

INFLUENCIA DE LA NUTRICION EN LAS ENFERMEDADES DE LA PRODUCCION DE LAS VACAS LECHERAS EN TRANSICION.

Carlos N. Corbellini, MV, Ph.D.

Proyecto Lechero – E.E.A. Pergamino
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina
e-mail: ccorbellini@infovia.com.ar

Resumen:

El ciclo productivo de una vaca lechera puede ser dividido en: período de vaca seca temprana, período de transición (últimas 3-4 semanas de preñez y primeras 3-4 semanas de lactancia), lactancia media y final de lactancia. Cada una de esas etapas se caracteriza por cuadros endocrinológicos, inmunológicos y nutricionales particulares, lo que condiciona la repartición de los nutrientes entre diferentes órganos y tejidos. Es durante el período de transición que las deficiencias y/o desequilibrios nutricionales suelen ser el origen de las denominadas “enfermedades de la producción” que, además de incluir a los clásicos desórdenes metabólicos (cetosis, hígado graso, hipocalcemia puerperal, tetania hipomagnesémica), abarca a un conjunto de afecciones clínicas o subclínicas, como afuncionalidad de los preestómagos, afecciones podales, trastornos reproductivos y mayor incidencia de algunas enfermedades infecciosas. Todas estas enfermedades reconocen a distintos factores nutricionales de riesgo y tienen la característica de estar relacionadas. Para minimizar esos factores de riesgo, durante el período de transición hay que lograr una paulatina adaptación del rumen a las dietas de alta densidad energética y proteica que se ofrecen en la lactancia temprana, maximizar la recuperación del consumo voluntario que se ve deprimido durante el periparto e implementar una suplementación vitamínico-mineral que alivie el estado de inmunosupresión que caracteriza el período y que prevenga las hipocalcemias puerperales clínicas y subclínicas. En esta revisión, se analizan además, la influencia del balance energético y el ingreso proteico sobre la eficiencia reproductiva, así como los factores nutricionales asociados a enfermedades podales y la importancia de los llamados “nutrientes antioxidantes”.

Summary:

Nutrition influence on production diseases in the transition dairy cows.

The productive cycle of a dairy cow can be divided in: early dry cow, transition cow (between 3-4 last weeks of pregnancy and first 3-4 weeks of lactation), middle lactation and end of the lactation. Each one of these phases is characterized by clearly defined endocrinological, immunological and nutritional pictures, which can affect the nutrient repartitioning among organs and tissues. During the transition period, very often nutritional deficiencies and/or imbalances may be the root of the so-called “production diseases”, it means not only the classical disorders of homeostasis as ketosis, fatty liver, milk fever and hypomagnesemic tetany, but also a broad spectrum of clinical or subclinical disturbances as rumen acidosis, abomasun

displacia, laminitis, reproductive failures due to several causes and increase incidence of some infectious diseases. All these problems may have nutritional factors of risk and usually are strongly correlated each other. Primary goals of a good nutrition of the transition cow should be: meeting the nutrient needs for maintenance, fetal growth and milk production; preparing the digestive system for the change to a low to a high plane of nutrition; to allow for a rapid return to normal feed intake, which is depressed at peripartum; to optimize the beginning of estrous cycles and optimize fertility; to give a adequate vitaminic-mineral supplementation, particularly with the antioxidants micronutrients and anionic salts, to alleviate the immunosupresion characteristic of this phase and for preventing clinical and subclinical hipocalcemia, respectively.

I – Las enfermedades de la producción en las vacas lecheras:

Bajo el término global de “enfermedades de la producción” en vacas lecheras se incluyen actualmente no solamente los clásicos desórdenes metabólicos resultantes de deficiencias y/o desequilibrios nutricionales o asociadas a fallas en los mecanismos homeostáticos de control (como la cetosis clínica, la hipocalcemia puerperal, la tetania hipomagnésica y algunas enfermedades de los estómagos, como la acidosis ruminal, el meteorismo espumoso y el desplazamiento del abomaso), sino también a todo un conjunto de afecciones clínicas y subclínicas, ligadas no sólo a la cantidad y calidad del alimento suministrado, sino también a la interacción entre los distintos nutrientes, la forma y tiempo de suministro de los alimentos, los niveles de producción y la forma en que los nutrientes son canalizados en forma diferencial a diferentes órganos y tejidos, por los mecanismos homeoréticos de control, de acuerdo al cuadro endocrinológico predominante en los diferentes estadios productivos y reproductivos por los que va atravesando el animal^(4,12,26,57,64,144). Es un concepto que un pionero como Payne, describió en los 70's como “trastornos del medio interno debido a desbalances entre el “input”, “throughput” y “output” de los nutrientes “⁽¹²⁵⁾. Es así, que se han ido identificando diferentes factores nutricionales de riesgo para una cantidad de problemas sanitarios que suelen observarse en las granjas lecheras (**FIGURA 1**). La mayoría de estas afecciones ocurren en el parto y tienen la característica de estar fuertemente relacionadas entre sí, como lo demuestran distintos estudios epidemiológicos^(41,42,64). (**FIGURA 2**). Sobre todo los ejes metabólico-nutricionales que controlan el metabolismo del Ca, Mg y P y aquellos que regulan el uso de la energía de la dieta, parecen ser los más comprometidos, aunque se va agregando evidencia de la relación entre los sistemas endócrinos que controlan el metabolismo intermedio y aquellos que regulan el sistema inmunológico⁽⁴⁷⁾, lo que podría explicar por qué algún proceso de aparente “salida” infecciosa, podría tener una fuerte base metabólico-nutricional inicial.

Una proporción importante de estas enfermedades de la producción (partos distócicos, natimortos, retención de placenta, endometritis, desplazamiento del abomaso, hipocalcemia postparto, edema de ubre, mastitis postparto por patógenos ambientales, etc) ocurren por lo general en las primeras dos semanas de

lactancia, pero, además, otros insucesos que emergen clínica o subclínicamente más tarde (laminitis, anestro, ovarios quísticos, muertes embrionarias, etc), pueden tener su origen en las deficiencias o desequilibrios nutricionales que sufre la vaca lechera de alto potencial genético de producción en el llamado “período de transición”, es decir aquel que abarca las 3-4 últimas semanas de gestación y las primeras 3-4 semanas postparto. Existe cierta evidencia que sugiere que la prevalencia de estos trastornos se ha ido incrementando a medida que aumentó el potencial genético de producción⁽⁶⁹⁾ y, si, por ejemplo, a nivel práctico parece existir una correlación negativa entre el nivel de producción y la eficiencia reproductiva o la aparición de otras enfermedades^(18,69), estudios detallados, ya sea sobre un número relativamente pequeños de animales en condiciones experimentales bien controladas⁽¹³¹⁾ o estudios epidemiológicos extensivos de campo⁽⁸⁷⁾, no siempre lo han conseguido demostrar. Lo que sí parece suceder, es que, de las dos características fisiológicas que diferencian a un animal de alto mérito genético de otro de menor potencial (capacidad de consumo y capacidad de repartición de nutrientes)^(4, 141), no han crecido ambos en forma paralela, por lo que la capacidad de movilización de los tejidos de reserva parece ser más elevada en los animales de alto mérito⁽³⁹⁾, lo que los hace más vulnerables a desbalances alimentarios sutiles, en aras de sostener su potencial de producción^(26,71).

II – Las características fisiológicas, nutricionales e inmunológicas de las vacas lecheras en transición:

El ciclo productivo de una vaca lechera puede ser dividido en: primer período de vaca seca (3-5 semanas), período preparatorio del parto (últimas 3 semanas de gestación), lactancia temprana (3-5 semanas), lactancia media y final de lactancia (últimos 90-100 días), cada uno de los cuales se caracteriza por cuadros hormonales⁽⁷⁰⁾ e inmunológicos⁽⁵⁹⁾ diferentes, distintos niveles de producción, distinta capacidad de repartición de los nutrientes^(4, 141), distinta capacidad de consumo⁽⁵⁾ y, por lo tanto, distintos requerimientos nutricionales^(120, 121) (**FIGURA 3**)

El final de la preñez impone un costo substancial al animal, ya que en este momento el desarrollo de la masa placentario-fetal requiere diariamente 0.82 Mcal EM, 117 gr de proteína, 10.3 gr de Ca, 5.5 gr de P y 0.2 gr de Mg^(6, 74). En este estadio, la densidad energética de la dieta debería ser de alrededor de 1.6 Mcal EM/Kg MS, el % de Proteína Cruda del 14 al 16 % (con alrededor del 30-35 % de esa proteína como no degradable en el rumen), el aporte de hidratos de carbono no estructurales (HCNE) de aproximadamente el 20-25 % de la MS y el aporte de FDN no superior al 0.85 % del Peso Vivo (PV) en vaquillonas y del 0.92 % en vacas adultas^(113, 120). Cuando se produce el parto y comienza la producción de calostro, estos requerimientos se ven súbitamente incrementados. Así, la producción de 10 lts. de calostro por día requieren 11 Mcal EM, 140 gr de proteína, 23 gr de Ca, 9 gr de P y 1 gr de Mg. En este momento, la densidad energética de la dieta debería ser de 2.4-2.8 Mcal EM/Kg MS, el % de Proteína Cruda del 16-18 %, con el 38-45 % como proteína no degradable en el rumen y de alto valor biológico, el aporte de HCNE del 35-40 % de la MS y el aporte de FDN de no más del 0.78 % en vaquillonas de primera parición y del 0.87 % en vacas adultas. (**FIGURA 4**). Se ha demostrado que

la utilización de la energía por parte de los tejidos fetales en desarrollo es bastante ineficiente y que los sustratos energéticos predominantemente utilizados por esos tejidos son la glucosa, el lactato y algunos aminoácidos, siendo derivada hacia el compartimiento feto-placentario el 20-30 % de la glucosa producida por neoglucogénesis, mientras que, ocurrido el parto, para mantener altas producciones de leche, el 60-80 % de la glucosa producida por neoglucogénesis es usada para la síntesis de lactosa. Así, a los 20-30 días preparto, el 30-35 % del total de glucosa es oxidado a CO₂, mientras que a los 7-15 días postparto sólo el 5-8 % es completamente oxidado. Esto obliga a otros órganos y tejidos insulino-dependientes, a utilizar otros sustratos oxidables para generar energía intracelular (acetato, ácidos grasos de cadena larga, cuerpos cetónicos).

Hacia el final de la preñez, ocurren cambios endocrinológicos que promueven la neoglucogénesis, la cetogénesis y la movilización de ácidos grasos del tejido adiposo. Declina la concentración sérica de insulina, permaneciendo estable o ligeramente incrementada la de glucagón. Antes del parto, se elevan las concentraciones de lactógeno placentario y prolactina y, después del mismo, los niveles de somatotrofina (GH). Estos cambios, especialmente una alta relación GH + Glucagón/Insulina + Glucosa, promueven un incremento en la liberación de ácidos grasos libres (NEFA) del tejido adiposo, invirtiendo la relación lipogénesis/lipólisis. Se observa que la concentración sérica de NEFA y β-OH-Butirato comienzan a incrementarse algunos días antes del parto y no se normalizan hasta varias semanas después del mismo⁽¹¹⁰⁾. Las concentraciones séricas de glucocorticoides se incrementan antes del parto y son parcialmente responsables de la liberación de aminoácidos del tejido muscular, como soporte adicional a la neoglucogénesis, a lo cual posiblemente también contribuye la declinación en los tenores circulantes de las hormonas tiroideas (T₃ y T₄). Aunque en discusión, las reservas movilizables de las proteínas musculares se han estimado en un 10-20 % del "pool" corporal total. Además, en el momento del parto ocurre una dramática caída de la concentración de progesterona y, aproximadamente una semana antes del mismo, un incremento de más de 10 veces en la concentración plasmática de estrógenos, especialmente estrona (38). El cambio en las concentraciones relativas de progesterona y estrógenos, que comienzan unos 20-30 días antes del parto, es iniciado por el mismo feto, que aumenta la producción de cortisol, quizás utilizando la progesterona como precursor. También se incrementa mucho la producción de cortisol a partir de las adrenales maternas. Simultáneamente, 24-36 hrs. antes del parto, aumenta la concentración de PGF_{2α}, que causa luteólisis e inhibe aún más la síntesis de progesterona. Los péptidos opiodes endógenos están presentes en muy baja concentración durante casi toda la gestación, pero la concentración sanguínea de β-endorfina se incrementa desde los 30 días antes hasta las 48-72 hrs. luego del parto, así como la encefalina se incrementa al parto. Se sabe que ambos son agonistas de los receptores opiodes y disminuyen la motilidad del tracto gastrointestinal, por lo que han sido señalados como una posible causa de la reducción en el consumo voluntario de alimentos que ocurre en el periparto⁽⁵⁹⁾. Justamente, quizás el factor más importante que caracteriza a la vaca en transición es la pérdida de apetito, especialmente en el periparto. Durante el período de vaca

seca, el consumo ha sido estimado entre los 8 y 17 Kg MS/vaca/día, para vacas Holstein de 450-550 Kg PV, con diferencias marcadas de acuerdo a peso corporal, estado corporal, densidad energética de la dieta, contenido de MS y FDN y FDA de los alimentos, contenido en Proteína Bruta y sus fracciones y condiciones ambientales y de agrupamiento (competencia social), entre otros factores^(11, 92, 143). Sin embargo, el consumo voluntario decrece hasta un 30 % desde los 5-7 días antes del parto, con una recuperación que empieza a acompañar a la pendiente de la curva de producción de leche a partir de los 8-12 días postparto^(11, 148), aunque el ingreso de nutrientes por la ingesta no logra compensar las pérdidas energéticas por la secreción láctea hasta los 30-60 días postparto en vacas adultas, demandando un tiempo superior (90-120 días) en vaquillonas de primer parto^(65, 101, 121). Se puede calcular que en animales con picos de producción de 35 lts./vaca/día, el balance energético negativo (BEN) no se revierte hasta que la producción no disminuya hasta en un 80-85 %, siendo el déficit en EN_i el equivalente energético a 50 Kg de lípidos, o sea el equivalente a 8-9 lts de leche/vaca/día⁽²⁶⁾. Al respecto, si bien generalmente se acepta que un punto de pérdida en el score corporal (en la escala de 1 a 5) corresponde a la pérdida de 55-60 Kg de PV y la pérdida de 1 Kg de PV representa aproximadamente 5-6 Mcal EN_i, el déficit energético es diferente de acuerdo al score corporal al parto. Así, se han calculado BEN de 165, 220 y 290 Mcal de EN_i si las vacas paren con score corporal de 3.0, 3.5 o 4.0, respectivamente^(56, 72, 120).

Los factores que regulan el consumo voluntario en vacas lecheras son aún motivo de estudio^(5, 55), pero involucran posiblemente dos niveles de control: 1) Aquellos aspectos relacionados con la fisiología gastrointestinal y las características físico-químicas de los alimentos y 2) Aquellos relacionados con el sistema neuroendócrino que regulan el metabolismo intermedio. En general, en los ruminantes, se han estudiado mas profundamente los factores que incluyen el primer sistema de control, abarcando los factores que influyen sobre la repleción física rumino-reticular y del omaso y abomaso, el pH ruminal, la cinética de la circulación de nutrientes en los pre-estómagos (tasa de pasaje, tiempo de retención, etc), la influencia sobre la cinética retículo-rumino-abomasal de algunos productos de la fermentación ruminal (AGV, ácido láctico, aminos, amonio), características físico-químicas y de palatabilidad de los alimentos y, de gran importancia en animales en pastoreo, los factores que afectan la eficiencia de cosecha del forraje en pié (tiempo de pastoreo, oferta de MS en cantidad y calidad, tasa de bocados, tamaño del bocado, etc)⁽³⁸⁾. Es menos completa la información sobre el segundo sistema de control, incluyendo la relación entre los centros hipotalámicos de la saciedad y el hambre, los neuropéptidos transmisores de información entre los fenómenos digestivo-metabólicos y el sistema nervioso central (colecistoquininas, polipéptidos opiodes cerebrales y posiblemente tambien las somatomedinas, especialmente IGF-II).

Como vemos, todos estos factores pueden estar profundamente afectados en el período de transición y es de fundamental importancia favorecer las condiciones de manejo y alimentación que maximizen una rápida recuperación del consumo voluntario. En esto cumple un rol preponderante la paulatina adaptación del aparato

gastrointestinal (y del rumen en particular), para que que esté preparado a las exigencias del parto. Al respecto, luego del parto, en general las vacas suelen recibir una dieta con un alto contenido de FDN, FDA, fibra efectiva y de baja densidad energética, especialmente en HCNE. De esta forma, la flora ruminal cambia hacia una predominantemente celulolítica, con marcada reducción de los microorganismos amilolíticos (como *Streptococcus bovis* y *Lactobacillus ssp.*), productores de lactato. Como consecuencia, se reduce la concentración de los microorganismos ruminales capaces de convertir el lactato en acetato, propionato y/o ácidos grasos de cadena larga⁽⁵⁹⁾. El otro efecto de una dieta de baja densidad durante el primer período de vaca seca, es una reducción en el largo de las papilas ruminales, habiéndose calculado que durante las primeras 7 semanas del período de seca, se puede perder hasta el 50 % de la capacidad de absorción de los AGV por la mucosa ruminal⁽⁴³⁾. Cuando en el parto, súbitamente se incrementa la densidad energética de la dieta, con una fuerte inversión de la relación FDN/HCNE, existe riesgo de producción de acidosis ruminal, porque la recuperación de la concentración de las bacterias amilolíticas (productoras de lactato) es mucho más rápida que la de aquellas que pueden utilizarlo. La capacidad ácida del lactato es unas 10 veces superior a la de los otros AGV ruminales y, debido a su bajo pK_a, es absorbido más lentamente que otros AGV, lo que se ve agravado por la reducción relativa de la superficie de absorción. La acidosis láctica ruminal (clínica o subclínica) trae como consecuencia una menor motilidad ruminal, menor consumo voluntario, posibilidad de acidosis metabólica y se convierte en el principal factor nutricional de riesgo de laminitis clínica⁽³³⁾. Probablemente, este exceso de AGV no absorbidos por la mucosa ruminal, que llegan al abomaso, junto con otras causas metabólico-nutricionales (hipocalcemia, altas concentraciones de amonio ruminal), son un factor nutricional de riesgo para una mayor incidencia de desplazamiento del abomaso^(13, 68).

En ese contexto de incremento en la tasa de lipólisis, de la capacidad neoglucogénica hepática y de la oxidación periférica de acetato y ácidos grasos libres como fuentes alternativas de sustratos energéticos, no es sorprendente que ocurran cambios en el funcionamiento hepático⁽⁸⁸⁾. Está bien establecido que el contenido lipídico hepático, específicamente la carga de triglicéridos en el hepatocito, empieza a aumentar 2-3 semanas antes del parto (2-6 % p/p), y se normaliza entre las 3 y 6 semanas postparto, con un pico (15-20 % p/p) entre los 3-5 días preparto y los 7-10 días postparto^(11, 58, 85, 126). El hígado tiene una cierta capacidad de manejar la oferta incrementada de NEFA provenientes del tejido adiposo, ya sea por oxidación o por re-esterificación y exportación de los triglicéridos neoformados al torrente sanguíneo^(66, 99) (**FIGURA 5**). Una vez que los NEFA son transportados dentro de las mitocondrias de los hepatocitos por intermedio de la carnitín-aciltransferasa I y II, se produce la β -oxidación, con producción de acetil-CoA y NADH. La acetil-CoA, o es completamente oxidada a través del ciclo de los ácidos tricarboxílicos o es metabolizada a acetoacetil-CoA y posteriormente convertida en aceto-acetato, acetona y β -OH-Butirato, es decir, en cuerpos cetónicos. Se han señalado distintos factores que limitan la capacidad hepática de oxidación completa de los NEFA, entre ellos la insuficiente concentración

intramitocondrial de oxal-acetato (debido a déficit en la producción de propionato en el rumen), la deficiencia de la carnitina necesaria para translocarlos dentro de la mitocondria, la deficiencia de niacina y la acción de un conjunto de hormonas, fundamentalmente una alta relación somatotrofina + glucagón/insulina. El otro destino intrahepático de los NEFA, es su reesterificación a triglicéridos y su transporte a través de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Si bien en teoría una deficiencia de glucosa (y por lo tanto de glicerol) podría ser un factor limitante a la reesterificación, no parece que la tasa de reesterificación hepática de los NEFA esté disminuída durante el parto⁽¹⁰⁰⁾, lo que queda indirectamente demostrado por el hecho que, cuando ocurre el hígado graso, los lípidos predominantemente acumulados son justamente triglicéridos⁽¹⁴²⁾. Es por eso que se especula que una menor capacidad de vehiculizar a los triglicéridos por fallas en la síntesis y/o liberación de las lipoproteínas o de sus precursores, pueda ser un factor etiológico importante^(59, 126, 142). Hay evidencias de que en animales con infiltración grasa hepática severa, la síntesis de las apolipoproteínas B está reducida⁽⁷³⁾ y en ovejas con gran movilización lipídica preparto, la producción de las VLDL's no sigue a la tasa de síntesis de triglicéridos⁽¹²⁾. Tanto la menor producción de apolipoproteínas como la demostrada reducción en animales cetóticos en la síntesis de fosfolípidos y colesterol^(76, 114), todos elementos esenciales en la formación de las VLDL para su transporte al torrente circulatorio, podrían explicar el desarrollo del hígado graso y la oxidación incompleta de los NEFA, desembocando en un cuadro de cetosis clínica o subclínica. Desde el punto de vista clínico, algunas de las preguntas que se plantean son: 1) Hasta que punto es "normal" la infiltración grasa del hígado en el parto?; 2) Se compromete seriamente la funcionalidad del hígado por la infiltración?; 3) Que parámetros sanguíneos son los mas apropiados para detectar la probable insuficiencia hepática?; 4) A que nivel de cuerpos cetónicos en sangre, orina o leche se establece el límite para detectar animales en cetosis subclínica?; 5) La cetosis subclínica es un proceso patológico en sí o sólo una indicación de un BEN fuertemente negativo que compromete otras funciones de la vaca en producción? No hay respuestas claramente definidas para la mayoría de ellas, pero infiltraciones grasas de mas del 20-25 % (p/p) se han correlacionado, si bien en forma inconsistente, con aumento de la concentración sérica de algunas enzimas relacionadas, en mayor o menor medida, con la funcionalidad hepática, como la GOT, SDH, OCT y algunas de las isoenzimas de la LDH, así como menores concentraciones sanguíneas del colesterol total y alargamiento de los tiempos de eliminación de la sulfobromoftaleína, usado como test de retención biliar^(2, 11, 12, 58, 66, 76, 99, 126, 146). Con respecto a la detección de la cetosis subclínica⁽¹⁾, valores en plasma sanguíneos (expresados en mmol/l) superiores a 5.0 para los cuerpos cetónicos totales, o mayores 0.5 a 1.0 para acetato-acetato y mayores a 1.0 para β -OH-Butirato o, medidos en leche, concentraciones superiores a 1.0 a 2.0 para acetona y/o 0.25 a 0.5 para β -OH-Butirato, parecen cifras razonables para predecir impactos negativos sobre la recuperación del consumo voluntario, sobre la persistencia de la curva de lactancia sobre el funcionamiento del sistema inmune y, quizás lo mas importante, indicadores de un BEN de la suficiente intensidad para "marcar" la eficiencia reproductiva posterior, ya que el ovario es muy dependiente de la oferta de glucosa

y de la actividad de la insulina para obtener sus substratos energéticos. Es casi paradójal que la concentración plasmática de glucosa sea un indicador poco confiable del grado de BEN y cetosis subclínica, siendo por lejos mas apropiados los dosajes de NEFA y β -OH-Butirato plasmáticos y la acetona en orina y/o leche^(1, 89).

Otro órgano que sufre cambios importantes durante el período de transición, es la glándula mamaria. Luego del secado, se produce la involución del tejido alveolar a través del proceso de apoptosis (muerte celular programada) y su renovación y preparación para la próxima lactancia⁽¹³²⁾. Simultáneamente, se incrementan los mecanismos de defensa, tanto físicos como humorales (específicos e inespecíficos) y celulares⁽²⁹⁾. Sin embargo, durante los primeros días después del secado, cuando cesa el flujo lácteo pero la involución activa aún no ha comenzado, es común observar un incremento en la tasa de nuevas infecciones mamarias (NIM), especialmente para los llamados patógenos contagiosos mayores⁽⁵⁴⁾. Muchas de estas nuevas infecciones, especialmente aquellas debidas a *Staphylococcus aureus*, permanecen “latentes” y algunas pueden desembocar en casos clínicos en el postparto temprano. Con los llamados patógenos ambientales, especialmente coliformes y *Streptococcus uberis*, la situación epidemiológica parece diferente⁽¹³⁸⁾. Es mas frecuente que aumente la tasa de NIM en la última semana de preñez y primeras semanas de lactancia⁽¹³³⁾. A criterio de Goff y Horst⁽⁵⁹⁾, parte de la explicación de esos eventos radica en la depresión del sistema inmune que sufre la vaca durante el periparto, demostrado por la menor capacidad fagocítica de los PMN, la menor respuesta de los linfocitos a producir anticuerpos y renovar su población y a la menor concentración sérica de otros componentes del sistema inmune de base humoral, como las inmunoglobulinas, el complemento y las congulutinas. Un aspecto poco claro es la relación entre el cuadro endocrinológico, el plano nutricional y los mecanismos que regulan la respuesta inmune. Existen fuertes evidencias de que tanto la elevación de estrógenos⁽¹⁴⁵⁾ como la de cortisol⁽⁷⁵⁾, poseen un importante efecto inmunosupresor, sobre todo sobre el sistema mediado por células. Las deficiencias de energía, proteína, y algunos minerales y vitaminas se han asociado frecuentemente con depresión inmunológica y mayor susceptibilidad a infecciones e infestaciones⁽¹³⁹⁾. Específicamente en rumiantes, existen evidencias que sugieren que la restricción energética altera la mayoría de los mecanismos inmunológicos, incluyendo un retraso en la respuesta de producción de anticuerpos, menor capacidad proliferativa de los linfocitos y de la actividad de las interleuquinas y reducción en la viabilidad y capacidad fagocítica de los neutrófilos, si bien esto parece estar mejor demostrado en animales jóvenes que en vacas adultas⁽⁹⁷⁾. Está claramente demostrado en vacas lecheras, que altas concentraciones de cuerpos cetónicos afectan negativamente la linfoproliferación⁽⁸⁶⁾. También se ha demostrado⁽⁹⁷⁾, que un déficit de proteína en la dieta, tanto en terneros como en vacas adultas, disminuye la respuesta de anticuerpos séricos ante la descarga experimental de distintos antígenos. Sin embargo, poco se conoce sobre el efecto del déficit de aminoácidos específicos sobre la respuesta inmune, aunque hay evidencias de la importancia en el aporte de alguno de ellos⁽⁹⁷⁾. Las relaciones entre el ingreso energético-proteico y el sistema inmunológico son complicadas y poco conocidas, pero parecen de doble vía⁽⁴⁷⁾. Como se resume en **FIGURA 6**, no sólo las deficiencias nutricionales afectan al sistema inmunológico,

sino que la alteración de los sistemas de control de los mecanismos de defensa, pueden modificar el esquema de repartición de los nutrientes entre los distintos órganos y tejidos, afectando los requerimientos a nivel celular. Al respecto, está bien demostrada la influencia del eje homeorético formado por la somatotrofina (GH), los factores de crecimiento insulínicos (IGF-I y IGF-II), sus proteínas de transporte (IGFBP's) y la funcionalidad de sus receptores específicos, así como su relación con algunas de las hormonas homeostáticas (insulina, glucagón, hormonas tiroideas, catecolaminas y esteroides sexuales y suprarenales), sobre la repartición diferencial de nutrientes y su captación por la glándula mamaria^(22, 23, 105). La concentración en sangre de GH es mas alta en animales lecheros de alto mérito genético o en aquellos con BEN profundo, pero el plano nutricional afecta en forma distinta las concentraciones de IGF-I y sus proteínas de transporte (en especial IGFBP-2 y IGFBP-3), de tal manera que la subnutrición eleva los valores de GH pero reduce los de IGF-I y de IGFBP-2 y IGFBP-3. Así, los efectos positivos de altos niveles de GH sobre la respuesta inmune (estimulación de la proliferación de células T, aumento de la producción de interleuquina-2, aumento de la "llamarada respiratoria de los fagocitos), no tienen su correlato al no elevarse la concentración de IGF-I en animales en hiponutrición energética y/o situaciones de stress, que es el cuadro del periparto de la vaca lechera. En el sentido opuesto, un conjunto de datos sugiere que el eje somatotrófico puede, a su vez, ser afectado por incrementos en las concentraciones de hormonas inmunológicas clave, como las citoquinas y las interleuquinas. Así, se ha demostrado que un incremento local en la concentración de algunas citoquinas afecta la función hepática (necrosis de hepatocitos) y la síntesis, la acreción y la tasa de renovación de triglicéridos y proteínas a nivel muscular, aumentando la movilización tisular^(8, 98). Es aún motivo de especulación como afecta todo este cuadro inmuno-endocrinológico a la vaca lechera en transición, pero si se considera que en este período las concentraciones de cortisol y GH son altas, los de IGF-I e insulina bajos y hay una manifiesta reducción en la afinidad de los receptores a insulina y un aumento en la sensibilidad a los receptores de catecolaminas, es imaginable lo que esto puede significar, si la restricción energética es severa, tanto sobre el sistema inmunológico como sobre el mecanismo de regulación de repartición de nutrientes.

En los últimos años se viene acumulando información que sugiere que los requerimientos en algunos minerales y vitaminas durante el período de transición podrían ser mayores que los sugeridos por las tablas de nutrición en uso, especialmente en el caso de los llamados "micronutrientes antioxidantes", es decir Se, Zn, Mn y Cu entre los oligoelementos y la vit. A (retinol, β -caroteno) y la vit. E (α -tocoferol)^(30, 31, 49, 111, 112). La función principal de estos micronutrientes en las células involucradas en el sistema inmunológico (especialmente fagocitarias) y en otros sistemas celulares de alta tasa metabólica instantánea (hepatocitos, células alveolares mamarias, epitelio germinativo ovárico, corion laminar de la estructura podal, etc), es en proteger a sus membranas peri- e intra-celulares de la acción tóxica de los super-óxidos y radicales oxígeno libres producidos intracelularmente como consecuencia de los procesos metabólicos de óxido-reducción⁽⁹⁸⁾. Si se cuantifica el uso a nivel celular del O₂ inspirado, el 90-95 % es usado por el sistema

mitocondrial de transporte de electrones y el sistema citocromo-oxidasa, mientras que el 5-10 % restante es usado por los fagocitos, el sistema microsomal de transporte de electrones (citocromo P450), en oxidaciones enzimáticas y como sustrato de auto-oxidaciones. En todos estos caminos metabólicos se producen superóxidos, que si bien no son oxidantes muy agresivos, pueden causar daño significativo a distintas moléculas biológicas, en una reacción catalizada por el Fe, lo que genera a los radicales libres, estos sí muy destructivos para los tejidos. Los radicales oxígeno contienen como mínimo un electrón libre en una órbita atómica determinada. La capacidad de un radical libre de causar daño a macromoléculas como lipopolisacáridos de membranas celulares, enzimas y ácidos nucleicos, está relacionada a la inestabilidad de ese electrón. Muchas de las funciones protectoras de las células involucradas en los mecanismos inmunológicos dependen de la fluidez de dichas membranas, cuyo potencial de peroxidación aumenta a medida que aumenta el nivel de ácidos grasos insaturados de los lípidos que la componen. Además, también se incrementa la síntesis de prostaglandinas, de reconocida acción inmunosupresora, cuando aumenta la concentración intracelular de peróxidos y radicales oxígeno libres y/o cuando hay carencia nutricional de los micronutrientes antioxidantes⁽⁷⁾. Aplicando estos conceptos a la vaca lechera en transición, por un lado, un BEN profundo, que conlleva una lipomovilización importante, puede alterar la composición de los ácidos grasos de las membranas celulares y, por otro, desde las 24-36 hrs. preparto empiezan a aumentar las concentraciones de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Además, ha sido demostrado⁽⁶¹⁾, que en animales no suplementados en el preparto, las concentraciones plasmáticas al parto y días posteriores de retinol, α -tocoferol y Zn se redujeron en un 38 %, 47 % y 67 %, respectivamente, verificandose también un descenso en la concentración de β -caroteno. En los animales suplementados en el preparto con esos micronutrientes, se restauró más rápidamente luego del parto la capacidad de los linfocitos en producir inmunoglobulinas.

Claramente también el metabolismo mineral sufre cambios pronunciados durante el período de transición. Esto está más estudiado para los macrominerales (Ca, P, Mg, Na, K, Cl y S), especialmente los cambios en los "pools" intercambiables del Ca, P y Mg, que, ante los súbitos cambios que impone el desencadenamiento de la lactancia, necesitan, para que no se produzca enfermedad metabólica, de la respuesta en tiempo y forma de órganos como el hígado, riñón, intestino y hueso, a través de la acción homeostática de las hormonas calcitropicas (PTH y $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) y el grado de sensibilidad de sus receptores específicos, aumentando la capacidad intestinal de absorción, la movilización del tejido óseo y el aumento de la reabsorción renal^(17, 127). Es mucho menor la información relativa a cambios en la demanda fisiológica en este período para la mayoría de los oligoelementos (Cu, Zn, Se, Co, I, por ejemplo). Como ha sido señalado⁽¹⁴⁾, en la alimentación mineral se debe distinguir entre los requerimientos calculados por las distintas tablas en uso (NRC, USA, 1988; ARC, Gran Bretaña, 1980; INRA, Francia, 1978; estándares alemanes de 1978) y las recomendaciones de los niveles prácticos de suplementación. En el primer caso, se han calculado los requerimientos para distintas actividades fisiológicas (mantenimiento, crecimiento, preñez, lactancia) por

el método factorial, es decir sumando los estimados para cada una de esas actividades calculados por separado, dividido por un coeficiente de absorción (o disponibilidad) promedio, independientemente de la fuente del mineral. Esto puede llevar a errores, al no tomar en cuenta la diferente digestibilidad de un elemento mineral de acuerdo a su fuente, no tomar en cuenta los cambios en los coeficientes de digestibilidad debido a edad, ni la interacción con otros nutrientes o cambios en las condiciones ambientales, presuponiendo que los requerimientos de mantenimiento no se modifican de acuerdo al nivel de producción. Además, al expresarse los requerimientos como % o ppm de la MS de la dieta, no se toman en cuenta las ya comentadas variaciones en el consumo voluntario que ocurren en el período. El otro aspecto de importancia práctica, es el conocimiento de la capacidad de depósito de los minerales y sus posibilidades de movilización en períodos de restricción alimentaria^(27, 107). Hay que considerar que el contenido medio de minerales en la leche bovina es de 1.25 gr/l para el Ca; 0.90 gr/l para el P; 0.13 gr/l para el Mg; 0.60 gr/l para el Na; 1.5 gr/l para el K; 1.10 gr/l para el Cl; 4 mg/l para el Zn; 0.5 mg/l para el Fe; 0.2 mg/l para el Cu; 30 mg/l para el Mn; 0.05 mg/l para el I y 0.02 mg/l para el Se. Los minerales presentes en la leche proceden de la sangre, la que a su vez se abastece de lo que ingresa con la dieta o del flujo a partir de los depósitos, en el caso de aquellos minerales que los posean. Para el caso del Ca, P, Mg y Na, el esqueleto constituye el depósito cuantitativamente más importante. Para el caso del Se, Fe y Cu, el hígado es el principal órgano de reposo, como así también para el Co, bajo la forma de vitamina B₁₂, a través de la cual ejerce sus efectos fisiológicos. No se conoce el órgano de depósito del Zn, pero se ha sugerido que podría serlo todo el tejido epitelial y córneo^(3, 108). Para el caso del I, las glándulas tiroideas se consideran órgano de depósito y ciertamente responsables del control de su metabolismo⁽¹⁰⁹⁾. En el caso del Mn, los principales órganos de acumulación son el hígado y el tejido óseo⁽¹⁰⁶⁾. De todos modos, las cantidades que pueden ser movilizadas, ya sea en forma aguda o crónica, sin acarrear trastornos en la salud o en la eficiencia productiva y reproductiva no son grandes y, en algunos casos (Mg en vacas adultas, por ejemplo), inexistentes. Cuando se calculan las pérdidas de minerales en leche por lactancias a 305 días corregidas al 4% de GB de 6000-7000 kg de leche, para la mayoría de los macro- y micro-elementos implica prácticamente la renovación del contenido corporal total, siendo el último mes de gestación y el primer tercio de la lactancia cuando, de no existir un aporte dietario adecuado, las vacas lecheras están en “balance mineral negativo”, con posterior recomposición de las reservas o equilibrio del balance neto, en la segunda mitad de la lactancia y primer período de vaca seca^(28, 48). La prolongación en el tiempo de esta situación conduce a condiciones de deficiencia clínica o, más frecuentemente, a deficiencias subclínicas, que reducen la producción del animal, predisponen a otro tipo de enfermedades o reducen su vida productiva. Al respecto, la actividad reproductiva y la capacidad de defensa ante las infecciones, parecen reaccionar más rápidamente a las deficiencias y/o desequilibrios minerales que la propia lactogénesis, con su secuela de partos lánguidos o distócicos, mayor incidencia de natimortos y retención placentaria, alta incidencia de vacas caídas, mayor incidencia de endometritis, aumento de la mortalidad perinatal, prolongación del intervalo parto-concepción, anestro, acortamiento del tiempo de presentación de celos, ovulaciones silenciosas, mortalidad embrionaria, mayor incidencia de

patología podal, mastitis clínicas postparto, etc. Es interesante destacar que la concentración de macrominerales en leche prácticamente no se modifica aunque su cantidad en la dieta no sea la óptima. No ocurre lo mismo con la mayoría de los microelementos (I, Zn, Se, Cu), que suelen descender su concentración, reduciendo por lo tanto el aporte al ternero, con las consecuencias que eso puede acarrear en las primeras semanas de crianza. Es por eso que numerosos trabajos han demostrado los efectos beneficiosos de la suplementación adicional de algunos de esos micronutriente (en especial Se, Zn, vit. A, β -caroteno y vit. E.), aún a dosis por sobre las tabuladas como requerimientos, sobre una cantidad de las enfermedades de la producción en vacas en transición^(32, 33,40, 50, 51, 57, 77, 78, 79, 80, 90, 93, 102, 115, 134, 135),

3. El Síndrome de Hipocalcemia Puerperal:

La hipocalcemia puerperal (HP) es una enfermedad metabólico-nutricional caracterizada por un momentáneo desequilibrio en la regulación de la concentración del Ca en sangre drante el periparto^(27, 127), no siendo en realidad una verdadera deficiencia del mineral. Esencialmente, no es mas que una profundización en intensidad y duración de la hipocalcemia fisiológica que sufre al parto toda vaca lechera (**FIGURA 7**) y que es el reflejo de los bruscos cambios en el flujo del catión entre los diferentes compartimientos fisiológicos (incluyendo la reserva ósea), que se producen al momento del parto⁽¹²⁸⁾, ya que de una “pérdida” de Ca hacia el tejido óseo fetal de 5-9 gr hacia el final de la preñez, en cuestión de horas se pasa a perder mas de 20-25 gr/vaca/día, de acuerdo a los niveles de producción de calostro (**FIGURA 8**). Es indudable que un alto potencial genético y una muy buena alimentación energético-proteica preparto, sobre todo si se permien mejoras importantes en el score corporal 20-30 días preparto, predisponen a la enfermedad, porque la secreción inicial de calostro es mas copiosa. Además de la clasica presentación clínica de la enfermedad, se producen pérdidas económicas de importancia debidos a los casos subclínicos, asociados con menor motilidad del aparatogastrointestinal, menor consumo voluntario, menor producción de leche, aumento de la prevalencia de desplazamiento del abomaso, retención de placenta, retraso en la involución uterina y aumento en la prevalencia de mastitis clínica^(15, 59), como se resume en **FIGURA 9**. Si bien la etiología de la HP es aún motivo de investigación, no conociéndose en forma detallada todos los mecanismos metabólicos involucrados^(82,83), una falta de respuesta del tejido óseo a la acción movilizadora del Ca y P por parte de la PTH y el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, debido a un estado de alcalosis metabólica, parecen ser la causa mas probable. Es claro que el factor principal ligado a la prevalencia de HP es el manejo de la dieta preparto, habiendose señalado como factores nutricionales de riesgo en ese período a exceso de Ca y/o P, deficiencia de Mg y, especialmente, exceso de cationes fijos, es decir una diferencia catiónica-aniónica altamente positiva de la dieta (calculada, en mEq/Kg MS como $[(\text{K} + \text{Na}) - (\text{Cl} + \text{S})]$) (113, 114, 115). Al respecto, existe actualmente una tendencia a considerar a la HP como practicamente una intoxicación subclínica por K, inductora de alcalosis metabólica⁽¹⁴⁰⁾.

Para minimizar los factores nutricionales preparto de riesgo, el enfoque clásico, a partir de los trabajos pioneros de Boda y Cole, fue reducir a un mínimo (incluso por debajo de los valores tabulados por el NRC, USA), el ingreso preparto de Ca. Esto demostró ser muy efectivo desde el punto de vista experimental, pero difícil de llevar a cabo en la mayoría de los sistemas reales de producción. El Proyecto Lechero de la E.E.A. INTA Pergamino implementó en un grupo de granjas lecheras de la Pcia. de Bs.As, con prevalencia de vacas caídas del 7 al 16 /100 vacas adultas paridas por año, un sistema de prevención basado en la reducción del ingreso preparto de Ca a menos de 40-45 gr/vaca/día, inversión de la relación Ca/P, por incorporación de la suplementación preparto con $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$ y la elevación del ingreso preparto de Mg, por la suplementación con O_2Mg o PO_4Mg_2 , lográndose reducir la prevalencia de HP al 3-4 %, para vacas con lactancias promedio de 5500 kg de leche corregida al 3.5 % GB a 305 días⁽³⁵⁾. Sin embargo, la estrategia demostró ser menos eficaz cuando el nivel de producción es mayor o, aún mas importante, por razones empresarias no se puede reducir en forma substancial el consumo de forrajes ricos en K (generalmente henos o silajes de pasturas base leguminosas). Fue así que se experimentó con el uso de las llamadas sales aniónicas, inicialmente generalmente formadas por 100 gr/vaca/día de ClCa + 100 gr/vaca/día de SO_4NH_4 + 8 gr/vaca/día de O_2Mg , lo que consiguió reducir la incidencia de HP del 8-12 % a menos del 1 %, verificándose una substancial reducción del pH urinario (de 8.6 en las testigos a 6.2 en las suplementadas), así como un incremento estadísticamente significativo en la eliminación urinaria de Ca y Na⁽³⁶⁾. Estos resultados con animales en pastoreo confirmaron los efectos de las sales aniónicas informados en animales estabulados, alimentados con RTM^(9, 15, 16, 83, 140). Desde el comienzo de los 80's, una cantidad de trabajos demuestran que el uso de diferencias catiónicas-aniónicas de la dieta (DCAD) negativas (- 50 a -150 mEq/Kg MS en las últimas 3-4 semanas de gestación y ligeramente positivas (+ 20 a + 40 mEq/Kg MS) en los primeros 100 días de lactancia, no solamente reducen significativamente la prevalencia de HP y los trastornos relacionados con la HP subclínica, sino que parecen aumentar la producción de leche y disminuir la incidencia de edema de ubre. Más recientemente (Goff, 1999, comunicación personal), se ha demostrado que el poder anionizante de los cloruros es mucho mayor que el de los sulfatos, por lo que se tiende a usarlos como fuente aniónica única (ClH deshidratado), y que en ese caso (donde ocurre un fuerte descenso del pH urinario y de la eliminación de Ca por esta vía), el ingreso preparto de Ca debería fijarse en 80-100 gr de Ca/vaca/día, no debiéndose usar como fuente de Ca la conchilla o dolomitas, porque el carbonato de Ca actúa como alcalinizante metabólico. En Argentina, luego de 8 años de experiencia con el uso de sales aniónicas, parece claro que la conveniencia de su uso va a quedar definida por: 1) La cantidad de cationes fijos (especialmente Ca y K) que tenga la dieta base; 2) La posibilidad y conveniencia de reemplazar a los componentes de la dieta preparto que los contengan y 3) El potencial de producción de los animales con los que se trabaja. Si no se puede controlar el ingreso preparto de Ca a menos de 40-45 gr/vaca/día y/o la DCAD de la dieta preparto supera los + 100 a + 200 mEq/Kg MS y la incidencia de vacas caídas es superior al 2-3 % anual (índice calculado sobre vacas de dos partos o más) , con una mortalidad que supere el 15-20 % de los animales caídos, muy probablemente el uso de sales aniónicas ayudará a controlar el problema, no descuidando el aporte de Mg, dado su reconocida importancia en la

liberación y/o acción de PTH. Lo que se observa en la práctica en animales en pastoreo en el preparto, es la dificultad de standarizar el consumo de las sales aniónicas, vehiculizadas generalmente en pequeñas cantidades de concentrados. Esto ha llevado a buscar formas complementarias de protección, sobre todo en aquellos animales con mayor riesgo (vacas de más de 3 partos, aquellos con antecedentes de caídas en partos anteriores, las de altas producciones individuales en lactancias anteriores, en situaciones de stress climático que reduzcan el consumo voluntario, etc). Por eso la idea de la administración en forma preventiva, 24-48 hrs. antes del parto e inmediatamente luego de paridas, de geles de propionato de Ca, conteniendo 450 gr de propionato de Ca y 250 ml de propilenglicol, que no solamente ha conseguido normalizar la calcemia al parto sino que ha reducido la concentración de NEFA y β -OH-Butirato en los días posteriores al mismo⁽²⁸⁾.

4 – Los factores nutricionales de riesgo para las enfermedades podales:

Las enfermedades podales de los bovinos lecheros continúan teniendo un fuerte impacto económico negativo sobre la rentabilidad de las empresas, tanto por menor producción como por costos de tratamientos y descarte prematuro de animales de alto mérito genético⁽¹⁰⁾. La patología podal del bovino es compleja, incluso en la clasificación de las distintas lesiones, ya que algunos síntomas pueden ser la secuela de desórdenes diferentes⁽¹²³⁾. Al no ser sencillo el diagnóstico diferencial (no se actúa rápidamente ante la aparición de los primeros síntomas), es a veces complicado llegar a elucidar las causas originales del problema. Los factores de riesgo que más frecuentemente se citan en la bibliografía, son: 1) Predisposición genética, especialmente aplomos y ángulos de las pezuñas; 2) Medio ambiente, como ser estado de pisos de potreros, calles, corrales, lugares de alimentación y sala de ordeño; 3) Manejo de los animales, incluyendo concentración, caminatas diarias, etc.; 4) Errores nutricionales, tanto en el ingreso energético-proteico como el aporte de algunos micronutrientes⁽³⁴⁾.

Los efectos de la nutrición sobre la patología podal se pueden dividir en dos grandes grupos:

- 1)- Errores alimentarios (o contaminación de los alimentos, por micotoxinas, por ejemplo), que producen disturbios en el metabolismo podal, llevando a “lesiones bioquímicas” subclínicas del corion laminar, predisponentes a lesiones clínicas desencadenadas por efectos físicos (reblandecimiento del tejido córneo por humedad continua, desgaste excesivo por pisos duros o abrasivos, etc.) y/o por complicaciones bacterianas posteriores.
- 2)- Deficiencias nutricionales específicas que puedan disminuir la capacidad de defensa física o inmunológica de los tejidos podales.

Dentro del primer grupo, la afección mejor conocida es la laminitis (o infosura o pododermatitis difusa aséptica), es decir la inflamación no infecciosa del corion laminar^(67, 116, 147), con sus presentaciones aguda o crónica. Si bien la laminitis puede presentarse en cualquier categoría de animales, en las granjas lecheras en Argentina su prevalencia es mayor en las vaquillonas de primera parición,

especialmente en el otoño, con aparición de casos clínicos graves entre los 30 y 100 días de lactancia. En vista de lo que se conoce sobre su etiología nutricional, es probable hipotetizar como es la secuencia de eventos, tal como se resume en **FIGURA 10**. Son dos las causas nutricionales de las laminitis: 1) La absorción de sustancias producidas por alteración en el proceso de fermentación ruminal (ácido láctico, amoníaco, histaminas, endotoxinas bacterianas) y 2) Sustancias tóxicas presentes en alimentos mal ensilados o conservados (productos de destilería, cama de pollo, micotoxinas). Como ya hemos descrito, la causa mas frecuente es la sobrecarga ruminal brusca de alimentos ricos en HCNE, que, en un rumen no preparado, producen fuerte descenso del pH ruminal, con muerte de un gran número de bacterias celulolíticas, predominantemente Gram negativas y liberación de cantidades de endotoxinas bacterianas, las que, una vez absorbidas, llegan por sangre a los tejidos blandos de las pezuñas, produciendo vasoconstricción en los capilares (especialmente en los “shunts” arterio-venosos) del corion laminar. Al no poder drenar con suficiente rapidez la sangre venosa, ocurre aumento de presión, edema y, finalmente, trasvasación sanguínea en esos tejidos, lo que dificulta la nutrición de las células productoras del tejido córneo⁽¹²²⁾. Así, el tejido córneo, especialmente de la suela, se debilita y se gasta mas rápido que la capacidad de producir nuevo, dando a lugar a lesiones secundarias, muchas veces de naturaleza infecciosa⁽¹¹⁶⁾.

La carencia de algunos microminerales y vitaminas ha sido señalada como factor nutricional de riesgo para una mayor incidencia de afecciones podales. Donde parece haber mas información es en la asociación entre deficiencia de Zn y patología podal, que se ha visto en general significativamente disminuida por la suplementación con el mineral, sobre todo en los casos en que fue administrado como fuente orgánica (metionina-Zn, por ejemplo)^(33, 95). El Cu es otro microelemento cuya carencia se ha asociado con mayor incidencia de patología podal⁽¹³⁷⁾, aunque no hay información experimental de campo que lo demuestre. Desde un punto de vista teórico, la relación puede darse a través de distintas funciones de enzimas Cu-dependientes: la actividad de la lisil-oxidasa, enzima que interviene en el mantenimiento de la integridad de las paredes vasculares y en la formación del colágeno (matriz orgánica del tejido óseo y apéndices córneos). La deficiencia de Cu debida a exceso de Mo, lleva a un mal funcionamiento de la xantino-óxido-reductasa, una enzima Mo-Cu dependiente, que puede funcionar ya sea como dehidrogenasa o como oxidasa, dependiendo de la relación Cu/Mo de la dieta. La acción de dehidrogenasa es favorable en el proceso de detoxificación de los productos finales de la peroxidación de los lípidos, mientras que la actividad de oxidasa se ha visto asociada con inflamaciones articulares asépticas y afecciones del corion laminar y del hueso navicular. Así, Suttle⁽¹³⁷⁾, describe mayor incidencia de afecciones podales en bovinos cuando la relación Cu/Mo de la MS de la dieta es menor a 4:1. La otra posibilidad, que incluye también a la deficiencia de Se/vit E, es la relación de estos micronutrientes con el sistema inmunológico, por sus ya descritas funciones antioxidantes.

5 – La relación entre el plano energético de la vaca en transición y su fertilidad en esa lactancia:

Terminado el período de transición, la vaca lechera tiene que volver a quedar preñada. El desarrollo folicular ovulatorio empieza por lo general 6-8 días después del parto como respuesta a una rápida reducción en sangre de los altos niveles de estrógenos y progesterona que caracterizan el final de la gestación y ante el incremento de los niveles circulantes de FSH, aunque pequeñas ondas foliculares anovulatorias parecen comenzar antes⁽¹³⁶⁾. Se sabe que la fertilidad al servicio está directamente relacionada con el número y salud de los ciclos ovulatorios que preceden al del servicio y que el número de ciclos previos al efectivamente fértil, está directamente relacionado con el grado y duración del BEN en el postparto inmediato, es decir que con la pérdida de score corporal en los primeros 30-45 días de lactancia^(20, 104). Normalmente, una mejora a partir del nivel más bajo del BEN (nadir) durante las primeras 2-4 semanas de lactancia, se convierte en la señal más importante para el reinicio de la actividad ovárica. Así, generalmente la primera ovulación ocurre entre los 11 y 16 días después del nadir del BEN, es decir entre los 17 y 42 días postparto⁽¹⁹⁾. Para un correcto desarrollo folicular se requiere de una rápida frecuencia de pulsos de liberación de LH y esto ocurre sólo luego de superar el nadir del BEN. Esto sugiere que el BEN es el mayor freno metabólico para el desarrollo de un patrón de liberación de LH adecuado para garantizar la primera ovulación postparto. Sin embargo, pese a que la liberación pulsátil de LH se restablece luego de superar total o parcialmente el BEN, la falta de respuesta del ovario a la acción de la LH puede prolongar aún más la presentación del primer celo y la ovulación postparto, ya que el plano energético postparto también influye en el crecimiento de los folículos ováricos, modificando su tamaño⁽¹³⁶⁾. Los mecanismos implicados en la influencia negativa del BEN sobre el patrón de liberación de LH no se conocen con exactitud, pero la concentración plasmática de insulina está negativamente correlacionada con el BEN y sabemos que la insulina es capaz de regular la actividad folicular ovárica. También se ha postulado que el factor de crecimiento IGF-I sirve como mediador hormonal entre el balance energético y la función ovárica. El IGF-I es un potente estimulante de la síntesis de esteroides por las células granulosas y luteales del ovario. Hemos visto que en animales subalimentados las concentraciones sanguíneas de GH son más altas pero las de IGF-I más bajas. Cuando mejora el balance energético, aumentan las concentraciones plasmáticas de IGF-I y, en forma concomitante, se incrementan los valores de progesterona durante el primer y segundo celo postparto. También la respuesta ovárica a la insulina, que es baja en el postparto temprano, aumenta a medida que avanza la lactancia. El paulatino cambio de la relación GH/Insulina, no solamente va incrementando la captación de glucosa por el tejido adiposo, sino también por otros órganos insulino-dependientes, como el ovario.

Producida la fecundación, la supervivencia del óvulo fertilizado y la del embrión dependen de la capacidad de producción de progesterona por el cuerpo lúteo y esta producción se relaciona estrechamente con el grado y duración del BEN y es conocido que una mayor concentración de progesterona en sangre a los 4-6 días postinseminación mejoran las posibilidades de supervivencia del embrión⁽⁹⁴⁾. El mantenimiento de un adecuado balance energético-nutricional así como la

protección del stress por calor, afectarán positivamente las posibilidades de continuación de la preñez.

De acuerdo a todo lo anteriormente descrito, resulta claro que un déficit energético severo en el postparto temprano (primeras 3-6 semanas), va ejercer sus influencias negativas sobre la función reproductiva por un tiempo prolongado, afectando la fertilidad de varios ciclos subsecuentes. Esto tiene gran importancia práctica, porque muchas veces las fallas reproductivas se deben a fallas nutricionales de meses atrás, lo que complica la identificación de la causa, sinó se tiene implementado algún sistema de monitoreo nutricional y reproductivo permanentes, que permitan analizar retrospectivamente los resultados⁽³⁷⁾.

6 – El ingreso de proteína y fertilidad:

Las vacas lecheras de alta producción, además de necesitar cantidades determinadas de PB, parecen necesitar que una cierta cantidad de esa proteína tenga un perfil conveniente de aminoácidos, que lleguen como proteína pasante al intestino delgado⁽¹²⁴⁾. Por experiencia en países donde la lechería se desarrolla en condiciones estabuladas intensivas, en el afán de incrementar los niveles de producción, a menudo los productores ofrecen mas proteína que la recomendada por las tablas de nutrición, sobre todo a través de fuentes de alta degradabilidad ruminal. Esta suplementación ocurre en el momento en que el animal se aproxima a su pico de producción y todavía en balance energético negativo, habiendosele atribuído efectos negativos sobre la eficiencia reproductiva, hecho demostrado en algunos estudios pero no en todos^(18, 19, 53). Si existe un exceso de aminoácidos en el rumen que no pueden ser captados para formar proteína bacteriana por carencia relativa de esqueletos hidrocarbonados y fuente de energía para las bacterias ruminales, se produce un exceso de NH_4 ruminal⁽⁸⁴⁾, que luego de ser absorbido a través de las paredes ruminales, será convertido en urea en el hígado⁽¹²⁹⁾. La síntesis hepática de la urea y su eliminación renal son procesos energéticamente costosos, que probablemente agraven el BEN postparto de la vaca en transición. Cuatro moléculas de fosfato son requeridas para la síntesis de una molécula de urea⁽¹¹⁷⁾, pero el requerimiento final neto de ATP's podría ser menor, de acuerdo a nuevos cálculos energéticos publicados⁽⁹⁶⁾. Asumiendo que la síntesis de cada molécula de urea requiere de cuatro enlaces fosfato de alta energía y que seis de ellos son provistos por cada molécula de O_2 inspirado, se puede calcular uno de los aspectos del costo energético de tener que convertir en urea un exceso de NH_4 ruminal. Sin embargo, se han señalado otras causas de costo energético, como lo es una pérdida de aminoácidos absorbidos, debido a la necesidad, en la síntesis de una molécula de urea, de un segundo átomo de N proveniente del aspartato⁽⁹⁸⁾. El aspartato puede ser sintetizado por deaminación del glutamato o por transaminación de otros aminoácidos, lo que obliga a una mayor captación hepática de esos aminoácidos, reduciendose una declinación de la cantidad disponible para otros tejodos, incluyendo la glándula mamaria. La otra causa de requerimientos adicionales de energía, es la eliminación urinaria del N en exceso. De acuerdo a Blaxter (1962), la excreción de 1 gr de N en la orina cuesta 5.45 kcal EM. Considerando todo el proceso, se ha calculado que que una vaca en transición que

ingiere de 0.5 a 1.0 Kg de proteína en exceso, va a gastar 2 a 4 Mcal/día EN_I, lo que puede considerar un agravamiento no despreciable del BEN postparto.

Estas situaciones de exceso de proteína en la dieta y sus efectos depresores sobre la fertilidad, también se han demostrado, aunque no en forma contundente, en animales en pastoreo en Australia y Nueva Zelanda, en pasturas de alta calidad de primavera⁽¹¹⁸⁾ y en Argentina, donde parece común, sobre todo en verdes de otoño-invierno, debido al acentuado desequilibrio en la composición de esas pasturas, pobres en MS y HCNE y muy ricas en N proteico y no proteico, de alta degradabilidad ruminal^(119, 130).

Otros dos mecanismos por los cuales un exceso de proteína en la dieta pueden deprimir los índices reproductivos son un efecto directo sobre el útero y las gametas y/o el óvulo fecundado y un efecto sobre el eje hipotálamo-hipófisis-ovario⁽¹⁸⁾. Se ha demostrado, tanto "in vitro" como "in vivo", que tanto el NH₄ como la urea modifican la capacidad del transporte de iones a través de la pared uterina, modificando el pH intrauterino y conduciendo a la creación de un ambiente desfavorable para el desarrollo del embrión, ya que se afecta su capacidad de captación de aminoácidos y de lactato, dos substratos nutricionales esenciales para el crecimiento del embrión, especialmente entre los días 8 y 12 postfecundación⁽⁵²⁾. También ha sido demostrado que una alta concentración sistémica o local del N ureico, pueden reducir la producción de progesterona por el cuerpo lúteo a través de su efecto negativo sobre los receptores ováricos de las células luteales a la acción de LH⁽²¹⁾.

Sea cual fuere el /los mecanismos involucrados, no es aconsejable que el contenido de PB de la dieta en la vaca en transición supere el 17-18 % de la MS, y que los valores de N ureico en leche (MUN) superen los 20-21 mg/100 ml al momento del reinicio de la actividad ovárica y, especialmente, al servicio. En un trabajo realizado por el Proyecto Lechero de la E.E.A. INTA Pergamino, en distintas granjas lecheras de la Pcia. de Bs. As., se determinaron la evolución del score corporal en los primeros 45 días postparto y los valores de BUN y β -OH-Butirato en leche a los 20-30 días postparto, en 3000 vacas lecheras Holstein, de producciones de 6000 a 7000 Kg de leche corregida a 305 días al 3.5 % de GB⁽³⁷⁾. Como se observa en **FIGURA 11**, el comportamiento reproductivo (específicamente el intervalo parto-concepción), estuvo positivamente correlacionado con la pérdida de score corporal ($p < 0.05$), con la concentración del cuerpo cetónico en leche ($p < 0.05$) y, en menor medida, con la concentración de MUN ($p < 0.10$). Esto sugiere, que al menos en condiciones de pastoreo, el grado del BEN, más que los efectos de la ingestión de altas concentraciones de proteína degradable en la dieta, parece ser la mayor causa nutricional de ineficiencia reproductiva. Incluso es probable que parte del incremento del MUN en el postparto, se deba a una movilización corporal excesiva, que incluye a parte del "pool" de las reservas proteicas, con la producción de α -aminoácidos que son utilizados para intentar mantener la neoglucogénesis hepática, pero con liberación de NH₄ endógeno que debe ser detoxificado a urea. Es así, que los esquemas de evaluación nutricional basados en la medición de

cuerpos cetónicos, N ureico y proteína total en leche, bien interpretados, han demostrado ser de gran utilidad en la práctica clínica^(44, 63, 89).

REFERENCIAS

- 1) – Andersson, L. – 1988 – Subclinical ketosis in dairy cows, pp 233-251 In: Metabolic diseases on ruminant livestock, The Vet. Clin. of N. America, Food Animal Practice, Ed. by T.H. Herdt, Vol 4 (Nº2), USA.
- 2) – Andersson, L.; Gustaffson, A.H.; Emanuelson, U. – 1991 – Effect of hyperketonaemia and feeding on fertility in dairy cows, Theriogenology, 36(4): 521.
- 3) – Arora, S.P. – 1969 – Tissue distribution of administered ⁶⁵Zn and possible effect of dietary zinc and vitamin A metabolism, Diss. Abstr. Int., 30: 917
- 4) – Bauman, D.E.; Currie, W.B. – 1980 – Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis, J. Dairy Sci., 63: 1514.
- 5) – Baile, C.A.; Della-Fera, M.A. – 1988 – Physiology of control of food intake and regulation of energy balance in dairy cows, pp 251-261 In: Nutrition and lactation in the dairy cow, Ed. by P.C. Garnsworthy, Butterworths, England.
- 6) – Bell, A.W.; Slepatis, R.; Ehrhardt, R.A. – 1995 – Growth and accretion of energy and protein in the gravid uterus during late pregnancy of Holstein cows, J. Dairy Sci., 78: 1954.
- 7) – Bendich, A. – 1993 – Physiological role of antioxidants in the immune system, J. Dairy Sci., 76: 2789.
- 8) – Blalock, J.E. – 1989 – A molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems, Physiol. Rev., 68: 1.
- 9) – Block, E. – 1984 – Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce the incidence of milk fever, J. Dairy Sci., 67: 2939.
- 10) – Blowey, R.W. – 1994 – Arreglo del pié y cojeras en vacas lecheras, pp 1-6 En: Memorias 1^{ras}. Jornadas de Actualización Profesional en Producción Lechera, U.E.E.A. INTA Lincoln, Argentina.
- 11) – Bertic, S.J.; Grummer, R.R.; Cadorniga-Valino, C.; Stoddard, E.E. – 1992 – Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation, J. Dairy Sci., 75: 1914.
- 12) – Breukink, H.J.; Wensing, Th.; Wentink, G.H. – 1992 – Disorders in the dairy cow as a consequence of production, pp 123-135 In: Proc. 8th Intern. Conf. on Prod. Diseases in Farm Animals, Aug. 24-27, 1992, Univ. of Berne, Switzerland.
- 13) – Breuking, H.J. – 1991 – Abomasal displacement: etiology, pathogenesis, treatment and prevention, Bovine Pract., 26: 148.
- 14) – Breede, D.K.; Sanchez, W.K.; Wang, C. – 1992 – Macrominerals, pp 272-286 In: Large Dairy Herd Management, Ed. by H.H. Van Horn and C.J. Wilcox, American Dairy Science Association, Champaign, IL, USA.
- 15) – Breede, D.K. – 1995 – Macromineral element nutrition for the transition cow: practical implication and strategies, pp 175 In: Proc. Tri-State Nutrit. Conf., May 1995, USA.
- 16) – Breede, D.K. – 1992 – The DCAD concept: transition rations for dry pregnant dairy cows, Feedstuffs, 64 (53): 12.
- 17) – Breves, G.; Goff, J.P.; Schröder, B.; Horst, R.L. – 1995 – Gastrointestinal calcium and phosphate metabolism in ruminants, pp 135-151 In: Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction, Proc. of the 8th Int. Symp. on Ruminant Physiology, Ed. by W.v. Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves and D. Giesecke, Enke Verlag, Stuttgart, 1995.
- 18) – Butler, W.R. – 1998 – Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle, J. Dairy Sci., 81: 2533.
- 19) – Butler, W.R.; Elrod, C.C. – 1992 – Reproduction in high-yielding dairy cows as related to energy balance and protein intake, pp 240-252 In : Proc. 8th Int. Conf. on Prod. Diseases in Farm Animals, University of Berne, Switzerland.
- 20) – Butler, W.R.; Smith, R.D. – 1989 – Interrelationship between energy balance on postpartum reproductive function in dairy cattle, J. Dairy Sci., 72: 767.

- 21) - Butler, W.R.; Calaman, J.J.; Bean, S.W. – 1996 – Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle, *J. Animal Sci.*, 74: 858.
- 22) - Burton, J.L.; McBride, B.W.; Block, E.; Glimm, D.R.; Kennelly, J.L. – 1994 – A review of bovine growth hormone, *Can. J. Anim. Sci.*, 74: 167.
- 23) - Clemmonds, D.R.; Underwood, L.E. – 1991 – Nutritional regulation of IGF-I and IGF-binding proteins, *Annu. Rev. Nutr.*, 11: 393.
- 24) - Chew, B.P.; Keller, H.F.; Erb, R.E.; Malvern, P.V. – 1977 – Periparturient concentrations of prolactin, progesterone, and estrogens in blood plasma of cows retaining and not retaining fetal membranes, *J. Anim. Sci.*, 44: 1055.
- 25) - Collier, R.J.; Byatt, J.C.; McGrath, M.F.; Eppard, P.J. – 1994 – Role of bovine placental lactogen, In: *Intercellular signalling during mammary growth and lactation*, Ed. by C.J. Wilde, C.H. Knight and M. Peaker, Plenum Press, NY, USA.
- 26) - Corbellini, C.N. – 1998 – Las enfermedades de la producción en las vacas lecheras en transición, pp 88-123, En: *Nutrición de la Vaca Lechera*, Ed. por M. Ruberto y G.A. Gagliostro, Unidad Integrada E.E.A. INTA/Fac. Cs. Agr., UNMdP, Balcarce, Pcia. Bs. As., Argentina.
- 27) - Corbellini, C.N. – 1994 – El síndrome de vaca caída y estrategia de suplementación mineral en vacas lecheras, pp 80-96 En: *Actas 1^{ras}. Jornadas de Actualización Técnica sobre Minerales en Nutrición y Salud Animal*, Asoc. Arg. Vet. Lab. de Diag., Mar del Plata, Argentina.
- 28) - Corbellini, C.N. – 1998 – Etiopatogenia y control de hipocalcemia e hipomagnesemia en vacas lecheras, pp 73-108 En: *Nutrição mineral em ruminantes*, Ed. por F.H. Díaz González, H. Ospina Patiño y J.O.J. Barcellos, UFRGS, Porto Alegre, Brasil, Junho 1998.
- 29) - Corbellini, C.N. – 1999 – Mecanismos de defensa de la glándula mamaria bovina, pp 47-62 En: *Actas Curso de Actualización Profesional sobre Fisiopatología de la Lactancia y Calidad de Leche*, Proyecto Lechero E.E.A. INTA Pergamino, Esc. Agr. Inchausti, 25 de Mayo, Pcia. Bs. As., Argentina, Junio 1999.
- 30) - Corbellini, C.N. – 1998 – Influencia de los micronutrientes en la fertilidad en bovinos lecheros.I.Vitaminas, *Rev. Med. Vet., Argentina*, 79(2): 154.
- 31) - Corbellini, C.N. – 1998 – Influencia de los micronutrientes en la fertilidad en bovinos lecheros.II.Minerales, *Rev. Med. Vet., Argentina*, 79(3): 231.
- 32) - Corbellini, C.N.; Cappelletti, C.; Ruksan, B.E. – 1992 – Efectos de la suplementación con selenato de bario sobre la eficiencia reproductiva e incidencia de mastítis en animales con deficiencia subclínica de selenio, *Nuestro Holando*, XXXV (Nº 380): 28.
- 33) - Corbellini, C.N.; Mangoni, A.R.; Carutti de Mattos, A.; Auzmendi, J. – 1997 – Efectos de la suplementación con óxido de zinc o metionina-zinc en vacas lecheras marginalmente deficientes, *Rev. Med. Vet., Argentina*, 78(6): 439.
- 34) - Corbellini, C.N. – 1995 – Factores nutricionales relacionados con las afecciones podales en bovinos, pp 138-145 En: *Memorias Curso de Actualización Profesional sobre Alimentación y Enfermedades de la Nutrición en Vacas Lecheras*, Ed. por C.N. Corbellini, U.E.E.A. INTA Mercedes, Pcia. Bs. As., Argentina, Julio 1995.
- 35) - Corbellini, C.N.; Huertas, H.P.; Cerutti de Mattos, A. – 1992 – Prevención de hipocalcemia puerperal en vacas lecheras por manejo nutricional preparto, *Rev. Med. Vet., Argentina*, 73(6): 258.
- 36) - Corbellini, C.N. – 1996 – Prevención de la hipocalcemia postparto mediante el balanceo de aniones y cationes de la dieta preparto, pp 141-157 En: *Nutrición de la Vaca Lechera*, G. Gagliostro Ed., E.E.A. INTA Balcarce, Argentina, 1996.
- 37) - Corbellini, C.N. – 1998 – Influencia de los desvíos metabólicos en la fertilidad, pp 127-143 En: *Memorias Cuartas Jornadas Argentinas y Primeras del MERCOSUR de CABIA*, Bs.As., Argentina.
- 38) - Cangiano, C. – 1996 – Consumo en pastoreo: Factores que afectan la facilidad de cosecha, pp 218-244 En: *Curso de Nutrición de la Vaca Lechera*, Ed. por M. Ruberto y G. Gagliostro, Unidad Integrada E.E.A. INTA Balcarce/Fac. Sc. Agr. UNMdP, Balcarce, Octubre 1996.
- 39) - Chilliard, Y. – 1987 – Revue bibliographique: Variations quantitative et métabolism des lipides dans le tissue adipeux et le foi au cours du cycle gestation-lactation. 2^e Partie: chez la brevis et la vache, *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 27(2^a): 327.
- 40) - Chew, B.P.; Hollen, L.L.; Hillers, J.K. – 1982 – Relationship between vitamin A and beta-carotene in blood plasma and milk and mastitis in Holstein, *J. Dairy Sci.*, 65: 2111.

- 41) - Curtis, C.R.; Erb, H.N.; Sniffen, C.J.; Smith, R.D.; Powers, P.A.; Smith, M.C.; White, M.E.; Hillman, R.B.; Perason, E.J. – 1983 – Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows, *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 183: 559.
- 42) - Curtis, C.R.; Erb, H.N.; Sniffen, C.J. – 1985 – Pathanalysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows, *J. Dairy Sci.*, 68: 2347.
- 43) - Dirksen, G.U.; Liebich, H.G.; Mayer, E. – 1985 – Adaptative changes of the ruminal mucosa and their functional and clinical significance, *Bovine Pract.*, 20: 116.
- 44) - Dirksen, G. – 1992 – Control of Production diseases in dairy cows in a changing agricultural environment, pp 271-282 In: *Proc. 8th. Int. Conf. on Prod. Diseases in Farm Animals*, University of Berne, Switzerland.
- 45) - Dirksen, G. – 1976 – L'acidose du rumen, *Le Point Veterinaire*, Vol II (18): 9.
- 46) - Dougherty, R.W. – Lactic acidosis, pp 122-131 In: *Comparative aspects of nutritional and metabolic diseases*, J.C. Woodard and M. Bruss, Eds.; CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- 47) - Elsasser, T.H. – 1992 – The impact of production disease stress on the character of growth and productivity of food producing animal, pp 1-15 In: *Proc. 8th. Int. Conf. on Prod. Diseases in Farm Animals*, University of Berne, Switzerland.
- 48) - Ellenberg, H.B.; Newlander, J.A.; Jones, C.H. – 1932 – Calcium and phosphorus requirements of dairy cows. II. Weekly balances through lactation and gestation periods, *Vermont Agr. Expt. Sta. Bull.*: 331-342.
- 49) - Erdman, R.A. – 1992 – Vitamins, pp 297-308, In: *Large Dairy Herd Management*, Ed. by H.H. Van Horn and C.J. Wilcox, American Dairy Association, Champaign, IL, USA.
- 50) - Erskine, R.J.; Eberhart, R.J.; Grasso, P.J. – 1989 – Induction of *Escherichia coli* mastitis in cows fed selenium-deficient or selenium-supplemented diets, *Am. Vet. Res.*, 50: 2093.
- 51) - Erskine, R.J.; Eberhart, R.J.; Schulz, R.W. – 1991 – Experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis in selenium-deficient and selenium-supplemented dairy cows, *Am. J. Vet. Res.*, 51: 1107.
- 52) - Elrod, C.C.; Butler, W.R. – 1993 – Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein, *J. Animal Sci.*, 71: 694.
- 53) - Ferguson, J.D.; Chalupa, W. – 1989 – Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows, *J. Dairy Sci.*, 72: 746.
- 54) - Fox, L.K.; Gay, J.M. – 1993 – Contagious mastitis, pp 475-487, In: *Update on Bovine Mastitis*, Ed. by K.L. Anderson, *The Vet. Clin. of N. America, Food Animal Practice*, Vol 9 (N° 3), November 1993, USA.
- 55) - Forbes, J.M. – 1995 – Physical limitations of feed intake in ruminants and its interactions with other factors affecting intake, pp 217-232, In: *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*, Ed. by W.v. Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves and D. Giesecke, Enke Verlag, Stuttgart, 1995.
- 56) - Garnsworthy, P.C.; Topps, J.H. – 1982 – The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets, *Anim. Prod.*, 35: 113.
- 57) - Gerloff, B.J. – 1988 – Feeding the dry cow to avoid metabolic disease, pp 379-390 In: *Metabolic diseases in ruminant livestock*, *The Vet. Clin. of N. America, Food Animal Practice*, Vol 4 (N°2), July 1988, USA.
- 58) - Gerloff, B.J.; Herdt, T.H.; Emery, R.S. – 1986 – The relationship of hepatic lipidosis to health and performance in dairy cattle, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 188: 845.
- 59) - Goff, J.P.; Horst, R.L. – 1997 – Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders, *J. Dairy Sci.*, 80: 1260.
- 60) - Goff, J.P.; Stabel, J.R.; Kehrli, M.E. – 1992 – Decreased plasma retinol, α -tocopherol and zinc concentrations at parturition: effects of supplementation prior to calving, pp 158 In: *Proc. 8th. Int. Conf. on Prod. Diseases in Farm Animals*, University of Berne, Switzerland.
- 61) - Goff, J.P.; Horst, R.L. – 1997 – Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows, *J. Dairy Sci.*, 80: 176.
- 62) - Goff, J.P.; Horst, R.L.; Mueller, F.J.; Miller, J.K.; Kiess, G.A.; Dowlen, H.H. – 1991 – Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increase 1,25-dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia, preventing milk fever, *J. Dairy Sci.*, 74: 3863.

- 63) - Gonda, H.L.; Lindberg, J.E. – 1994 – Evaluation of dietary nitrogen utilization in dairy cows based on urea concentration in blood, urine and milk, and urinary concentrations of purine derivatives, *Acta Agric. Scand.(Sect. A, Animal Science)*, 44: 236.
- 64) - Gröhn, Y.T.; Erb, H.N.; McCulloch, C.E.; Saloniemi, H.S. – 1989 – Epidemiology of metabolic disorders in dairy cattle: association among host characteristics, disease and production, *J. Dairy Sci.*, 72: 1870.
- 65) - Grummer, R.R. – 1995 – Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow, *J. Anim. Sci.*, 73: 2820.
- 66) - Grummer, R.R. – 1993 – Etiology of lipid related disorders in periparturient dairy cows, *J. Dairy Sci.*, 76: 3882.
- 67) - Greenough, P.R. – 1985 – The subclinical laminitis syndrome, *The Bovine Pract.*, 20: 144.
- 68) - Geishauser, T. – 1997 – New findings on the etiology and pathogenesis of abomasal displacement, pp 269 In: *Proc. IXth. Int. Conf. on Prod. Disease in Farm Animals*, Free University of Berlin, Ed. by H. Martens, Enke Verlag, Stuttgart, 1997
- 69) - Hamann, J. – 1994 – Trends in yield and health parameters: an attempt of a retrospective analysis, pp 57-61, In: *Proc. Int. Symp. Prospects for Future Dairying. A challenge for Science and Industry*, Alfa Laval Agri, Tumba, and Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, June 13-16, 1994.
- 70) - Herdt, T.H. – 1988 – Fuel homeostasis in the ruminant, pp 213-231, In: *Metabolic diseases of ruminant livestock*, Ed. by T.H. Herdt, *The Vet. Clin. of N. America, Food Animal Practice, Vol 4 (Nº2)*, July 1988, USA.
- 71) Holmes, C.W. – 1988 – Genetic merit and efficiency of milk production by the dairy cow, pp 195-215 In: *Nutrition and Lactation in the Dairy Cow*, Ed. by P.C. Garnsworthy, Butterworths, England.
- 72) - Holter, J.B.; Slotnick, M.J.; Hayes, H.H.; Bozak, C.K.; Urban, W.W.; McGuilliard, M.L. – 1990 – Effect of prepartum dietary energy on condition score, postpartum energy, nitrogen partitions, and lactation production response, *J. Dairy Sci.*, 73: 3502.
- 73) - Herdt, T.H.; Liesman, J.S.; Gerloff, B.J. – 1983 – Reduction of serum triacylglycerol-rich lipoprotein concentrations in cows with hepatic lipidosis, *Am. J. Vet. Res.*, 44: 293.
- 74) - House, W.A.; Bell, A.W. – 1993 – Mineral accretion in the fetus and adnexa during late gestation in Holstein cows, *J. Dairy Sci.*, 76:2999.
- 75) - Horst, R.L.; Jorgensen, N.A. – 1982 – Elevated plasma cortisol during induced and spontaneous hypocalcemia in ruminants, *J. Dairy Sci.*, 65: 2332.
- 76) - Herdt, T.H. – 1988 – Fatty liver in dairy cow, pp 269-287, In: *Metabolic diseases of ruminant livestock*, *The Vet. Clin. of N. America, Food Animal Practice*, T.H. Herdt Ed., Vol 4 (Nº 2), USA.
- 77) - Harrison, J.H.; Hancock, D.D.; Pierre, N. St.; Conrad, H.R.; Harvey, W.R. – 1986 – Effect of prepartum selenium treatment on uterine involution in the dairy cows, *J. Dairy Sci.*, 69: 1421.
- 78) - Hemkem, R.W.; Vandersall, J.H.; Oskarsson, M.A.; Fryman, L.R. – 1972 – Iodine intake related to milk iodine and performance in dairy cattle, *J. Dairy Sci.*, 55: 931.
- 79) - Harrison, J.H.; Hancock, D.E.; Conrad, H.R. – 1984 – Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow, *J. Dairy Sci.*, 67: 123.
- 80) - Hogan, J.S.; Weiss, W.P.; Smith, K.L. – 1993 – Role of vitamin E and selenium in host defense against mastitis, *J. Dairy Sci.*, 76: 2795.
- 81) - Hurley, W.L.; Doane, R.M. – 1989 – Recent developments in the roles of vitamins and mineral in reproduction, *J. Dairy Sci.*, 72: 784.
- 82) - Horst, R.L.; Goff, J.P.; Reinhardt, T.A. – 1995 – Pathophysiology and prevention of milk fever in dairy cattle, pp 21-32 In: *proc. IXth. Int. Conf. on Prod. Diseases in Farm Animals*, Free University of Berlin, September 11-14, 1995.
- 83) - Horst, R.L.; Goff, J.P.; Reinhardt, T.A. , Buxton, D.R. – 1997 – Strategies for preventing milk fever in dairy cattle, *J. Dairy Sci.*, 80: 1269.
- 84) - Herrera-Saldaña, R.; Gomez-Alarcón, R.; Torabi, M.; Huber, J.T. – 1990 – Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis, *J. Dairy Sci.*, 73: 142.
- 85) - Husueth, F.; Karsai, F.; Gaal, T. – 1982 – Peripartal fluctuations of plasma and hepatic lipid components in dairy cows, *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.*, 30: 97.

- 86) - Franklin, S.T.; Young, J.W.; Nonnecke, B.J. – 1991 – Effects of ketones, acetone, butyrate, and glucose on bovine lymphocyte proliferation, *J. Dairy Sci.*, 74: 2507.
- 87) - Jónsson, G. – 1994 – Ethical implications of high milk yields, pp 233-238 In: Proc. Int. Symp. Prospects for Future Dairying. A challenge for Science and Industry, Alfa Laval Agri, Tumba, and Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, June 13-16, 1994.
- 88) - Johnson, D.E.; Johnson, K.A.; Baldwin, R.L. – 1990 – Changes in liver and gastrointestinal tract energy demands in response to physiological work-load in ruminants, *J. Nutrition*, 120: 649.
- 89) - Gustafsson, A.H. – 1993 – Acetone and urea concentration in milk as indicators of the nutritional status and the composition of the diet of dairy cows, Ph.D. Thesis, Swedish University of Agr. Sci., Dept. of Anim. Nut. and Manag., Report 222, Uppsala, Sweden
- 90) - Julien, W.E.; Conrad, H.R.; Moxon, A.L. – 1976 – Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. II. Prevention in commercial herds with prepartum treatment, *J. Dairy Sci.*, 59: 1960.
- 91) - Johnson, T.R.; Combs, D.K. – 1991 – Effect of prepartum diet, inert rumen bulk and dietary polyethylene glycol on dry matter intake of lactating dairy cows, *J. Dairy Sci.*, 74: 933.
- 92) - Kelly, K.W. – 1989 – Effects of growth hormone on the immune system, *Proc. N.Y. Acad. Sci.*, 257: 95.
- 93) - Kincaid, R.I., Hodson, R.J.E., Conrath, J.D. – 1985 – Supplementation of diets for lactating cows with zinc as zinc oxide and zinc methionine, *J. Dairy Sci.*, 67 (Suppl 1) : 103 (Abstract).
- 94) - Kendrick, K.W.; Bailey, T.L.; Garst, A.S.; Pryon, A.W.; Ahmadzadem, A.; Akers, R.M.; Eyestone, W.E.; Pearson, R.E.; Gwazdauskas, F.C. – 1999 – Effects of energy balance on hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating Holstein cows using transvaginal follicular aspiration, *J. Dairy Sci.*, 82: 1731.
- 95) - Kellog, D.W. – 1990 – Zinc-methionine affects performance of lactating cows, *Feedstuffs*, 62(5): 15.
- 96) - Kelly, J.M.; Park, H.; Summers, M.; Milligan, L.P. – 1993 – Interaction between protein and energy metabolism, pp 342-362, In: Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism, CAB Int., England.
- 97) - Lallès, J.P. – 1997 – Nutrition and immunology in ruminants, pig and poultry, pp 63-74, In: Proc. IXth. Int. Conf. on Prod. Diseases in Farm Animals, Ed. by H. Martens, Free University of Berlin, Enke Verlag, Stuttgart.
- 98) - Lean, I.; Westwood, C.T.; Rabiee, A.R.; Curtis, M.A. – 1999 – Recientes avances en nutrición y la fertilidad en el manejo de vacas lecheras en climas templados, pp 1-19, En: Bioenergética de la Lactancia en Vacas Lecheras, Ed. por C. Kitroser y C.N. Corbellini, Fac. Cs. Agr. Univ. Católica Argentina, Abril 1999, Bs. As., Argentina.
- 99) - Lean, I.J.; Bruss, M.L.; Baldwin, R.L.; Trout, H.F. – 1992 – Bovine ketosis: A review. II. Biochemistry and prevention, *Vet. Bulletin*, Vol 62: 1.
- 100) – Lomax, M.A. – 1992 – Visceral and hepatic metabolism in relation to ruminant ketosis, pp 184-197, In: Proc. 8th. Int. Conf. on Prod. Diseases in Farm Animals, Aug 24-27, University of Berne, Switzerland.
- 101) – Lucy, M.C.; Staples, C.R.; Thatcher, W.W.; Erickson, P.S.; Cleale, R.M.; Firkins, J.L.; Murphy, M.R.; Clark, J.H.; Brodle, B.O. – 1992 – Influence of diet composition, dry matter intake, milk production, and energy balance on time of postpartum ovulation and fertility in dairy cows, *Anim. Prod.*, 54: 323.
- 102) – Lotthammer, K.H. – 1979 – The influence of β -carotene for the fertility of dairy cattle, *Feedstuffs*, 51: 6.
- 103) – Lucy, M.C.; Beck, J.; Staples, C.R.; Head, H.H.; de la Sota, R.L.; Thatcher, W.W. – 1992 – Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor I (IGF-I) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulation period, *Reprod. Nut. Develop.*, 32: 331.
- 104) – Lucy, M.C.; Thatcher, W.W.; Staples, C.R. – 1992 – Postpartum function: nutritional and physiological interactions, pp 135-145, In: Large Dairy Herd Management, Ed. by H.H. Van Horn and C.J. Wilcox, American Dairy Science Association, Champaign, IL, USA.
- 105) – McGuire, M.A.; Vicini, J.L.; Bauman, D.E.; Veenhuizen, J.J. – 1992 – Insulin-like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation, *J. Animal Sci.*, 70: 2901.

- 106) – McDowell, L.R. – 1992 – Minerals in Animal and Human Nutrition, Academic Press, Inc., San Diego, CA, USA, 524 pp.
- 107) – Miller, W.J. – 1987 – Trace mineral nutrition and interrelationships as applied to dairy cattle, The Bovine Proceedings, N^o 19: 94.
- 108) – Miller, W.J. – 1970 – Zinc nutrition of cattle: A review, J. Dairy Sci., 53: 1123.
- 109) – Miller, J.K.; Swanson, E.W.; Spalding, G.E. – 1975 – Iodine absorption, excretion, recycling and tissue distribution in the dairy cow, J. Dairy Sci., 58: 1578.
- 110) – Metz, S.H.M.; van den Bergh, S.G. – 1977 – Regulation of fat mobilization in adipose tissue of dairy cows in the period around parturition, Neth. J. Agric. Sci., 25: 198.
- 111) – Madsen, F.C.; Rompala, R.E.; Miller, J.K. – 1991 – Essential trace minerals. Requirements altered by disease, stress, management, Large Animal Vet., 47(2): 32.
- 112) – Miller, J.K.; Madsen, E.C. – 1992 – Trace minerals, pp 287-296 In: Large Dairy Herd Management, Ed. by H.H. Van Horn and C.J. Wilcox, American Dairy Association, Champaign, IL, USA.
- 113) – Mertens, D.R. – 1992 – Nonstructural and structural carbohydrates, pp 219-235, In: Large Dairy Herd Management, Ed. by H.H. Van Horn and C.J. Wilcox, American Dairy Science Association, Champaign, IL, USA.
- 114) – McCarthy, R.D.; Porter, G.A.; Griel, L.C. – 1968 – Bovine ketosis and depressed fat test in milk: A problem of methionine metabolism and serum lipoprotein aberration, J. Dairy Sci., 51: 459.
- 115) – McClure, T.J.; Eamens, G.J.; Healy, P.J. – 1986 – Improved fertility in dairy cows after treatment with selenium pellets, Australian Vet. J., 63(5): 144.
- 116) – Mortensen, K. – 1994 – Bovine laminitis (Diffuse aseptic pododermatitis): Clinical and Pathological findings, pp 210-226, In: Proc. 8th. Intern. Symp. of Disorders in the Ruminant Digit, Ontario, Canada.
- 117) – McBride, B.W.; Kelly, J.M. – 1990 – Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant by gastrointestinal tract and liver: A review, J. Anim. Sci., 68: 2997.
- 118) – Moller, S.; Matthew, C.; Wilson, G.E. – 1993 – Pasture proteins and soluble carbohydrate levels in spring daily pasture and association with cow performance, Proc. of the New Zealand Society of Animal Production, 53: 83.
- 119) – Marini, P.R.; Figallo, R.; Charmandarian, A.; Gómez, L.; Torresi, S.; Castillo, R. – 1998 – Urea láctea e indicadores reproductivos en vacas lecheras en pastoreo, Rev. Arg. Prod. Anim., 18: 353.
- 120) – Nocek, J.E. – 1995 – Nutritional considerations for the transition cow, pp 121-137, In: Proc. 1995 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, Dept. Animal Sci. and Division of Nutritional Sciences, New York State College of Agriculture and Life Sciences, Cornell University, Ithaca, NY, USA.
- 121) – National Research Council – 1989 – Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 6th. Rev. Ed., Washington, DC, Natl. Acad. Sci., Washington, DC, USA.
- 122) – Ossent, P.; Lisher, C.J. – 1994 – Theories on the pathogenesis of bovine laminitis, pp 207-209, In: Proc. 8th. Intern. Symp. of Disorders of the Ruminant Digit, Ontario, Canada.
- 123) – Peterge, D.J. – 1986 – Lameness in cattle, pp 1015-1022, In: Proc. 14th. World Congress on Disease in Cattle, Vol 2, Dublin, Ireland.
- 124) – Poland, C.E. – 1992 – Protein and aminoacids for lactating cows, pp 236-247, In: Large Dairy Herd Management, Ed. by H.H. Van Horn and C.J. Wilcox, American Dairy Association, Champaign, IL, USA.
- 125) – Payne, J.M. – 1977 – Metabolic diseases in farm animals, Heidemann Medical Books, London, England.
- 126) – Reid, I.M.; Collins, R.A. – 1980 – The pathology of post-parturient fatty liver in high-yielding dairy cows, Invest. Cell. Pathol., 3: 237.
- 127) – Reinhardt, T.A.; Horst, R.L.; Goff, J.P. – 1988 – Calcium, Phosphorus, and Magnesium Homeostasis in Ruminant, pp 331-350, In: Metabolic diseases of ruminant livestock, The Vet. Clin. of N. America, Food Animal Practice, Vol 4 (N^o2), July 1988, USA.
- 128) – Ramberg, C.F.; Johnson, E.K.; Fargo, R.D.; Kronfeld, D.S. – 1984 – Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia, Am. J. Physiol., R698-R704.

- 129) – Reynolds, C.R. – 1992 – Metabolism of nitrogenous compounds by ruminant liver, *J. Nutr.*, 122: 850.
- 130) – Rearte, D.H.; Santini, F.J. – 1989 – Digestión ruminal y producción en animales en pastoreo, *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 9: 93.
- 131) – Staples, C.R.; Thatcher, W.W.; Burke, J.M. – 1997 – Influences of dietary energy, fat, and protein on reproductive performance of lactating dairy cows, pp 204-221, In: *Proc. XIth Inter. Conf. on Prod. Diseases in Farm Animals*, Ed. by H. Martens, Free University of Berlin, Enke Verlag, Stuttgart.
- 132) – Strange, R.; Friis, R.R.; Bemis, L.T.; Geske, F.J. – 1995 – Programmed cell death during mammary gland involution, *Methods Cell Biol.*, 46: 355.
- 133) – Smith, K.L.; Todhunter, D.A.; Schoenberger, P.S. – 1985 – Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention, *J. Dairy Sci.*, 73: 1531.
- 134) – Smith, K.L.; Harrison, J.H.; Hancock, D.D.; Todhunter, D.A.; Conrad, H.R. – 1984 – Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms, *J. Dairy Sci.*, 67: 1293.
- 135) – Schingoethe, D.J.; Kirkbride, C.A.; Palmer, I.S.; Owens, M.J.; Tucker, W.L. – 1982 – Response of cows consuming adequate selenium to vitamin E and selenium supplementation prepartum, *J. Dairy Sci.*, 65: 2338.
- 136) – Savio, J.D.; Boland, M.P.; Hynes, N.; Roche, J.F. – 1990 – Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows, *J. Reprod. Fertil.*, 88: 569.
- 137) – Suttle, N.F. – 1991 – The interactions between copper, molybdenum and sulphur in ruminant nutrition, *Ann. Rev. Nutr.*, 11: 121.
- 138) – Smith, K.L.; Hogan, J.S. – 1993 – Environmental mastitis, pp 489-498, In: *Update on Bovine Mastitis*, Ed. by K.L. Anderson, *The Vet. Clin. of N. America, Food Animal Practice*, Vol 9 (Nº3), November 1993, USA.
- 139) – Sheffy, B.E.; Williams, A.J. – 1982 – Nutrition and the immune response, *J. Am. Vet. Assoc.*, 180: 1073.
- 140) – Tucker, W.B.; Hogue, J.F.; Adams, G.D.; Aslam, M.; Shin, I.S.; Morgan, G. – 1992 – Influence of dietary cation-anion balance during the dry period on the occurrence of parturient paresis in cows fed excess calcium, *J. Animal Sci.*, 70: 1238.
- 141) – Vernon, R.G. – 1988 – The partition of nutrients during the lactation cycle, pp 32-52, In: *Nutrition and Lactation in the Dairy Cow*, Ed. by P.C. Garnsworthy, Butterworths, London, England.
- 142) – Vasquez-Anon, M.; Bertic, S.; Luck, M.; Grummer, R.R. – 1994 – Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows, *J. Dairy Sci.*, 77: 1521.
- 143) – Van Saun, R.J. – 1993 – Effects of undegradable protein fed prepartum on subsequent lactation, reproduction and health in Holstein dairy cattle, Ph.D. Thesis, Cornell University, Ithaca, NY, USA.
- 144) – Wieland, O – 1968 – *Advances in Metabolic Disorders*, Academic Press, NY, USA, pp 1-47.
- 145) – Wyle, F.A.; Kent, J.R. – 1977 – Immunosuppression by sex steroid hormones, *Clin. Exp. Immunol.*, 27: 407.
- 146) – West, H.J. – 1990 – Effect on liver function of acetonaemia and the fat cow syndrome in cattle, *Res. Vet. Sci.*, 48: 221.
- 147) – Weaver, D.A. – 1988 – Laminitis, *The Bovine Practitioner*, 23: 85.
- 148) – Zemet, C.N.; Colenbrander, V.F.; Callahan, C.J.; Chew, B.P.; Erb, R.E.; Moeller, N.J. – 1979 – Variables associated with prepartum traits in dairy cows. I. Effect of dietary forages and disorders on voluntary intake of feed, bodyweight and milk yield, *Theriogenology*, 11: 2299.