, siendo un inhibidor del proceso de tipo alostérico por inhibición de producto (G6P) (Conn y Stumpf 2000). De igual forma la Gluco-quinasa con una K_m de 10mM inhibe la GNG y a su vez esta controlada por la presencia de la I2. La enzima fosfo-fructo-quinasa (PFK-1) es otro inhibidor de GNG de tipo alostérico por ATP y citrato, así como la piruvato quinasa (PK) es inhibidor alostérico por alanina, ATP y acetil Co-A. Este tipo de relaciones comprueba que el sistema glucólisis/gluconeogénesis hepático está regulado en función de la homeostasis de glucosa, más que por las necesidades energéticas del propio órgano.

De especial interés es el control ejercido por la enzima PEPCK en la GNG, ya que de las enzimas que controlan las etapas bypass del proceso es la única que presenta una forma citosólica (PEPCKc) y una forma mitocondrial (PEPCKm), las cuales tienen en general la misma actividad en el hígado de los rumiantes (Donkin *et al* 2002), sin embargo la actividad de las dos difiere en gran forma ya que la acción de la PEPCK citosólica depende de la transcripción del gen de PEPCKc y la tasa de producción de su mRNA, mientras que la acción de la forma mitocondrial es fija en el animal (Savon *et al* 1993), por estas razones la actividad de la PEPCK es tan importante para el proceso de la GNG.

5.1.3.1 Papel PEPCK (Fosfoenol-piruvatocarboxikinasa)

Como se ha venido examinando en esta revisión, el proceso de la gluconeogenesis (GNG) cumple un papel vital en cuanto al aporte de glucosa, especialmente en la vaca en estado de transición. Dicho proceso esta controlado por varios factores, entre ellos ya hemos mencionado el control hormonal y el de los precursores glucogénicos de la dieta, de igual forma existe un control enzimático dentro del cual encontramos dos enzimas principales, la fosfoenol – piruvato- carboxykinasa (PEPCK) y piruvato carboxilasa (PC), estas 2 enzimas limitan la tasa potencial de la GNG hepática a partir de precursores que entran a esta via previo a la de las triosa fosfato (Greenfield *et al* 2000).

Estas dos enzimas cumplen papeles importantes en el proceso de la GNG en reacciones vitales como la conversión de lactato a propionato (principal sustrato glucogenico) en el caso de la PC mientras que la PEPCK cumple papel vital en la conversión de Oxaloacetato (OAA) a fosfoenol piruvato (PEP) especialmente en no rumiantes esta ultima reacción es la que genera el flujo de GNG a partir de precursores de tres carbonos (Greenfield *et al* 2000). Esta enzima junto con la G6P (Glucosa 6 Fosfatasa) son consideradas como pasos limitantes de la gluconeogenesis (GNG).

Con el fin de aumentar la produccion de glucosa por parte del hígado, la PEPCK es la enzima clave que cataliza el primer paso en la GNG hepática (Govorko 2007). A su vez la PEPCK esta regulada de forma hormonal por el glucagon y corticoides por via dependiente de AMPc, mientras que el freno hormonal se realiza por medio de la Insulina que reprime fuertemente su transcripción por medio de la via de la fosfoinositidina 3 kinasa (Hall, Granner 1999).

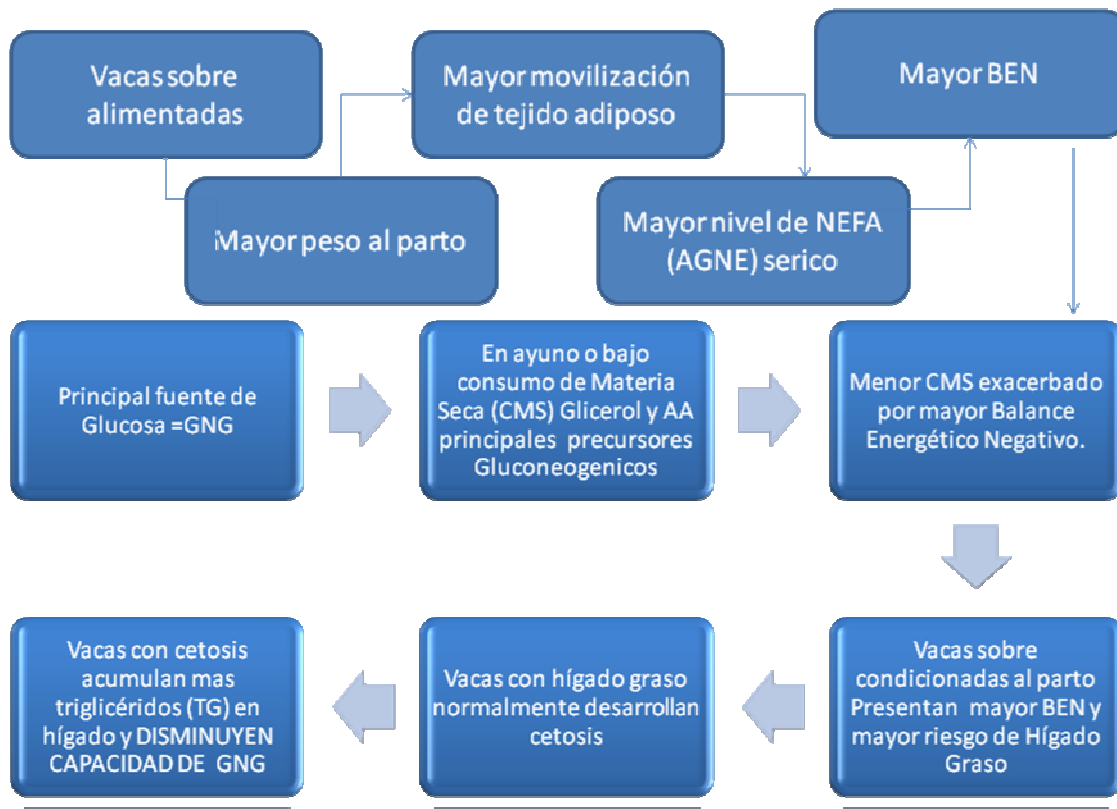
Otras enzimas como la fructosa 1-6 bifosfatasa (FBPasa), glucosa 6 fosfatasa (G6Pasa) son también de vital importancia en el proceso de la GNG,, sin embargo una de las mas estudiadas es la PEPCK debido en parte a su alta correlación con la aparición de alteraciones metabólicas como el hígado graso. Theera y col en 1999 observaron una serie de efectos tipo cascada que desencadenan la disminución de la capacidad de la vaca para generar GNG hepática, al proceso descrito se detalla en la figura 2:

La otra característica importante de estas 3 enzimas es que regulan los 3 pasos de la glicolisis que dentro del proceso de la GNG son irreversibles. La PC actua en el primer paso irreversible que es la reconversión de piruvato a oxaloacetato (OAA), la PEPCK regula el paso de OAA a fosfoenol priuvato PEP, mientras que la G6Pasa convierte el ultimo paso irreversible desde glucosa 6 fosfato hacia Glucosa.

Por otro lado el mayor nivel de NEFA en sangre debido a la movilización también es asociado a una mayor síntesis de TG en hígado. Adicionalmente las vacas con una sobrealimentación durante el periodo seco (fresco y parto) presentan una baja actividad de la enzima PEPCK, posiblemente explicada por que en dietas con alta concentración energética se genera una alta absorción directa de glucosa desde el rumen y el intestino (Theera *et al*/1999). En este respecto Galvis y col resume como que en vacas con lipidosis hepática, la actividad de las enzimas claves de la gluconeogénesis es más baja que en las vacas sanas (Galvis 2003).

En la mayoría de trabajos, la capacidad de generar glucosa a partir de la Gluconeogenesis que tiene la vaca en lactancia temprana o incluso tardía se ha medido por medio de la actividad de la enzima PEPCK (Theera *et al*/1999; Galvis 2003) y también por la medición de la actividad de PC (Bradford y col 2004). Específicamente en PC se ha comprobado que la abundancia de m.RNA esta altamente relacionado con actividad de PC en biopsias de hígado bovino (Greenfield *et al*/2000). De igual forma para la PEPCK se ha comprobado esta alta correlación (Galvis 2003; González y Koenekamp 2006). Por tanto un buen indicador de la actividad de este tipo de enzimas gluconeogenicas es la abundancia de m.RNA.

En trabajos recientes (Galvis 2003) se ha estudiado la actividad de dicha enzima en el periodo de transición, específicamente comparando el comportamiento durante el pre y el posparto, encontrando una actividad significativamente mas alta en el parto que en el posparto y dentro de este posparto no se observaron diferencias en su actividad hasta el día 24 posparto donde se aumento su actividad de forma constante hasta el día 58 aproximadamente. El nivel de aumento o disminución también ha sido evaluado (Greenfield 2000; González y Koenekamp 2006) encontrando que, el mRNA para la enzima fosfoenolpiruvato - carboxykinasa (PEPCK) aumenta de forma lenta en el periodo posparto (comparado con el aumento de mRNA de PC en 75 veces al día 1 posparto), aumentando solamente un 50% al día 28 postparto comparado a los valores parto. Mientras que en otros trabajos no se observan diferencias significativas en la actividad de PEPCK entre el pre y el posparto (Theera *et al*/1999), sin embargo otros trabajos comparan expresión de mRNA de PEPCK y encuentran únicamente niveles significativamente mayores en los 28 y 56 días posparto (cecava 2000).



Revelando por tanto que luego del posparto y específicamente durante los primeros días la actividad de enzimas como la PC y la PEPCK aumenta drásticamente, lo cual refleja la gran capacidad de adaptación que tienen las vacas de alta producción a los cambios en la demanda de glucosa (que aumentan principalmente durante la lactancia temprana) por medio del proceso de GNG al poder utilizar sustratos como lactato, glicerol, aminoácidos como la alanina, cisteína, glicina, serina, Treonina, triptófano (entre otros) para la síntesis de glucosa.

Existen 2 formas de la PEPCK que han sido ampliamente estudiadas y son la citosólica y la mitocondrial, las formas citosólicas y las mitocondriales de la enzima son codificadas por dos diferentes genes nucleares en ratones, humanos y pollos (Donkin 2002), dichas iso-enzimas tienen propiedades cinéticas similares pero son codificadas por genes nucleares separados (Hanson 1997) en todas las especies estudiadas. La enzima PEPCK citosólica bovina contiene 2592 nucleótidos y tiene 84% de similitud al codificado (de la misma enzima) de la secuencia humana (Donkin 2002). Hay diferencias también en el tipo de control hormonal para los dos tipos de enzimas, mientras que La PEPCK mitocondrial, no tiene regulación hormonal o no depende del estado fisiológico (González y Koenekamp 2006), es responsable de más del

60% de la formación de glucosa en el hepatocito de rumiantes (Aiello y Armentano, 1987) y puede que no tenga la misma restricción sobre la gluconeogénesis como la tiene en no-rumiantes (Greenfield 2000). La actividad de las iso-enzimas esta determinada de forma diferente, mientras que para la forma citosomal la misma depende de la tasa de transcripción del gene que codifica para esta iso-enzima y la tasa de producción de su mRNA, para la forma mitocondrial la actividad en el hígado es constitutiva en animales adultos y para aves se regula de acuerdo al desarrollo del animal (Donkin 2002).

La regulación hormonal que se ejerce sobre la PEPCK coincide con el control que tiene la GNG en el periodo periparto, dentro de dicho control se encuentran involucradas hormonas como insulina, glucagon, somatotropina y cortisol (González y Koenekamp 2006). En principio se sabe que hormonas como el glucagon estimulan positivamente el proceso de la GNG a partir de lactato (She 1999), acción que es inhibida por la Insulina cuyo papel principal es inhibir la formación de la glucosa por la vía del piruvato (Donkin 1999).

Durante el periodo de la lactancia temprana, como ya se había discutido el CMS disminuye, además la insulina sufre una caída considerable después del parto la cual únicamente se estabiliza a niveles normales bien adentro de la lactancia cuando el nivel de producción de leche disminuye (Cowie 1980). Estos dos factores sumados a un aumento en la concentración de somatotropina generan un aumento en la tasa de gluconeogenesis a partir de propionato y de sustratos que utilizan la vía del piruvato como alanina y lactato (Donkin 1999), por tanto se espera que especialmente durante este periodo (lactancia temprana) la actividad de la enzima PEPCK (conversión de OAA a PEP) sea alta, teniendo en cuenta que los precursores como lactato y alanina utilizan una vía de alta actividad (por el control hormonal ejercido) como la del piruvato.

En la mayoría de los experimentos se ha realizado la medición de la actividad de esta enzima por medio de la cuantificación del RNA mensajero (mRNA) debido a que se ha citado su alta correlación con la actividad de la enzima (Donkin *et al* 2001, Galvis 2003) sin embargo una metodología que podría ser mas acertada y de mayor interés es la cuantificación de la expresión del gen que codifica para la síntesis de PEPCK, ya que es el otro factor (junto con la producción de su mRNA) que determina la actividad de PEPCK para el proceso de GNG. (Savon *et al* 1993).

a. Regulación Expresión mRNA de PEPCK

Normalmente este ha sido el factor que mas se ha estudiado y desde el cual se concluye la actividad gluconeogenica del animal (Galvis *et al*2003), dicha regulación esta controlada por una parte por la insulina, que como se sabe, al menos en ratas (Dobson *et al*1992) inhibe la transcripción y la acumulación de mRNA de PEPCK en hepatocito. Mientras Galvis (2003) encontró una menor expresión de ese RNA mensajero durante el periodo posparto temprano que en el parto, otros autores (Greenfield *et al*2000) únicamente encontraron valores significativamente mayores en la expresion del RNA mensajero para PEPCK durante el posparto tardio (56 dias), de igual forma afirma 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 (cuyos requerimientos aumentan drásticamente en la lactancia temprana), la disponibilidad de precursores gluconeogénicos y la disponibilidad de sustratos para oxidación en el hígado de vacas en la lactancia temprana. En general la expresión del RNA mensajero de PEPCK y sobre todos los cambios en dicha expresión de acuerdo con el momento del estado productivo de la vaca, sirve como reflejo del nivel de adaptación del animal a los retos metabolicos y las necesidades nutricionales, especialmente de glucosa y sobre todo al principio de la lactancia (Hartwell *et al*2001).

b. Regulación transcripcional PEPCK

Siendo uno de los dos aspectos de condicionan la actividad de la PEPCK, la transcripción del gen que codifica para PEPCK. Diversos estudios han determinado sustancias que activan la transcripción de este gen, Xu (2005) identifico a la proteína mitogeno-activada de especificidad dual kinasa fosfatasa 3 (MKP-3) como el gen candidato que en primer lugar antagoniza con la insulina (favoreciendo en términos generales la actividad de la GNG) y generando su supresión (que genera la I2) en la transcripción del gen que condifica para PEPCK. En general los compuestos que tengan acción anti hiperglicemica, que es la acción que se presenta en alteraciones como la diabetes o baja actividad de I2 o alta actividad gluconeogenica, han sido identificados como supresores de la transcripción y en general de la expresión del gen de PEPCK. Govorko (2007) identifico extractos etanolicos de *Artemisia dracuncululus L.*, con una accion anti hiperglicemiente en modelos animales previamente reportados, los cuales disminuyeron la expresión de mRNA de PEPCK en ratones con diabetes inducida.

Mientras que hormonas como el glucagon y hormonas propias del estrés como los corticoides regulan positivamente la expresión y transcripción del gen PEPCK en los hepatocitos por medio de la vía dependiente del cAMP (hanson *et al*/1997) y como ya se había indicado la I2 inhibe fuertemente su transcripción por medio de la activación de la vía fosfoinositidina-3 kinase (PI3K). Sin embargo se ha demostrado que los hepatocitos resistentes a I2, que son incapaces de transformar efectivamente la señal de la I2 conllevan a una disminución en la transcripción del mRNA de PEPCK, de esta forma la síntesis de novo de glucosa o GNG puede persistir a pesar del alto nivel de glucosa en sangre (Quinn 2005)

Por ello los compuestos que son capaces de reprimir la expresión de PEPCK y superar la resistencia a la I2 puede constituir una nueva clase de agente para disminuir la glucosa en sangre de gran importancia en la investigación médica y bioquímica en humanos (govorko *et al*/2000). Precisamente en estudios practicados con humanos (Ludwing *et al*/1995) evaluo la hipótesis de que las mutaciones en el gen promotor de PEPCK puede alterar la habilidad que tiene la I2 para suprimir la producción hepática de glucosa y por lo tanto contribuir tanto a los problemas de resistencia a la insulina, (de interés en medicina humana) e incrementar la tasa de GNG en pacientes con DMNDI (diabetes mellitus no dependientes de I2). Teniendo en cuenta lo expuesto, es de vital importancia la investigación en el tipo de regulación que tiene la expresión del mRNA y transcripción del gen de PEPCK, primero por ser la enzima limitante de GNG (Govorko *et al*/2007) y por estar tan íntimamente relacionada con la acción inhibitoria de la I2 en el proceso de la GNG.

5.2 FACTORES LIMITANTES DE LA GNG EN EL PERIODO DE TRANSICION.

Infortunadamente para el status nutricional del animal durante el periodo de transición, los principales procesos homeorréticos que se desencadenan durante el mismo privilegian al útero, (en el periodo seco) al final de la preñez, y a la glándula mamaria, (periodo posparto temprano) al inicio de la lactancia (Bauman y Currie, 1980). De esta forma se puede afirmar que la mayoría de alteraciones nutricionales y metabólicas que se presentan en el periodo de transición corresponden a factores que limitan la GNG.

El primero de ellos es el exceso de movilización lipídica que ocurre en el periodo de transición y especialmente en la lactancia temprana por el aumento drástico en los requerimientos de nutrientes (energía principalmente) al inicio de la lactancia. Dicho exceso genera una acumulación de TG a nivel hepático

(lipidosis hepática) (Cunningham 2003, Rellin *et al*2003, Galvis *et al*2003). Igualmente la ocurrencia de esta alteración metabólica se presenta en vacas sobre condicionadas al parto (Wattiaux *et al*2000, Church 1988) y se ha demostrado que en este tipo de vacas (sobre condicionadas al parto y en consecuencia con hígado graso) la actividad de las enzimas gluconeogénicas es más bajas que en las vacas que no presentan dicha alteración (Drackley *et al*2001, Galvis *et al*2003). Aunque recientemente algunos autores (Armentano 1998) han determinado que la infiltración de grasa en el hígado por sí no afecta la GNG por parte de los hepatocitos bovinos.

Otro de los factores de gran impacto y que afecta grandemente el proceso de la GNG es la disminución del CMS, un fenómeno típico de las hembras de los mamíferos. La causa última de la limitación de este factor en el proceso de la GNG es que con la disminución del CMS se disminuye el aporte de fibra a la dieta y con ello el de ácido propiónico o propionato (C3) al medio (Drackley 2001). El C3, como se ha venido discutiendo, es el principal precursor de la GNG hepática en bovinos (Church 1988, Correa 2001, Drackley *et al*1999) contribuyendo con cerca del 50% de la glucosa obtenida por medio de GNG. Debido a esto el hígado debe servirse de nuevos sustratos como el glicerol, proveniente de la movilización de lípidos desde el tejido adiposo y los AA provenientes de la movilización de proteína y especialmente glutamato, glutamina, aspartato y alanina (Marchesini *et al*2000). Estos dos casos típicos durante un estado de balance energético negativo (BEN) donde cobran mayor importancia, así como el lactato producido por los músculos (con ejercicio o ayuno prolongado) que es sustrato gluconeogénico en especial en el riñón (Correa 2001). Sumado a este factor está la diferencia entre la recuperación del CMS normal del animal y el aumento en la producción de leche y con ello de requerimientos nutricionales, por lo que normalmente se puede esperar que en un hato de alta producción la gran mayoría de los animales se encuentren en BEN hasta aproximadamente los 100 días en leche.

La característica del tejido mamario de ser insulínico-independiente, permite que con las bajas concentraciones plasmáticas de I2 que pueden observarse en el periodo de transición, la glándula mamaria (GM) tome la poca glucosa disponible en la sangre que queda luego de la fermentación ruminal (Relling *et al*2003, Cunningham 2003) aumentando así el déficit de glucosa del sistema y forzando al hígado a tomar sustratos gluconeogénicos diferentes al C3 (disminuido por el bajo CMS).

De igual forma los niveles de amonio hepático pueden disminuir la eficiencia y la actividad de las enzimas de la GNG (Galvis *et al*2003, González y

Koenekamp 2006). Se ha determinado en incubaciones in vitro de hepatocitos aislados con cloruro de amonio la fuerte inhibición de la GNG que tiene como sustrato C3, de tal forma que la mencionada inhibición de la función y la actividad gluconeogénica por exceso y acumulación de TG en hígado, pudiera ocurrir modulado por el aporte de amonio al hígado (Overton y Piepinbrink, 2002). De esta forma tenemos que el nivel de amonio en sangre y en hígado puede afectar la GNG, por ello los niveles y los tipos de proteína (en caso de tratarse de NNP) en los forrajes se pueden convertir de igual manera en factor limitante de la GNG. Aunque algunos autores (Zhu *et al* 2000), han identificado un aumento de hasta el doble de lo normal en las concentraciones periféricas de amonio, en el momento en que las concentraciones de TG hepáticos aumentaron durante los dos primeros días posparto.

No debe descartarse el factor cultural como limitante en el proceso de la GNG, explicado desde el punto de vista del tipo de dietas suministradas al ganado denominado horro "desembarazado" o "vacío", las cuales por tradición van desde los forrajes de los potreros de peor calidad o rastrojos del potrero de los demás grupos de producción del hato, hasta desechos de ensilaje (García 2009). Sabiendo que incluso con el sistema de alimentación tradicional basado en forrajes, la relación C2:C3 y FDN: CNE es alta generando disminución en el principal sustrato gluconeogénico, el manejo que se sigue dando a este grupo de animales no es el adecuado, teniendo en cuenta que el futuro nivel de producción dependerá del éxito con que transcurra el periodo de transición de una vaca (Correa 2001). Es por esto que se debe prestar especial cuidado en la formulación de sistemas de alimentación adecuados para el periodo de transición.

6. NOCIONES PARA EL DESARROLLO DE MODELOS DE ALIMENTACIÓN DE LA VACA LECHERA EN EL POSPARTO

Es importante fijar como objetivo central, en cualquier estrategia o modelo de alimentación para un grupo de vacas en transición, reducir la incidencia de alteraciones metabólicas y de estatus nutricional (BEN) ya que como se ha discutido en esta revisión son los principales problemas a nivel nutricional que se presenta y que adicionalmente está relacionado con la aparición de enfermedades reproductivas. Sumado a esto, el modelo de alimentación debe estar enmarcado en correctas prácticas de manejo como el correcto secado de las vacas, constante evaluación de condición corporal (GCC) buscando un score al parto de aproximadamente 3.5, así como (de ser posible) una

separación entre grupos de vacas secas dependiendo de si están en periodo seco fresco o parto (Correa 2001). Además se debe tener siempre presente que el paso de un estado de preñez no lactante (vaca parto) a un estado de no preñez y lactante (vaca postparto) es a menudo una experiencia desastrosa para la vaca lechera (Goff *et al*/1997).

Normalmente se han recomendado tres estrategias u objetivos específicos con el fin de prevenir o en su defecto atenuar las alteraciones nutricionales del parto y con ello las metabólicas. La primera de ellas es preparar al rumen para la dieta postparto (Church 1988, Garcia 2009, Melendez 2008) ya que cuando el rumen no ha sido preparado de forma adecuada se pueden observar distintos tipos de complicaciones pero las tres más frecuentes son la acidosis (clínica/subclínica), la laminitis e incluso el desplazamiento del abomaso, las cuales más adelante pueden producir problemas metabólicos y se manifiestan como hígado graso y cetosis. (Garcia 2009).

Teniendo en cuenta que en algunas explotaciones aun se maneja el paso de vacas vacías desde potreros con bajo aporte nutricional hacia una dieta con aporte de abundante suplemento concentrado mientras que el ambiente físico (pH) y químico (papilas Ruminales y poblaciones microbianas) del rumen no se encuentra preparado para el cambio drástico de dieta (Church 1988). Por ello las primeras recomendaciones para la construcción de este modelo van dirigidas hacia ese acostumbramiento que puede realizarse con el suministro del concentrado que puede ser para parto o con bajas inclusiones del concentrado de lactancia (Melendez 2008, Garcia 2009) con el fin de generar poblaciones microbianas especializadas en el tipo de alimento que van a recibir en el postparto y en el periodo de producción para disminuir con ello un cambio abrupto.

De igual forma se recomienda mantener un nivel constante de fibra, limitar el consumo de energía para evitar un sobre condicionamiento al momento del parto (Correa 2001, Melendez 2008) además de evitar el exceso del consumo de proteína cruda, ya que los requerimientos nutricionales de proteína cruda (NRC 2001) no es superior a 13%. Adicionalmente algunos nutricionistas recomiendan el uso de bloques de sal o incluso sales aniónicas con el fin de optimizar la posterior (en la lactancia temprana) absorción de vitaminas, específicamente la D y la E (Church 1988, Melendez 2008)

La segunda estrategia, en este tipo de modelos, busca el mantenimiento de la calcemia o nivel de Ca^{++} en sangre ya que el mantener una concentración adecuada de calcio en sangre durante el periodo de transición de la vaca lechera resulta muy importante. Cuando se producen caídas leves de la calcemia

hay reducción del consumo, disminución del tono del músculo liso y aumentan la retención de placenta (Cunningham *et al*/2003), desplazamiento de abomaso y mastitis. Por ello un paso fundamental para mantener una calcemia adecuada es mantener un balance iónico correcto que no es mas que el balance entre cationes y aniones, el cual debe tender a la neutralidad, a menudo denominado DCAD (NRC 2001), esta consideración cobra mayor importancia en el caso de las vacas próximas es recomendable en donde el DCAD debe tender a ser negativo (más aniones que cationes) ya que esto favorece la movilización y absorción del calcio, uno de los problemas más frecuentes de la vaca en transición y que puede generar la denominada fiebre de leche (Church 1988, Wattiaux 2000, Correa 2001, Garcia 2009).

Se puede recurrir a los métodos tradicionales como la restricción del Ca⁺⁺ en la dieta (Correa 2001, Melendez 2008) de tal forma que el consumo total diario puede ser menor a 20gr/d. Este manejo del Ca⁺⁺ debe tener especial atención durante las 3 ultimas semanas posparto ya sea por el método tradicional (restricción de Ca⁺⁺ dietario) o por métodos que busquen generar una DCAD negativo como por ejemplo las sales anionicas anteriormente descritas. Sin embargo hay que tener en cuenta factores de predisposición para la presentación de hipocalcemia como la edad (animales mayores a 4 años), nivel de producción de leche (animales especializados), nivel de ejercicio (vacas estabuladas), nivel de estrés (partos, cambios hormonales) e incluso la raza. Existen nuevos enfoques dirigidos a generar ese ambiente idóneo para la correcta absorción de vitamina D y E por medio de la acidificación de la dieta, demostrando que puede ser mas efectivo que la utilización de sales anionicas.

Otra de las estrategias que se busca con el modelo es el fortalecimiento del sistema inmunitario, que se ve alterado debido al cambio drástico ocurrido durante el parto y luego de el, especialmente durante la producción del calostro. El proceso del parto puede disminuir la capacidad de los leucocitos para actuar contra infecciones. Una de las formas de mejorar el status inmunitario de la vaca es el suministro de Se (3 mg/d). También ayuda la administración de 1000 UI/d de vitamina E y cantidades suplementarias de cobre (100 mg/d) y zinc (400 mg/d), al tiempo que se suministra una dieta que contempla los requerimientos de proteína y energía del animal (1.6 kg de proteína y 1.6 Mcal de ENI por libra de alimento). (Garcia 2009).

Existen otros modelos diseñados en la base de investigar las ventajas que tiene el hecho de adaptar las poblaciones microbiales así como las papilas Ruminales a las dietas posparto. Además buscan disminuir la movilización de grasa y con ello disminuir la incidencia de alteraciones metabólicas como el síndrome de hígado graso, sin embargo este tipo de metodologías requiere un

trabajo mas extenso y fuera de campo, mas relacionado con el trabajo de dietas a modo experimental y con respuestas altamente condicionadas (Melendez 2008, Garcia 2009, Drackley 2009). Sin embargo se debe tener en cuenta que el desarrollo de este tipo de modelo no conducirá de ninguna forma a mejorar el balance de energía negativo en el posparto (BEN) o a la presentación del periodo de transición (Drackley 2009).

7. BIBLIOGRAFIA CITADA

- Aiello, R. J. y L. E. Armentano. 1987. Gluconeogenesis in goat hepatocytes is affected by calcium, ammonia and other metabolites but not primarily through cytosolic redox state. *Comp. Biochem. Physiol.* 88B:193-201.
- Alvarez. L.I., Sanchez S.F, Lanusse C.E., 1994. Bases farmacológicas de las modificaciones del metabolismo ruminal por el ionoforo ruminal. *Revista de medicina veterinaria Argentina* 75: No 1 30-40.
- Andresen. H. S. 2008. En *La vaca en transición*. *Prof. Emérito UNM San Marcos, Perú. www.perulactea.com, www.produccion-animal.com.ar
- Armentano L.E, and Donkin S.S. Insulin and Glucagon Regulation of Gluconeogenesis in Preruminating and Ruminating Bovine. Department of Dairy Science, University of Wisconsin – Madison, J. h i m . Sci. 1995. 733546-551
- Baldwin R.L. y M.J. Allison 1983. *Journal of animal Sci.* 57 suppl 2: 461
- Barry J. Bradford and Michael S. Phlorizin Administration Increases Hepatic Gluconeogenic Enzyme mRNA Abundance but Not Feed Intake in Late-Lactation Dairy Cows 1–3 . Allen4 *Department of Animal Science, Michigan State University, East Lansing, MI 48824 2004*
- Bauman, D. E. and B. Currie. 1980. Partitioning of nutrients pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorresis. *J. Dairy Sci.* 63: 1514 – 1529.
- Bauman, D.E., and W.B. Currie. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorresis. *J. Dairy Sci.* 63:1514
- Bell, A.W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73 : 2804.

- Blaxter K.L. 1962 The energy metabolism of ruminants. Charles C. Thomas, Springfield, IL.
- Block E. and William K. Sanchez. Special Nutritional Needs of the Transition Cow. Church & Dwight Co., Inc. 2000
- CHURCH. D.E. EL RUMIANTE, FISILOGIA DIGESTIVA Y NUTRICION 1988, EDITORIAL ACRIBIA SA P, Cap 8; 168-172, Cap 3; 283
- Conn. E. Stumpf P. Bruening G, BIOQUIMICA FUNDAMENTAL, . Doi R. 5ta edición 2000
- Correa H.J. Limitante nutricionales y metabólicos para la producción bovina en el trópico alto: el caso de los sistemas de producción de leche, hector jairo correa Cardona, facultad de ciencias agropecuarias, universidad nacional de colombia, medellin 2009
- [Correa H.J. 2001. CARACTERIZACION DEL PERIODO DE TRANSICION, Universidad Nacional de Colombia Departamento de Producción Animal](#)
- Correa H.J. 2004. LA VACA EN TRANSICIÓN: METABOLISMO Y MANEJO NUTRICIONAL Héctor Jairo Correa Cardona Universidad Nacional de Colombia Departamento de Producción Animal hjcc_unal@hotmail.com , Seminario Nacional de Lechería Especializada: Bases Nutricionales y su Impacto en la Productividad
- Correa H.J. Valor nutricional del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hoechst Ex Chiov.) para la producción de leche en Colombia (Una revisión): I - Composición química y digestibilidad ruminal y posruminal H J Correa C, M L Pabón R* y J E Carulla F** *Departamento de Producción Animal, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín hjcorreac@unal.edu.co* *Livestock Research for Rural Development* 20 (4) 2008
- Cunningham James . E. FISILOGIA VETERINARIA tercera edición 2003
- Dobson Bortoff k. Messina J.L, 1992. protein synthesis and insulin regulation of p33 and PEPCCK gene expression. *Journal of mollecular and celular endocrinology*. Vol 84. N1-2 pp. 39-46.
- DRACKLEY J.K. ADSA FOUNDATION SCHOLAR AWARD Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier? Department of Animal Sciences University of Illinois 1999 *J Dairy Sci* 82:2259–2273
- Drackley J.K. Dry Cow and Transition Cow Nutrition: Controlled Energy Diets. Department of Animal Sciences University of Illinois at Urbana-Champaign email: drackley@uiuc.edu INTRODUCTION 2009
- Eicker S, Ferry K, Seven S, St Paul, MN John Fetrow Monitoring Transition Cow Programs, St Paul, MN Paul Rapnicki, St Paul, MN

From the Proceedings of the Minnesota Dairy Health Conference College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, May 2003

- Fulkerson W J, Slack K and Havilah E 1999 The effect of defoliation interval and height on growth and herbage quality of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*); *Tropical Grasslands*. 33: 138 – 145 http://www.tropicalgrasslands.asn.au/Tropical%20Grasslands%20Journal%20archive/PDFs/Vol_33_1999/Vol_33_03_99_pp138_145.pdf
- Galvis R. D, Correa H. J, Ramírez N, Soler W. Influencia de las alteraciones metabólicas sobre la actividad PEPCK, la generación de IGF-1 plasmático y la reactivación ovárica en vacas en la lactancia temprana. , *Biol, MS*. 2003
- Garcia A. Alimentación preventiva de la vaca en transición. *Extension Dairy Specialist, South Dakota State University, South Dakota Cooperative Extension service*, January 2009 Dairy Science
- González F. y Koenekamp I . 2006 Adaptaciones metabólicas hepáticas en el período periparto en vacas de alta producción de leche Pontificia Universidad Católica de Chile Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal Departamento de Ciencias Animales,
- Govorko D, Logendra S, Yanxin Wang, Debora Esposito, Slavko Komarnytsky, David Ribnicky, Alexander Poulev, Zhong Wang, William T. Cefalu, and Ilya Raskin. Polyphenolic compounds from *Artemisia dracuncululus L.* inhibit PEPCK gene expression and gluconeogenesis in an H4IIE hepatoma cell line *Pennington Biomedical Research Center, Baton Rouge, Louisiana* 24 August 2007
- Greenfield, M. J. Cecava, and S. S. Donkin Changes in mRNA Expression for Gluconeogenic Enzymes in Liver of Dairy Cattle During the Transition to Lactation *J. Dairy Sci.* 2000; 83: 1228-1236.
- Greenfield R*, Jennifer r. Hartwell†, AND SHAWN S. DONKIN‡ 2002 Cloning and characterization of bovine cytosolic and mitochondrial PEPCK during the transition to lactation *Cansu agca*,
- Grummer, R. R. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:3882–3896.
- Hall RK, Granner DK. Insulin regulates expression of metabolic genes through divergent signaling pathways. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 10: 119–133, 1999.
- Hanson RW and Reshef L. Regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) gene expression. *Annu Rev Nutr* 66: 581, 1997.
- Harkin, J.M 1973 En *Chemistry and Biochemistry of herbage*, Vol 1, P 323. G.W. Butler R.W. Bailey eds. Academic Press New York, NY.

- Hartwell JR, Cecava MJ, 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 :490-97.
- Hutjens, M. Extension dairy specialist, Feb 24 -1999. Managing the Transition
Cow.<http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=548>
- King Michael W. Ph.D / indiana university school of medicine. Gluconeogenesis and glycolysis, regulating blood glucose mechanism. Junio 1996
- Kunz, P. L., J. W. Blum, I. C. Hart, H. Bickel y J. Landis. 1985. Effects of different energy intakes before and after calving on food intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. *Anim. Prod.* 40:219-231.
- López-Mazz, Ca; Regueiro, Ma; Carriquiry, Ma; Crooker, Bb; Pérez-Clariget
The administration of a neoglucogenic solution increases follicular recruitment in anoestrous ewes. Departamento de Producción Animal y Pasturas , Facultad de Agronomía, Universidad de la República y Department Animal Sciences, Universidad de Minnesota, USA
- Lenstra J.A., Bradley D.G., Systematics and phylogeny of cattle. CABI international 1999 in *The genetics of cattle*.
- Madsen A. Metabolism in liver cells. In: Riis PM. *Dynamic Biochemistry of Animal Production*. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B.V., 1983. p. 53 - 74.
- Marchesini, S., and M. W. King. 2000. <http://www.med.unibs.it/~marchesi/subjects.html>
- Margaret E. M. Tolbert and John N. Fain. Studies on the regulation of gluconeogenesis in isolated rat liver cells by epinephrine and glucagon. Division of biological and medicinal sciences, Brown university providence. *Journal of biochemical science*, september 17, 1973
- McGuffey R.K, Richardson L.F and Wilkinson J.I.D, 2000. Ionophores for dairy cattle; current status and future outlook. *J. Dairy Science* 84 E. Suppl. E. 194 E203.
- Melendez P. MV, MS, PhD Manejo de la vaca lechera en el período de transición Universidad Santo Tomás – Universidad de Florida Simposio Proyecto Bayer CHILE 13 de Junio, 2008 Saint Thomas University, University of florida
- Michel A. Wattiaux Louis E. Armentano 2000 *Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera Esenciales Lecheras Cap 3, Universidad de Wisconsin-Madison* babcock@calshp.cals.wisc.edu 9

- Moya J. R. y C. Coppock 1997 EFECTO DE DOS SISTEMAS DE ALIMENTACIÓN PREPARTO EN EL COMPORTAMIENTO LECHERO DE VACAS HOLSTEIN AL PRINCIPIO DE LA LACTACIÓN. Universidad de Puerto Rico y Texas A & M.
- National Research Council, 2001. The Nutrient Requirement of Dairy Cattle. Seventh revised edition. National Academy Press, Washington, D. C. Cap 9. 184 p.
- Overton TR, Drackley JK, Douglas GN, Emmert LS, Clark JH (1998) Hepatic gluconeogenesis and whole-body protein metabolism of periparturient dairy cows as affected by source of energy and intake of the prepartum diet. *J Dairy Sci* 81(Suppl 1):295 (Abstr).
- Overton, R. y M.S. Piepenbrink, 2002. Managing metabolism through nutrition – Part 1. *International Dairy Topics*.1(2):11-13.
- Pilkis, S. J., and D. K. Granner. 1992. Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Annu. Rev. Physiol.* 54:885–909.
- Quinn PG, Yeagley D. Insulin regulation of PEPCK gene expression: a model for rapid and reversible modulation. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 5: 423–437, 2005.
- Reference values for laboratory animals, normal clinical chemistry values (table 2). Research animal resources university of minnesota.
- Relling A. Mattioli G. 2003. Fisiología digestiva y metabolica de los rumiantes. Actualizacion. Ohio State University, Facultad de ciencias veterinarias, universidad mar del plata.
- Reynolds. C. K, Maltby. S. Regulation of Nutrient Partitioning by Visceral
- Savon S, Hakimi P, and Hanson RW. Expression of the genes for the mitochondrial and cytosolic forms of phosphoenolpyruvate carboxykinase in avian liver during development. *Biol Neonate* 64: 62-68, 1993.
- She, P., G. L. Lindberg, A. R. Hippen, D. C. Beitz y J. W. Young. 1999. Regulation of messenger ribonucleic acid expression for gluconeogenic enzymes during glucagon infusions into lactating cows. *J. Dairy Sci.* 82:1153-1163.
- Stalling, C. C. 1999. Transition Cow Nutrition. In: Poceedings Virginia Tech. Feed and Nutritional Management Cow College. <http://www.dasc.vt.edu/nutritioncc/ccs99.pdf>
- Strang, B. D., S. J. Bertics, R. R. Grummer, and L. E. Armentano 1998. Effect of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis, and ureagenesis in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 81:728–739.
- THEERA R. THEO W, and MATH J. H. GEELLEN, 1999Effect of Fatty Liver on Hepatic Gluconeogenesis in Periparturient Dairy Cows.

*Department of Large Animal Medicine and Nutrition and Laboratory of Veterinary Biochemistry, Utrecht University, The Netherlands

- Tissues in Ruminants. 1993. USDA, Agricultural Research Service, Livestock and Poultry Sciences Institute, Ruminant Nutrition Laboratory,
- Uauy R. Martinez J.I, Rojas C. V. Molecular nutrition: regulation of lipid metabolism by peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) their relationship to obesity and diabetes mellitus. Rev. Med. Chile. V. 128. N.4. Santiago Abr. 2000.
- Van Saun R. J. Transition cow Nutrition and Management: The Key to Herd Reproductive Performance , Department of Veterinary Science Penn State University 2002
- Van Soest, P.. Nutritional ecology of the ruminant. Second Edition. Cornell University Press, Ithaca, New York. 1994
- Veenhuizen, J. J., J. K. Drackley, M. J. Richard, T. P. Sanderson, L. D. Miller, and J. W. Young. 1991. Metabolic changes in blood and liver during development and early treatment of experimental fatty liver and ketosis in cows. J. Dairy Sci. 74:4238–4253.
- Zhu L. H., L. E. Armentano, D. R. Bremmer, R. R. Grummer y S. J. Bertics. 2000. Plasma concentration of urea, ammonia, glutamine around calving, and the relation of hepatic triglyceride, to plasma ammonia removal and blood acidbase balance. J Dairy Sci 83:734–740