

# INDICADORES ENERGÉTICOS DE VACAS LECHERAS A PASTOREO EN PERÍODO DE TRANSICIÓN Y LACTANCIA TEMPRANA CON ALTA O MODERADA CONDICIÓN CORPORAL PREPARTO

## Energy Markers of Grazing Dairy Cows During Transition and Early Lactation Periods With High or Moderate Body Condition. Before Calving

Clarissa Strieder Barboza<sup>1</sup>, Luis Gabriel Cucunubo<sup>2</sup>, Juan Pablo Smulders<sup>3</sup>, Fernando Wittwer<sup>4</sup> y Mirela Noro<sup>4,5\*</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Nutrición, Toxicología y Reproducción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia. <sup>2</sup>Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia. <sup>3</sup>Instituto de Ciencia Animal, Universidad Austral de Chile (UACh); <sup>4</sup>Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, UACh, Casilla 567, Valdivia, Chile. <sup>5</sup>Curso de Medicina Veterinaria, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Uruguiana, RS, Brasil. \* mirelanoro@gmail.com

### RESUMEN

Se determinó las variaciones en indicadores sanguíneos y productivos y la presentación de resistencia a insulina y cetosis en vacas lecheras a pastoreo durante los períodos de transición y lactancia temprana que presentaban alta o moderada condición corporal (CC) en el período preparto. El estudio se realizó durante el periodo de transición (tres semanas [sem] antes y después del parto) y lactancia temprana (cuarta a octava sem posparto). Los grupos se asignaron según CC preparto (escala 1-5): alta ( $\geq 3,75$ ;  $n=20$ ) y moderada (3,00-3,50;  $n=28$ ). Se evaluaron las variaciones semanales de la CC, peso vivo, producción láctea e indicadores sanguíneos: ácidos grasos no esterificados [NEFA],  $\beta$ -hidroxibutirato, glucosa, colesterol, urea, albúmina, aspartato aminotransferasa y glutamato deshidrogenasa. Fue realizada una prueba de tolerancia a glucosa y resistencia a la insulina en nueve vacas posparto de cada grupo. En el preparto se observó una mayor concentración sanguínea de lípidos y glucosa en vacas con alta CC. En las primeras tres sem posparto, las vacas con alta CC produjeron más leche asociado a la mayor glucemia, disminuyendo marcadamente la CC en relación al grupo con moderada CC. En la lactancia temprana se observó mayor glucemia y colestrolemia en las vacas con alta CC. La presentación de resistencia a insulina, balance energético negativo y cetosis fue similar entre los grupos, sin embargo, la excesiva lipomovilización (NEFA $>0,40$  mmol/L) y la hiperglucemia preparto ( $>4,1$

mmol/L) fueron los principales factores de riesgo para la resistencia a insulina en el período de transición. La hiperglucemia preparto también disminuyó el riesgo de balance energético negativo en lactancia temprana. Se concluyó que vacas lecheras a pastoreo con alta CC preparto, presentan mayor movilización de lípidos y glucemia superior durante el período de transición. La presentación de cetosis y resistencia insulínica en vacas lecheras a pastoreo se presenta independiente de la CC preparto, a su vez, dependiente de la cantidad de lípidos movilizados desde el tejido adiposo para soportar la demanda energética de las vacas lecheras.

**Palabras clave:** Vacas lecheras, condición corporal, indicadores sanguíneos, trastornos metabólicos.

### ABSTRACT

Blood markers for energy balance and milk production values, together with presentation of insulin resistance and ketosis were determined in grazing dairy cows during the periods of transition and early lactation and grouped according with their body condition score (BCS) before calving. The study was done in an experimental dairy herd, during the transitional period (3 weeks before to 3 weeks postcalving and early lactation, 4<sup>th</sup> to 8<sup>th</sup> weeks postcalving). Cows were distributed in two groups according to BCS (1 to 5 scale), high ( $\geq 3.75$ ;  $n=20$ ) and moderate (3.00-3.50;  $n=28$ ). Weekly variations of BCS, live body weight and blood markers for energy (non esterified fatty acids [NEFA],  $\beta$ -OH-butyrate, glucose, cholesterol), protein (urea, albumin) and liver damage were determined. A glu-

cose tolerance test and insulin resistance test were carry out during postcalving in nine cows of each group. Cows with high BCS at partum, compared to cows with moderate BCS at partum, had a larger blood lipid and glucose concentrations during precalving, produced more milk during the first three weeks postcalving and their blood glucose and cholesterol values at early lactation were higher, and also had a larger decrease in BCS. Presentation of negative energy balance and ketosis were similar in both groups of cows. However, excessive lipid mobilization (NEFA>0.40 mmol/L) and hyperglycaemia (>4.1 mmol/L) during precalving were the main risk factors for insulin resistance during the transition period. On the other hand hyperglycaemia precalving decreased the risk of a negative energy balance during lactation. It is concluded that dairy cows at pasture with high BCS precalving presents more lipid mobilization and have a higher glycaemia during the transitional period. Ketosis and insulin resistance presentations are independent of the BCS at calving, but are related to the lipid mobilization from the body fat stores to compensate the large demands for energy during lactation.

**Key words:** Dairy cows, body condition score, metabolic blood markers, metabolic disturbances.

## INTRODUCCIÓN

En los sistemas de pastoreo, donde la ingesta de materia seca (MS) es típicamente *ad libitum*, frecuentemente se observan vacas (*Bos taurus*) con alta condición corporal (CC) en el parto [20]. Es conocido que una CC óptima en relación a la etapa de la lactancia previene la presentación de enfermedades y pérdidas en la producción láctea [37].

Las vacas lecheras al final de la gestación y al inicio de la lactancia cursan con un balance energético negativo (BEN) asociado a la disminución en la ingesta de MS y al incremento en la demanda energética [31, 32]. Vacas con CC mayor a 4,0 (1-5) presentan un menor consumo de MS tres semanas (sem) antes del parto comparado a vacas flacas (menor a 3,0) o con moderada CC (3,0-3,75). Las vacas obesas disminuyen hasta un 40% la ingesta de MS a los tres días previos al parto, estimulando la movilización de lípidos [16].

El período periparto de las vacas lecheras, en el cual se produce un marcado cambio metabólico de un estado gestacional para un estado de lactancia, está asociado a un incremento en las tasas de lipólisis y a alteraciones en la acción de la insulina en los tejidos periféricos [40]. La insulina estimula la lipogénesis e inhibe la lipólisis, suprimiendo la movilización de ácidos grasos no esterificados (NEFA) [12]. Las bajas concentraciones de insulina o el efecto refractario de los tejidos hacia ella, serían las principales causas implicadas en el bajo uso de la glucosa por los tejidos periféricos [2]. La resistencia a insulina (RI) es definida por un estado en que la sensibilidad de las células blanco de responder a las concentraciones fisiológicas de insulina está reducida [4], la cual está íntimamente asocia-

da a la obesidad y a la diabetes tipo II en humanos, y a la hiperlipidemia, hepatolipidosis [30] y a la alta pérdida de peso en vacas lecheras [40]. Sin embargo, estudios han sugerido que la RI es una adaptación homeorrética de la vaca lechera para priorizar la glándula mamaria y promover la gluconeogénesis y lipólisis, más que la sensibilidad de los tejidos frente a la insulina [40]. Las pruebas de tolerancia a la glucosa y a la insulina consisten en el método diagnóstico más utilizado de RI en modelos con vacas lecheras. Las pruebas consisten en la evaluación del aclaramiento (*clearance*) o caída de la glucemia y la respuesta de la insulinemia, frente a la inyección de un bolo de glucosa e insulina endovenosa [4, 25, 30].

El desequilibrio en los mecanismos de adaptación metabólica durante el período de transición y lactancia temprana interfiere en la homeostasis corporal, y también predispone a la presentación de cetosis. De modo general, la cetosis se clasifica en tipo I y tipo II, debido a una escasez de precursores o a un bloqueo en la capacidad gluconeogénica frente a la demanda energética, respectivamente [19, 28]. La cetosis tipo I se presenta entre la tercera y sexta sem de lactancia debido a la gran demanda energética cursando con hipoglucemia, hipoinsulinemia y altas concentraciones circulares de cuerpos cetónicos (acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato [ $\beta$ HB] y acetona) [19]. Por otro lado, la cetosis tipo II se presenta alrededor del parto debido al BEN y a la movilización del tejido adiposo; vacas obesas son las más susceptibles debido a la mayor depresión en el consumo de MS en el periparto. La cetosis tipo II generalmente cursa con hiperinsulinemia e hiperglucemia transitorias, infiltración hepática de lípidos y resistencia a insulina; con concentraciones de cuerpos cetónicos no tan altas como en la cetosis tipo I [19, 28].

Debido a que en sistemas de pastoreo hay cambios en la disponibilidad y composición de la pradera durante el año, y que vacas lecheras con diferentes reservas energéticas alrededor del parto presentan un comportamiento de ingestión heterogéneo, la hipótesis es que vacas con alta CC parto producirían diferentes respuestas metabólicas durante el período de transición y lactancia temprana, predisponiendo a la presentación de resistencia a insulina. De este modo, el objetivo del estudio fue determinar las variaciones en indicadores sanguíneos y productivos y la presentación de resistencia a insulina y cetosis, en vacas lecheras a pastoreo en período de transición y lactancia temprana con alta o moderada condición corporal (CC) en el período parto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Ubicación.** El estudio se realizó de marzo a diciembre, 2010, en la Estación Experimental perteneciente a la Universidad Austral de Chile, ciudad de Valdivia, Región de los Ríos, Chile, 39°48' LS y 73°13' LO [15].

**Animales y diseño experimental.** Se utilizaron 44 vacas multíparas y cuatro primíparas Holstein Friesian, con un

peso vivo (PV) de  $547 \pm 65$  kg, CC de  $3,71 \pm 0,68$  en una escala de 1 a 5 [13] y producción láctea de  $25 \pm 5,2$  L  $d^{-1}$ . Los animales se seleccionaron en base a CC preparto y fecha probable de parto, y se asignaron a dos grupos homogéneos de acuerdo con la CC en la 3<sup>ra</sup> sem previa al parto: alta condición corporal (ACC;  $\geq 3,75$ ,  $n=20$ ) y moderada condición corporal (MCC;  $3,0 < 3,75$ ,  $n=28$ ). Para la formación de los grupos se consideró la estación del parto (ACC= 13 vacas con parto en otoño y 7 en primavera; MCC= 18 vacas con parto en otoño y 10 en primavera), el número de partos (primípara o múltipara) y la producción láctea en la lactancia previa. El estudio se dividió en tres períodos: transición preparto (PRE; 3 sem previas al parto), transición posparto (POS; 1<sup>ra</sup> a 3<sup>ra</sup> sem posparto) y lactancia temprana (LAC; 4<sup>ta</sup> a 8<sup>va</sup> sem posparto). Se utilizó un diseño de medidas repetidas con muestreos semanales de cada vaca.

**Manejo y dieta.** Las vacas en preparto se manejaron en potreros de maternidad desde aproximadamente 30 días (d) previos al parto. En el posparto e inicio de lactancia las vacas se manejaron en conjunto y se ordeñaron 2 veces al d (5:00 y 15:00h) mediante ordeño mecánico.

Las vacas en preparto se mantuvieron a pastoreo con predominio de heno (*Lolium perenne*) (oferta a ras del suelo  $< 10$  kg MS  $vaca^{-1}$ ), más 6-10 kg  $vaca^{-1}$  de heno 85,5% MS, 12,7% proteína cruda (PC), 1,93 Mcal  $kg^{-1}$  energía metabolizable (EM), 50,7% fibra detergente neutro (FDN), 33,5% fibra detergente ácido (FDA), 2,5 kg de concentrado preparto (87% MS, 18% PC, 3 Mcal  $kg^{-1}$  EM, 25% FDN) y 600 g de una mezcla de afrecho de trigo (*Triticum aestivum*), sales minerales y aniónicas distribuidos en un comedero colectivo en dos raciones diarias equitativas.

Las vacas en lactancia se mantuvieron a pastoreo con predominio de *Lolium perenne* en otoño (18,4% MS, 25,6% PB, 2,7 Mcal  $kg^{-1}$  EM, 41,2% FDN, 25,7% FDA, 2,7% extracto etéreo (EE), 10,2% cenizas totales (CT), 18,2 g/kg carbohidratos solubles (CHSO), oferta de aproximadamente 17 kg MS  $vaca^{-1}$ ) y en primavera (19,2% MS, 18,2% PC, 2,85 Mcal  $kg^{-1}$  EM, 38,8% FDN, 23,4% FDA, 2,4% EE, 6,7% CT, 25,5g  $kg^{-1}$  CHSO, oferta aproximada de 25 kg MS  $vaca^{-1}$ ) con libre acceso a agua y a una mezcla mineral. Además, en otoño se les ofreció 2 kg  $d^{-1}$  de torta de raps (*Brassica napus*; 90% MS, 34,5% PC, 3,25 Mcal  $kg^{-1}$  EM, 26,3% FDN, 12,3% EE), 5  $kg^{-1}$  de maíz (*Zea mays* L.) grano húmedo (70% MS, 7,7% PC, 3,52 Mcal  $kg^{-1}$  EM, 10,8% FDN, 3% FDA) y 35-40  $kg^{-1}$  de ensilaje de *Lolium perenne* (44,1% MS, 9,5% PC, 2,32 Mcal  $kg^{-1}$  EM, 62,4% FDN, 38,3% FDA). En primavera se les ofreció 3  $kg^{-1}$  de concentrado (86,7% MS, 14,1% PC, 2,98 Mcal  $kg^{-1}$  MS, 16,2% FDN, 5,2% FDA, 1,4% EE, 5,28% CT).

**Obtención y análisis de muestras.** Semanalmente, desde la 3<sup>ra</sup> sem previa a la fecha probable del parto hasta la 8<sup>va</sup> sem de lactancia, posterior al ordeño de la mañana se evaluó la CC [13] y se obtuvieron muestras de sangre en tubos con heparina mediante venopunción coccígea; el PV se deter-

minó durante las 8 sem posparto con una báscula fija (Romana, 2500 kg, Cooprem, Chile). Se determinaron las concentraciones plasmáticas de NEFA (Wako<sup>®</sup>),  $\beta$ HB (Ranbut, Randox), glucosa (Human<sup>®</sup>), colesterol (Human<sup>®</sup>), urea (Human<sup>®</sup>) y albúmina (Human<sup>®</sup>), y la actividad de las enzimas aspartato aminotransferasa (AST; EC 2.6.1.1, Human<sup>®</sup>) y glutamato deshidrogenasa (GMD; EC 1.4.1.2, Diasys<sup>®</sup>) en un autoanализador automático (MetroLab 2300<sup>®</sup>, Wiener Lab, Argentina).

**Diagnóstico de BEN y cetosis.** Para la evaluación de la presentación de BEN y cetosis subclínica tipo I en el período de transición preparto (PRE), período de transición posparto (POS) y lactancia temprana (LAC) se utilizaron las concentraciones plasmáticas de  $\beta$ HB con un punto de corte  $>0,6$  mmol/L y  $>1,2$  mmol/L, respectivamente [9, 32]. La presentación de cetosis tipo II se consideró cuando se observó hiperglucemia ( $>4,1$  mmol/L en PRE, POS y LAC) e incremento de NEFA plasmático ( $>0,400$  mmol/L en PRE y  $>0,700$  mmol/L en POS y LAC) [9, 19, 31].

**Diagnóstico de resistencia a insulina.** Para la evaluación de la presentación de RI se realizó simultáneamente una prueba de tolerancia a la glucosa (PTG) y a la insulina (PTI) endovenosa [8, 25] en 18 vacas representantes de cada grupo experimental: nueve vacas del grupo ACC ( $4,32 \pm 0,35$  de CC y  $581 \pm 67$  kg de PV) y nueve vacas del grupo MCC ( $3,45 \pm 0,12$  de CC y  $508 \pm 45$  kg de PV). La prueba se realizó entre la 1<sup>ra</sup> y 2<sup>da</sup> sem posparto posterior al ordeño de la mañana, mediante la administración de glucosa e insulina a través de un catéter (Certofix<sup>®</sup> Mono S 420, 14G, B. Braun, Chile) fijado en la vena yugular. La PTG consistió en la obtención de una muestra basal de sangre (minuto [min] cero) seguida de la infusión de 0,5 g  $kg^{-1}$  de PV de glucosa estéril apirógena al 50% (Glucosa al 50%; B. Braun Medical SA, Chile) en un lapso no superior a 3 min. Se obtuvieron muestras de sangre a los 5; 10; 15; 30; 45; 60; 75; 90 y 120 min de la infusión de la glucosa, las que fueron depositadas en tubos con fluoruro de sodio. La PTI consistió en la infusión de un bolo endovenoso de insulina recombinante humana en una dosis de 0,1 UI  $kg^{-1}$  de PV (100 UI  $mL^{-1}$ ; Insulatard<sup>®</sup> HM; Novo Nordisk Farmacéutica Ltda, Chile) posterior a la obtención de la muestra de sangre al min 120. Se obtuvieron muestras de sangre a los 125; 135; 145 y 160 min de inyectada la glucosa. En las muestras de plasma se determinaron las concentraciones de glucosa e insulina. La glucemia se analizó conforme a lo descrito anteriormente y la insulinemia mediante radioinmuno ensayo (RIA) con reactivo comercial (Insulin Count-a-Count, DPC, EUA) validado para bovinos con sensibilidad en el intervalo de 3 a 371  $\mu U/mL$  utilizando un gammaspectrómetro (LKB RIA GAMMA 1271, Wallac Oy, Finlandia).

**Análisis estadístico.** Los datos se analizaron con SAS versión 9.1 [38], aplicándose el Análisis de Varianza separadamente para cada período (PRE, POS y LAC); sobre los residuales se verificó la normalidad (Shapiro-Wilk) y la homocedasticidad (Bartlett) [36]. En residuales no normales o heterocedásticos se aplicaron pruebas no paramétricas de Kruskal-Wa-

llis o Wilcoxon-Mann Whitney [35]. Las variables con distribución paramétrica y homoscedásticas se analizaron mediante un modelo PROC MIXED de medidas repetidas a través de dos modelos lineales: Modelo 1 ( $y_{ijkl} = \mu + G_i + S_j + GS_{ij} + GE_{ik} + GSE_{ijk} + a_l(GE_{ik}) + e_{ijkl}$ ) para el análisis de la respuesta metabólica y productiva de ACC y MCC donde,  $y_{ijkl}$  = variable dependiente,  $\mu$  = media general,  $G_i$  = efecto del grupo  $i$ -ésimo;  $S_j$  = sem del parto  $j$ -ésimo,  $GS_{ij}$  = efecto de la interacción entre el grupo  $i$ -ésimo y la sem del parto  $j$ -ésimo,  $GE_{ik}$  = efecto de la interacción entre el grupo  $i$ -ésimo y la estación de parto  $k$ -ésimo los cuales fueron anidados al efecto del animal,  $GSE_{ijk}$  = efecto de la interacción entre el grupo  $i$ -ésimo, las sem del parto  $j$ -ésimo y la estación  $k$ -ésimo, y  $a_l(GE_{ik})$  = efecto aleatorio del  $l$ -ésimo animal anidado dentro de la interacción del  $i$ -ésimo grupo con la  $k$ -ésima estación de parto,  $e_{ijkl}$  = el error del modelo. Modelo 2 ( $y_{ijk} = \mu + G_i + M_j + GM_{ij} + a_k(G_i) + e_{ijk}$ ) para el análisis de la presentación de resistencia a insulina donde,  $y_{ijk}$  = variable dependiente,  $\mu$  = media general,  $G_i$  = efecto del grupo  $i$ -ésimo el cual fue anidado al efecto del animal;  $M_j$  = efecto del min  $j$ -ésimo pos-infusión de glucosa e insulina,  $GM_{ij}$  = efecto de la interacción entre el grupo  $i$ -ésimo y el min  $j$ -ésimo,  $a_k(G_i)$  = efecto aleatorio del  $k$ -ésimo animal anidado dentro del  $i$ -ésimo grupo,  $e_{ijk}$  = el error del modelo. Las concentraciones basales de glucosa e insulina no fueron incluidas en el modelo 2. Se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) para contrastar las diferencias en ambos modelos [34].

Para analizar la presentación de resistencia a insulina durante la PTG y PTI se calcularon la tasa de aclaramiento de la glucosa (Glu-ACL) en los primeros 60 min de la PTG y la respuesta de la glucemia estimulada por la insulina (RGEI) durante la PTI mediante las fórmulas: Glu-ACL (%/min) =  $[(\ln \text{glucosa } t_5 - \ln \text{glucosa } t_6) / (t_6 - t_5) \times 100]$  [30] y RGEI (%) =  $[(\text{glucosa } t_0 - \text{glucosa } t_30) / \text{glucosa } t_0] \times 100$  la [8, 25]. El área total bajo la curva de la glucosa ( $ABC_{Glu}$ ) en respuesta a la PTG en los primeros 120 min se calculó mediante el método trapezoidal y corregido por la concentración basal sin incluir valores negativos [25, 30]. Las diferencias entre grupos se contrastaron por la prueba de Wilcoxon-Mann Whitney ( $P \leq 0,05$ ) [35].

Para el análisis de estadística deductiva se realizaron pruebas de frecuencia a las variables de interés indicadores de presentación de BEN y cetosis en una escala dicotómica aplicando la prueba de Ji-cuadrado y test de Fisher [33] utilizando el PROC FREQ. Se realizó una regresión logística mediante PROC LOGISTIC a las variables significativas, NEFA,  $\beta$ HB e hiperglucemia, con el objetivo de determinar la razón de probabilidad (odd ratio [OR]), así como su intervalo de confianza (IC), entre esas variables y la presentación de BEN y cetosis en los distintos períodos analizados. Los valores de hiperglucemia, NEFA y  $\beta$ HB se analizaron basado en lo descrito anteriormente. Se utilizó un nivel de confianza de 95%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Indicadores productivos y sanguíneos de balance energético

**Período transición preparto.** Ambos grupos, ACC y MCC, perdieron CC (FIG. 1A) a lo largo del PRE, sin embargo, la pérdida de CC fue similar entre los grupos ( $P > 0,05$ ; TABLA I). En contraste, en otro estudio se observó mayor pérdida de CC en vacas con CC mayor a 4,0 asociada a una menor ingesta de MS durante las últimas 3 sem preparto [16]. A su vez, un 70% de las vacas del grupo ACC perdieron CC comparado a 53% del MCC. Una pérdida leve de hasta 0,5 puntos de CC [14] mejoraría la capacidad hepática cetogénica por incrementar la gluconeogénesis hepática [23], mientras que una pérdida  $> 0,75$  puntos de CC [14] produciría una excesiva movilización de lípidos, incrementando las concentraciones de NEFA en sangre y causando daño hepático por acumulo de lípidos. En el presente estudio, se identificó una pérdida leve de CC en ambos grupos durante el PRE, sin embargo fue suficiente para incrementar las concentraciones plasmáticas de NEFA a valores de riesgo ( $> 0,30$  mmol/L) para la presentación de cetosis, desplazamiento de abomaso, metritis y retención de placenta [31]. Cuando la movilización de NEFA es excesiva, los mismos serán almacenados en el hígado por falta de precursores gluconeogénicos para su oxidación [3, 6]; generando un daño hepático. En el presente estudio la lesión hepática fue evaluada mediante la actividad plasmática de la enzima hepática GMD la cual, a pesar de presentarse superior en ACC ( $P < 0,05$ ), estuvo dentro del intervalo de referencia ( $< 30$  UI/L) [27]. Complementariamente a la GMD, se evaluó la actividad plasmática de la AST, la cual se presentó dentro de su intervalo fisiológico ( $< 110$  U/L) [27] en ambos grupos, pero siendo superior en MCC ( $P < 0,05$ ); además la funcionalidad hepática fue evaluada a través de la albuminemia, la cual fue similar entre los grupos ( $P > 0,05$ ; TABLA I), indicando que no hubo daño o alteración funcional hepática en el PRE [3]. La leve pérdida de CC, tampoco alteró las concentraciones de  $\beta$ HB, las cuales se encontraron dentro del intervalo de referencia, con promedios similares entre los grupos ( $P > 0,05$ ), si bien el comportamiento de las concentraciones de  $\beta$ HB plasmático fue distinto entre ACC y MCC. Partiendo del hecho que vacas con alta CC disminuyen con mayor intensidad el consumo de MS preparto [16], consecuentemente presentan mayor movilización de lípidos, lo que fue comprobado por las mayores concentraciones de NEFA en ACC, lo que por su vez pudo haber estimulado una mayor capacidad cetogénica, justificado por el incremento del  $\beta$ HB plasmático desde dos sem anteriores hasta el parto (FIG. 1B). Esta característica propiciaría una mejor adaptación hepática preparto a las vacas ACC por estimular la gluconeogénesis [23], la cual pudo haberse reflejado en la mayor producción láctea durante las tres primeras sem posparto (TABLA II).

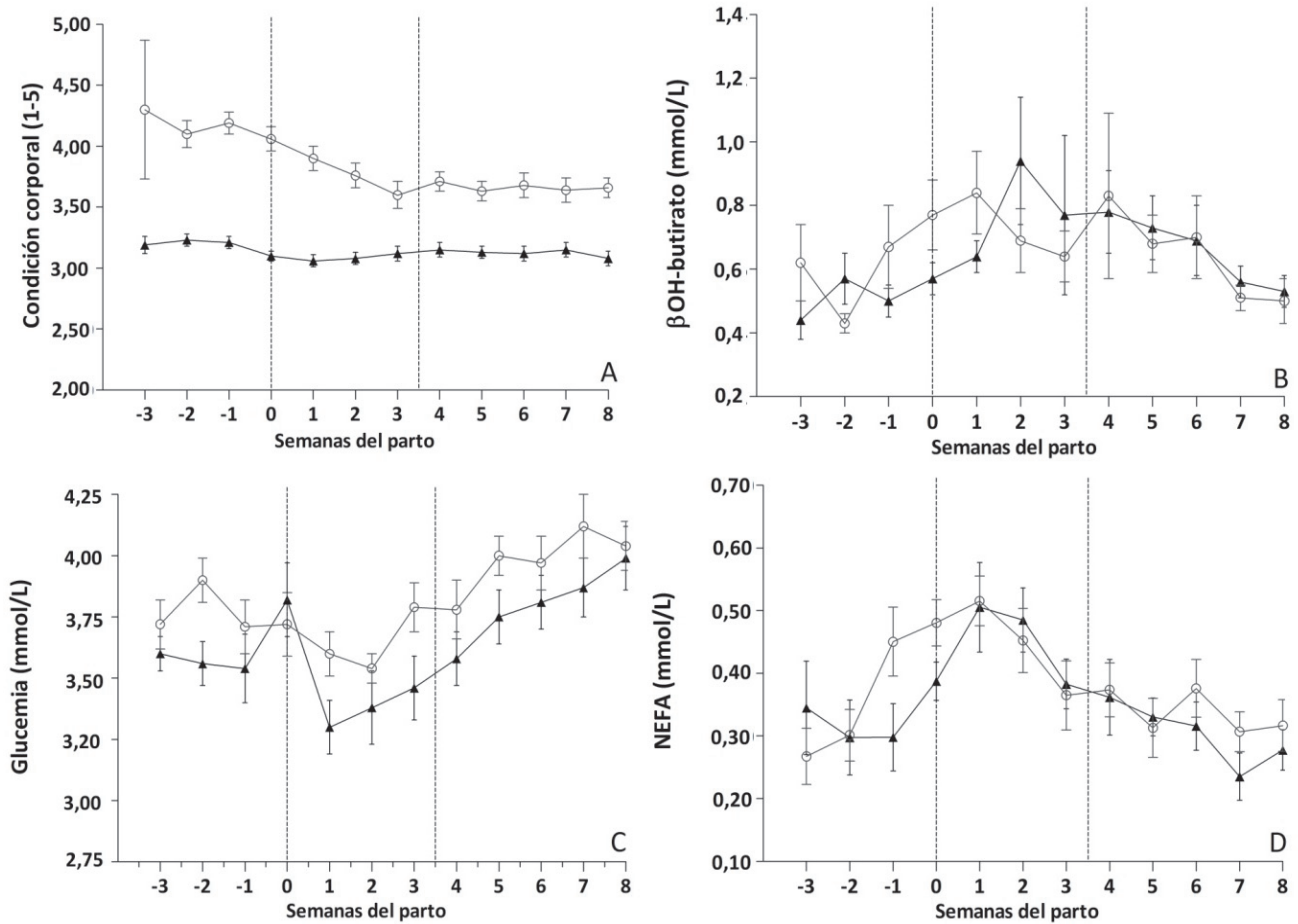


FIGURA 1. VARIACIÓN ( $\bar{x} \pm EE$ ) DE LA CONDICIÓN CORPORAL (A) Y DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE  $\beta$ HB (B), GLUCOSA (C) Y NEFA (D) DURANTE LOS PERÍODOS DE TRANSICIÓN PREPARTO, TRANSICIÓN POSPARTO Y LACTANCIA TEMPRANA EN VACAS CON MODERADA (MCC;  $\blacktriangle$ ) Y ALTA CONDICIÓN CORPORAL (ACC;  $\circ$ ) PREPARTO.

TABLA I

VALORES ( $\bar{x} \pm EE$ ) DE INDICADORES PRODUCTIVOS Y SANGUÍNEOS DE BALANCE ENERGÉTICO EN EL PERÍODO TRANSICIÓN PREPARTO DE VACAS CON MODERADA (MCC) Y ALTA (ACC) CONDICIÓN CORPORAL PREPARTO

	Transición preparto		Valor P	
	MCC	ACC	Grupo	GxS*
CC	3,21 $\pm$ 0,03	4,20 $\pm$ 0,06	<0,001	0,436
$\Delta$ CC	-0,15 $\pm$ 0,07	-0,23 $\pm$ 0,08	0,900	-
Glucosa	3,56 $\pm$ 0,06	3,78 $\pm$ 0,06	0,010	0,037
$\beta$ HB	0,51 $\pm$ 0,03	0,57 $\pm$ 0,06	0,475	0,388
NEFA	0,31 $\pm$ 0,03	0,34 $\pm$ 0,03	0,018	0,018
Colesterol	2,82 $\pm$ 0,07	2,79 $\pm$ 0,07	0,768	0,595
NEF: Col	0,11 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,023	0,006
Albúmina	36 $\pm$ 0,39	36 $\pm$ 0,31	0,886	0,96
Urea	4,70 $\pm$ 0,2	4,30 $\pm$ 0,2	0,205	0,916
AST	88 $\pm$ 2,3	82 $\pm$ 3,1	0,027	0,353
GMD	19,9 $\pm$ 1,1	22,4 $\pm$ 3,9	0,007	0,147

\* No evaluado. Condición corporal (CC): 1-5; Cambio de CC ( $\Delta$ CC): puntos de CC.. Albúmina: g L<sup>-1</sup>. Colesterol, Glucosa,  $\beta$ OH-butyrate ( $\beta$ HB), ácidos grasos no esterificados (NEFA), y NEFA:Colesterol (NEF:Col), Urea: mmol/L. Aspartato aminotransferasa (AST) y glutamato deshidrogenasa (GMD): UI/L.

TABLA II  
**VALORES ( $\bar{x} \pm EE$ ) DE INDICADORES PRODUCTIVOS Y SANGUÍNEOS DE BALANCE ENERGÉTICO EN LOS PERÍODOS TRANSICIÓN POSPARTO Y LACTANCIA TEMPRANA DE VACAS CON MODERADA (MCC) Y ALTA (ACC) CONDICIÓN CORPORAL PREPARTO**

	Transición posparto		Valor P		Lactancia temprana		Valor P	
	MCC	ACC	Grupo	GxS*	MCC	ACC	Grupo	GxS*
CC	3,09 ± 0,03	3,75 ± 0,06	<0,001	<0,001	3,12 ± 0,02	3,66 ± 0,04	<0,001	<0,001
ΔCC	0	-0,46 ± 0,06	<0,001	-	-0,04 ± 0,05	0,08 ± 0,08	0,155	-
PV	529 ± 7	569 ± 8	0,002	0,549	535 ± 6	566 ± 7	0,003	0,402
ΔPV	-9 ± 6	-24 ± 12	0,328	-	6 ± 7	5 ± 7	0,610	-
Prod. lác.	23,3 ± 0,66	24,7 ± 0,65	0,025	0,252	25,6 ± 0,47	26,2 ± 0,44	0,893	0,314
Glucosa	3,38 ± 0,07	3,64 ± 0,05	0,008	0,044	3,79 ± 0,05	3,99 ± 0,05	0,011	0,006
βHB	0,78 ± 0,1	0,72 ± 0,06	0,981	0,871	0,65 ± 0,04	0,65 ± 0,06	0,828	0,445
NEFA	0,46 ± 0,03	0,44 ± 0,03	0,682	0,193	0,30 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,097	0,197
Colesterol	2,80 ± 0,07	2,98 ± 0,12	0,441	<0,001	4,32 ± 0,10	4,80 ± 0,12	0,002	<0,001
NEF:Col	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,806	<0,001	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,609	0,040
Albúmina	35 ± 0,34	34 ± 0,34	0,509	0,589	35 ± 0,26	34 ± 0,27	0,055	0,868
Urea	4,70 ± 0,2	4,58 ± 0,2	0,193	0,252	4,78 ± 0,1	4,40 ± 0,1	0,181	0,222
AST	122 ± 4,6	109 ± 3,6	0,04	0,508	112 ± 2,8	104 ± 2,4	0,053	0,434
GMD	38,3 ± 5,2	25,6 ± 3,1	0,058	0,176	44,5 ± 5,9	44,4 ± 6,1	0,409	0,307

\* No evaluado. Condición corporal (CC): 1-5; Cambio de CC (ΔCC): puntos de CC. Cambio de PV (ΔPV): kg. Producción láctea (Prod. lác.): L d<sup>-1</sup>. Albúmina: g L<sup>-1</sup>. Colesterol, Glucosa, βOH-butirato (βHB), ácidos grasos no esterificados (NEFA), NEFA:Colesterol (NEF:Col) y Urea: mmol/L. Aspartato aminotransferasa (AST) y glutamato deshidrogenasa (GMD): UI/L.

Concomitante al incremento más marcado de las concentraciones plasmáticas de NEFA (FIG.1D), se observó una mayor glucemia en ACC (P<0,05; FIG.1C); eso sugiere un estado de RI, el cual es acompañado por un incremento de la lipólisis [8, 20]. La mayor glucemia en ACC se asocia al acumulo de mayores reservas energéticas de estos animales justificadas por su alta CC. Estudios anteriores han reportado que vacas con altas concentraciones de NEFA y bajas de colesterol presentan mayor incidencia de enfermedades en el periparto [11, 17]. El riesgo de hepatolipidosis se incrementa proporcionalmente con el incremento en la razón NEFA: colesterol [22], el cual fue superior en ACC (P<0,05). Alta NEFA:colesterol indica que existe una menor incorporación de NEFA en moléculas de lipoproteínas exportadas desde el hígado para ser utilizada como fuente de energía corpórea [22].

**Período transición posparto.** El grupo ACC mantuvo su PV y CC (FIG.1A) superiores a MCC (P<0,05; TABLA II), a su vez un 64% de las vacas ACC perdieron CC, mientras que un 95% de las MCC mantuvieron o incrementaron su CC (P<0,05), con cambios de PV similares entre los grupos (P>0,05; TABLA II). Resultados semejantes se observaron en vacas con CC al parto de 3,75 [7] y 4,0 [26], así como en vacas sobre alimentadas en el período seco, situaciones que alteran la respuesta de los tejidos a la insulina [21].

Las concentraciones plasmáticas de βHB y NEFA fueron similares entre grupos (P>0,05), divergiendo de los resultados de otro estudio [26]. Se observó que los promedios de βHB y

NEFA se incrementaron desde el PRE, alcanzando valores de cuerpos cetónicos compatibles con BEN (TABLA II). En otro estudio, vacas con concentraciones de βHB <0,6 mmol/L comparadas con las que presentaron valores ≤0,6 mmol/L en la primera semana posparto, produjeron 1,61 kg de leche a más durante las primeras tres sem de posparto [10]. Por otro lado, se sugiere que la mayor producción láctea en ACC (P<0,05) fue debido a la glucemia superior de este grupo hasta la 2<sup>da</sup> sem posparto (P<0,05; FIG.1C); altas concentraciones de glucosa, se asociarían a una menor captación tisular de la misma, sustituida por NEFA como fuente energética en tejidos insulino-sensibles. Esta característica incrementaría la RI de los tejidos periféricos resultando en mayor flujo de glucosa hacia la glándula mamaria, la cual no necesita insulina para captar la glucosa [1].

Las concentraciones plasmáticas de colesterol, albúmina, urea y NEFA:colesterol se encontraron dentro del intervalo de referencia y fueron similares entre los grupos (P>0,05; TABLA II). Por otro lado, la actividad de AST, presentó valores mayores en MCC (P<0,05) y sobre el intervalo de referencia; sin embargo, el grupo MCC presentó valores de actividad plasmática de GMD similar a ACC (P>0,05), y por encima del intervalo de referencia [27]. En la 1<sup>ra</sup> sem posparto se observó un incremento de AST en ambos grupos (P<0,05) y de GMD en MCC (P<0,05), lo que fue acompañado por el incremento en las concentraciones plasmáticas de NEFA (FIG.1D), compatible con una hepatolipidosis [23].

**Período lactancia temprana.** Los cambios de CC (FIG.1A) y PV, así como las concentraciones plasmáticas de NEFA,  $\beta$ HB, albúmina y urea fueron similares entre los grupos ( $P>0,05$ ; TABLA II). Si bien las concentraciones promedio de  $\beta$ HB indicaron un BEN ( $>0,6$  mmol/L) (TABLA II), disminuyeron a lo largo del período (FIG.1B); resultado que asociado al incremento de la glucemia (FIG.1C) y colesterolemia, y la reducción de las concentraciones de NEFA (FIG.1D) del POS al LAC y a lo largo de este último, indicó una mejora en el balance energético en ambos grupos. Las mayores concentraciones de glucosa y colesterol en ACC ( $P<0,05$ ) indicaron un mejor restablecimiento del balance energético en ese grupo, el cual pudo haberse dado por un incremento en el consumo de MS reflejado en las concentraciones de colesterol como su indicador [22]. En contraste, vacas lecheras con cetosis o desplazamiento de abomaso a la izquierda presentaron bajas apoproteínas sanguíneas asociadas con estructuras de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), sugiriendo una inhabilidad para exportar triacilgliceroles desde el hígado [29].

Si bien la producción láctea fue similar entre los grupos ( $P>0,05$ ), MCC aumentó  $2,3$  L  $d^{-1}$ , mientras que ACC incrementó  $1,5$  L  $d^{-1}$ . Similar al observado en otro estudio [10], se sugiere una adaptación hepática tardía en MCC, visto que durante las primeras tres sem posparto, las vacas MCC produjeron menos leche que las ACC. Al empezar la movilización lipídica en el preparto (NEFA superior en ACC), las vacas del grupo ACC iniciaron la adaptación hepática a la cetogénesis anteriormente a las vacas MCC; eso pudo haberse reflejado en el período posparto temprano al producir mayores cantidades de leche. Sin embargo, MCC pudo igualarse a la producción de ACC durante la lactancia temprana, manteniéndose similares hasta la octava sem de producción.

La actividad plasmática de GMD y AST fueron similares entre grupos ( $P>0,05$ ; TABLA II); por otro lado, la activi-

dad de GMD se encontró sobre el intervalo de referencia en ambos grupos, indicando que el daño hepático producido durante el período de transición posparto persistió en la lactancia temprana y fue independiente de la CC de las vacas en el preparto.

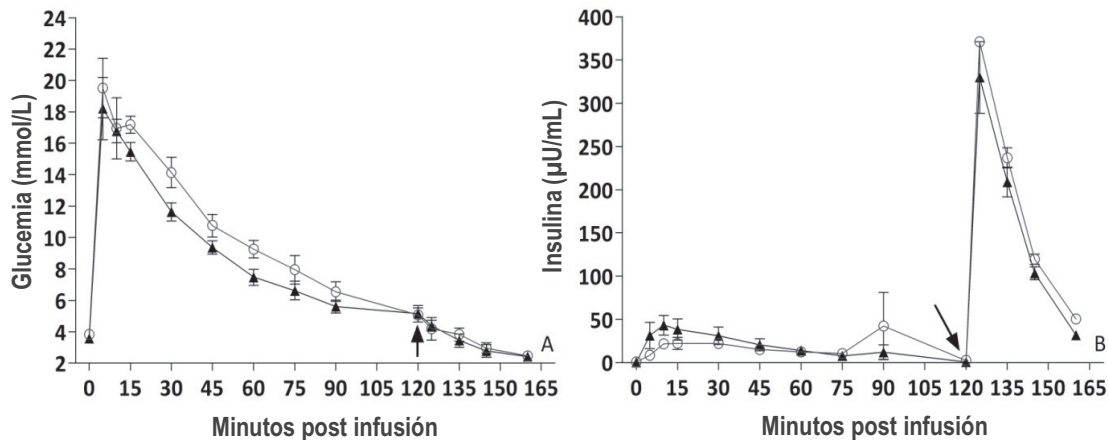
**Presentación de resistencia a insulina.** Las concentraciones basales de glucosa e insulina se encontraron dentro del intervalo de referencia y fueron similares entre los grupos ( $P>0,05$ ; TABLA III), así como las concentraciones medias de glucosa e insulina durante la prueba de tolerancia ( $P>0,05$ ). A su vez, ACC presentó glucemia superior a MCC a los 10; 30 y 60 min ( $P<0,05$ ; FIG. 2A) y de insulina a los 135 y 160 min ( $P<0,05$ ; FIG.2B), indicando una menor captación de glucosa estimulada por la insulina en ACC, compatible con un estado de RI [25]. Sin embargo, el Glu-ACL y RGEI fueron similares entre los grupos ( $P>0,05$ ), lo que contrasta al observado en otro estudio en donde vacas con alta CC al parto disminuyeron las tasas de aclaramiento de la glucosa después de una PTG, sugiriendo que ellas presentaron más RI que vacas con moderada o baja CC [18]. Las bajas tasas de Glu-ACL caracterizan un estado de diabetes como consecuencia de la disminución de la tolerancia a la glucosa [23]; vacas con diabetes espontánea presentaron una Glu-ACL de  $38\%$   $min^{-1}$  [24], este resultado comparado con los valores de referencia de  $1,98\%$   $min^{-1}$  indicó que, tanto MCC como ACC presentaron reducido Glu-ACL y RI.

**Presentación de BEN, cetosis y sus factores de riesgo.** La presentación de BEN y cetosis tipo I y II fue similar entre los grupos en todos los períodos ( $P>0,05$ ; TABLA IV) demostrando que en el presente estudio la CC preparto no fue el factor determinante para la presentación de BEN y cetosis lo anterior difiere de lo demostrado en otro estudio [14], en donde vacas que llegaron al parto con una CC entre 4,0-4,25, o  $\geq 4,5$ , presentaron, respectivamente, 2,3 y 2,8 veces más riesgo de cetosis que vacas que parieron con CC entre 3,0 – 3,25

TABLA III  
**CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS ( $\bar{x} \pm EE$ ) DE GLUCOSA E INSULINA BASALES Y DURANTE LA PTG Y PTI, Y VALORES ( $\bar{x} \pm EE$ ) DEL  $ABC_{Glu}$ , Glu-ACL Y RGEI EN VACAS CON MODERADA (MCC) Y ALTA (ACC) CONDICIÓN CORPORAL PREPARTO**

	Grupos		Grupo	Valor P
	MCC	ACC		
Glucosa Basal (mmol/L)	3,58 $\pm$ 0,31	3,83 $\pm$ 0,19	0,474	-
Insulina Basal ( $\mu$ U/mL)	0,61 $\pm$ 0,61	0,75 $\pm$ 0,75	0,889	-
Glucosa PTG (mmol/L)	10,7 $\pm$ 0,59	12,1 $\pm$ 0,65	0,130	0,523
Insulina PTG ( $\mu$ U/mL)	21 $\pm$ 3,30	13 $\pm$ 4,55	0,358	0,246
Glucosa PTI (mmol/L)	3,26 $\pm$ 0,22	3,45 $\pm$ 0,21	0,601	0,739
Insulina PTI ( $\mu$ U/mL)	115 $\pm$ 15,5	136 $\pm$ 15,7	0,216	0,759
$ABC_{Glu}$ (mmol/min)	663 $\pm$ 78,8	759 $\pm$ 60,7	0,347	-
Glu-ACL (%/min)	1,69 $\pm$ 0,09	1,54 $\pm$ 0,15	0,409	-
RGEI (%)	46 $\pm$ 4,5	41 $\pm$ 4,9	0,448	-

<sup>ns</sup> Valor no significativo al 5% de probabilidad. PTG: Prueba de tolerancia a la glucosa endovenosa. PTI: Prueba de tolerancia a la insulina endovenosa.  $ABC_{Glu}$ : Area total bajo la curva de la glucosa al minuto 120. Glu-ACL: Aclaramiento de la glucosa hasta el minuto 60. RGEI: Respuesta de la glucemia estimulada por la insulina durante la PTI.



**FIGURA 2. VARIACIÓN ( $\bar{x} \pm EE$ ) DE LA GLUCEMIA (A) E INSULINEMIA (B) POS-INFUSIÓN DE GLUCOSA (MINUTO 0) E INSULINA (MINUTO 120; ↓) EN VACAS CON MODERADA (MCC; ▲) Y ALTA CONDICIÓN CORPORAL (ACC; ○) PREPARTO.**

**TABLA IV**

**PORCENTAJE DE PRESENTACIÓN DE BALANCE ENERGÉTICO NEGATIVO (BEN), CETOSIS TIPO I (Cet I) Y CETOSIS TIPO II ASOCIADA A LA RESISTENCIA A INSULINA (Cet II) EN VACAS LECHERAS A PASTOREO CON MODERADA Y ALTA CONDICIÓN CORPORAL PREPARTO**

	Transición preparto		Valor P Grupo	Transición posparto		Valor P Grupo	Lactancia temprana		Valor P Grupo
	MCC	ACC		MCC	ACC		MCC	ACC	
BEN	50,0	53,5	0,807	80,0	71,5	0,499	85,0	85,7	0,944
Cet I	20,0	14,3	0,600	35,0	25,0	0,452	30,0	43,0	0,364
Cet II	35,0	25,0	0,452	10,0	18,0	0,447	10,0	3,6	0,364

(escala de 1-5). A su vez, vacas con NEFA plasmático superior a 0,40 mmol/L en el preparto incrementaron 7,9 veces (IC= 1,2-51,4) la presentación de hiperglucemia durante el período transición preparto, y 6,4 veces (IC= 1,0-51,4) en el posparto. Se describe que vacas con concentraciones plasmáticas de NEFA superiores a 0,70 mmol/L en el período de transición incrementaron 1,85 veces la presentación de enfermedades en el periparto [39]. Por otro lado, las vacas con hiperglucemia preparto, independiente de su condición corporal preparto, incrementaron 9,4 veces (IC= 1,8-49,5) la presentación de valores de NEFA superiores a 0,70 mmol/L en el postparto, lo que podría aumentar la presentación de cetosis tipo II y RI [5, 30].

Vacas que presentaron concentraciones de NEFA preparto superiores a 0,40 y 0,50 mmol/L, independiente de la CC, mostraron un menor Glu-ACL ( $P < 0,05$ ) y una mayor  $ABC_{Glu}$  ( $P < 0,05$ ) en el posparto, respectivamente. De eso se desprende que la RI está asociada a la movilización de NEFA y a la disminución de la captación de la glucosa por los tejidos periféricos, incrementando consecuentemente la glucemia [4,8].

**CONCLUSIONES**

Se concluye que vacas a pastoreo con alta CC preparto presentan un balance energético, presentación de cetosis y resistencia insulínica similar a vacas con moderada CC. Vacas con altas concentraciones plasmáticas de NEFA en el período de

transición preparto presentan mayor de riesgo de hiperglucemia y RI durante el período de transición pre y posparto.

**AGRADECIMIENTO**

Al Consorcio lechero por financiar al proyecto FIA-CS-C-2004-1-P-002 M2P6.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

[1] BAUMAN, D.E. Regulation of nutrient partitioning during lactation: Homeostasis and homeorhesis. In: Cronjé, P.B., (Ed). **Ruminant physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction**, CAB International: Wallingford. Pp 311-328. 2000.

[2] BELL, A.W.; BAUMAN, D.E. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy during pregnancy and lactation. **J. Mammary Gland Biol.** 265-278. 1997.

[3] BOBE, G.; YOUNG, J.W.; BEITZ, D.C. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 87: 3105-3124. 2004.

[4] BOBOWIEC, R.; KIERSKA, M.; KOSIOR-KORZECKA, U. Insulin sensitivity in high-producing lactating cows. **Medycyna Wet.** 67: 181-185. 2011.



- [5] BOSSAERT, P.; LEROY, J.L.; DE CAMPENEERE, S.; DE VliegHER, S.; OPSOMER, G. Differences in the glucose-induced insulin response and the peripheral insulin responsiveness between neonatal calves of the Belgian Blue, Holstein-Friesian, and East Flemish breeds. **J. Dairy Sci.** 92: 4404-4411. 2009.
- [6] BRUSS, M.L. Lipids and Ketones. In: Kaneko, J.J.; Harvey, J.W., Bruss, M.L., (Eds). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, Academic Press San Diego, California. Pp 81-115. 2008.
- [7] BUTLER, W.R.; SMITH, R.D. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 767-783. 1989.
- [8] CHAGAS, L.M.; LUCY, M.C.; BACK, P.J.; BLACHE, D.; LEE, J.M.; GORE, P.J.S.; SHEAHAN, A.J.; ROCHE, J.R. Insulin resistance in divergent strains of Holstein-Friesian dairy cows offered fresh pasture and increasing amounts of concentrate in early lactation. **J. Dairy Sci.** 92: 216-222. 2009.
- [9] CUCUNUBO, L.G.; STRIEDER-BARBOZA, C.; WITTWER, F.; NORO, M. Diagnóstico de cetosis subclínica y balance energético negativo en vacas lecheras mediante el uso de muestras de sangre, orina y leche. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XXIII (2): 111-119. 2013.
- [10] DUFFIELD, T.F.; LISSEMORE, K.D.; MCBRIDE, B.W.; LESLIE, K.E. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **J. Dairy Sci.** 92: 571-580. 2009.
- [11] DYK, P.B.; EMERY, R.S.; LIESMAN, J.L.; BUCHOLTZ, H.F.; VANDEHAAR, M.J. Prepartum non-esterified fatty acids in plasma are higher in cows developing periparturient health problems. **J. Dairy Sci.** 78: 264. 1995.
- [12] ETHERTON, T.D.; WIGGINS, J.P.; CHUNG, C.S.; EVOCK, C.M.; REBHUN, J.F.; WALTON, P.E. Stimulation of pig growth performance by porcine growth hormone and growth hormone-releasing factor. **J. Anim. Sci.** 63: 1389-1399. 1986.
- [13] FERGUSON, J.D.; GALLIGAN, D.T.; THOMSEN, N. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. **J. Dairy Sci.** 77: 2695-2703. 1994.
- [14] GILLUND, P.; REKSEN, O.; GROHN, Y.T.; KARLBERG, K. Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows. **J. Dairy Sci.** 84: 1390-1396. 2001.
- [15] GOOGLE EARTH. Mapa de Chile. En línea: <http://www.googleearth.co0m.br>. 8 febrero 2013.
- [16] HAYIRLI, A.; GRUMMER, R.R.; NORDHEIM, E.V.; CRUMP, P.M. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. **J. Dairy Sci.** 85: 3430-3443. 2002.
- [17] HOLTENIUS, P.; HJORT, M. Studies on the pathogenesis of fatty liver in cows. **Bov. Pract.** 25: 91. 1990.
- [18] HOLTENIUS, P.; HOLTENIUS, K. A model to estimate insulin sensitivity in dairy cows. **Acta Vet. Scand.** 49: 29-29. 2007.
- [19] HOLTENIUS, P.; HOLTENIUS, K. New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: a review. **Zentralbl. Veterinarmed A.** 43: 579-587. 1996.
- [20] JANOVICK, N.A.; BOISCLAIR, Y.R.; DRACKLEY, J.K. Prepartum dietary energy intake affects metabolism and health during the periparturient period in primiparous and multiparous Holstein cows. **J. Dairy Sci.** 94: 1385-1400. 2011.
- [21] JANOVICK, N.A.; DRACKLEY, J.K. Prepartum dietary management of energy intake affects postpartum intake and lactation performance by primiparous and multiparous Holstein cows. **J. Dairy Sci.** 93: 3086-3102. 2010.
- [22] KANEENE, J.B.; MILLER, R.; HERDT, T.H.; GARDINER, J.C. The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows. **Prev. Vet. Med.** 31: 59-72. 1997.
- [23] KANEKO, J.J. Carbohydrate metabolism and its diseases. In: Kaneko, J.J.; Harvey, J.W., Bruss, M.L., (Eds). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, Academic Press: San Diego, California. Pp 46-80. 2008.
- [24] KANEKO, J.J.; RHODE, E.A. Diabetes mellitus in a cow. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 144: 367-373. 1964.
- [25] KERESTES, M.; FAIGL, V.; KULCSAR, M.; BALOGH, O.; FOLDI, J.; FEBEL, H.; CHILLIARD, Y.; HUSZENICZA, G. Periparturient insulin secretion and whole-body insulin responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. **Dom. Anim. Endocrinol.** 37: 250-261. 2009.
- [26] LAGO, E.P.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; FARIA, V.P.; LAGO, L.A. Efeito da condição corporal ao parto sobre alguns parâmetros do metabolismo energético, produção de leite e incidência de doenças no pós-parto de vacas leiteiras. **Rev. Bras. Zoot.** 30: 1544-1549. 2001.
- [27] NORO, M.; CID, P.; WAGEMANN, C.; ARNÉS, V.; WITTWER, F. Valoración diagnóstica de enzimas hepáticas en perfiles bioquímicos sanguíneos de vacas lecheras. **Rev. MVZ Córdoba.** 18: 3474-3479. 2013.
- [28] OETZEL, G.R. Herd-level ketosis- Diagnosis and risk factors. **40th Annual Conference American Association of Bovine Practitioners.** Vancouver, British Columbia, 09/20-22. Canada. Pp 67-91. 2007.
- [29] OIKAWA, S.; KATOH, N.; KAWAWA, F.; ONO, Y. Decreased serum apolipoprotein B-100 and AI concentra-

- tions in cows with ketosis and left displacement of the abomasum. **Am. J. Vet. Res.** 58: 121-125. 1997.
- [30] OIKAWA, S.; OETZEL, G.R. Decreased insulin response in dairy cows following a four-day fast to induce hepatic lipidosis. **J. Dairy Sci.** 89: 2999-3005. 2006.
- [31] OSPINA, P.A.; NYDAM, D.V.; STOKOL, T.; OVERTON, T.R. Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. **J. Dairy Sci.** 93: 1596-1603. 2010.
- [32] OSPINA, P.A.; NYDAM, D.V.; STOKOL, T.; OVERTON, T.R. Evaluation of nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **J. Dairy Sci.** 93: 546-554. 2010.
- [33] PETRIE, A.; WATSON, P. The Chi-squared test comparing proportions. In: Petrie, A., Watson, P., (Eds). **Statistics for Veterinary and Animal Science**, Wiley-Blackwell: Oxford. Pp 107-120. 2006.
- [34] PETRIE, A.; WATSON, P. An introduction to hypothesis testing. In: Petrie, A., Watson, P., (Eds). **Statistics for Veterinary and Animal Science**, Wiley-Blackwell: Oxford. Pp 73-82. 2006.
- [35] PETRIE, A.; WATSON, P. Non-parametric statistic methods. In: Petrie, A., Watson, P., (Eds). **Statistics for Veterinary and Animal Science**, Wiley-Blackwell: Oxford. Pp 158-173. 2006.
- [36] PETRIE, A.; WATSON, P. Probability and probability distributions. In: Petrie, A., Watson, P. (Eds). **Statistics for Veterinary and Animal Science**, Wiley-Blackwell: Oxford. Pp 28-44. 2006.
- [37] ROCHE, J.R.; FRIGGENS, N.C.; KAY, J.K.; FISHER, M.W.; STAFFORD, K.J.; BERRY, D.P. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **J. Dairy Sci.** 92: 5769-5801. 2009.
- [38] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). SAS and STAT User's Guide. Version 9.2. 2009.
- [39] VAN SAUN, R.J. Metabolic profiling and health risk in transition cows. Proceedings **37th Annual American Association of Bovine Practitioners Convention**. Worth, Texas. 09/23-25. USA. Pp 212-213. 2004.
- [40] ZACHUT, M.; HONIG, H.; STRIEM, S.; ZICK, Y.; BOURA-HALFON, S.; MOALLEM, U. Periparturient dairy cows do not exhibit hepatic insulin resistance, yet adipose-specific insulin resistance occurs in cows prone to high weight loss. **J. Dairy Sci.** 96:5656-5669. 2013.