

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**“EVALUACIÓN DE ESTIMULANTES ESPECÍFICOS DE LOS PPAR ALFA  
COMO ALTERNATIVA TERAPÉUTICA DEL HÍGADO GRASO EN LA  
TOXEMIA DE LA GESTACIÓN OVINA SUBCLÍNICA”**

**Por:**

Br. Javier FERNÁNDEZ.

TESIS DE GRADO presentada como uno  
de los requisitos para obtener el título de  
Doctor en Ciencias Veterinaria  
Orientación: Medicina veterinaria

MODALIDAD: Ensayo Experimental

MONTEVIDEO

URUGUAY  
2012

**PAGINA DE APROBACIÓN:**

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

-----  
Dr. Luis Cal

Segundo miembro (Tutor):

-----  
Dr. Alejandro Benech

Tercer miembro:

-----  
Dr. Luis Rosés

Cuarto miembro (co-tutor):

-----  
Dra. Stella Da Silva

Fecha:

21/12/2012

Autor:

-----  
Br. Javier Fernández

## **AGRADECIMIENTOS:**

A mi madre (Martha Afonso) y a mi hermana (Dra. Andrea Fernández) les agradezco esto, y les dedico todo lo bueno que hice o puedo llegar a hacer en esta vida.

A mi padre Luis Fernández por todo lo que me transmitió para mi formación como persona.

A mi tío Américo Afonso y a Juan Arín y sus respectivas familias, por el continuo apoyo a lo largo de toda la carrera.

A mi tutor el Dr. Alejandro Benech y a mi co-tutora Dr. Stella Da Silva por plantearme el tema para la tesis y haberme ayudado y acompañado en la realización de la misma (con mucha paciencia) desde el primer día.

Al Dr. Luis Cal que siempre estuvo para apagar dudas que se plantearon y para auxiliarme con todo tipo de material para la realización de la parte práctica y teórica del proyecto.

Al personal de hemeroteca.

A Silvia Gallo y Sofía Soler por traducción del resumen.

A mis grandes amigos.

Al laboratorio Fatro por suministrar el Hepagen®.

A la Facultad de veterinaria UdelaR.

## TABLA DE CONTENIDO:

Página de aprobación.....	2
Agradecimientos.....	3
Tabla de contenido.....	4
Lista de cuadros y figuras.....	5
Resumen.....	6
Summary.....	7
Introducción.....	8
Revisión bibliográfica.....	9
Objetivos.....	13
Hipótesis.....	13
Materiales y métodos.....	14
Resultados.....	17
Discusión.....	21
Conclusiones.....	24
Bibliografía.....	25

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS:

Figura N°1	Principales vías metabólicas que participan en el ciclo de Krebs	11
Figura N°2	Evolución de pesos en los cuatro grupos experimentales	17
Figura N°3	Evolución de la glicemia en los cuatro grupos experimentales	18
Figura N°4	Evolución del $\beta$ hidroxibutirato (BOHB) en los cuatro grupos experimentales	19
Figura N°5	Evolución de la ASAT en los cuatro grupos experimentales	20

## RESUMEN:

La toxemia de la gestación es un trastorno metabólico que afecta a las ovejas preñadas durante el último tercio de la gestación como consecuencia de la incapacidad del organismo para mantener la homeostasis energética al enfrentarse a un período de máximo requerimiento energético. Está caracterizada por hipoglicemia, hipercetonemia y un aumento de los ácidos grasos libres en sangre. Uno de los órganos más implicados durante este período es el hígado, ya que al incrementar los requerimientos de energía se presenta una extensa movilización de ácidos grasos que dan como resultado un hígado graso. Se ha demostrado que los ácidos grasos participan en la regulación metabólica principalmente a través de la interacción de los receptores activados por Proliferadores Peroxisomales (PPARs) El ácido-2-metil-2-fenoxi-propiónico, es un fibrato estimulante específico de los PPAR $\alpha$ , actuando de la misma manera que los ligantes naturales. Este se une a los PPAR $\alpha$  interactuando en la regulación de genes implicados en el metabolismo lipídico y glucídico al promover la beta oxidación mitocondrial y peroxisomal y la neoglucogénesis (NG) hepática.

El objetivo de la Tesis fue ensayar distintas alternativas terapéuticas en ovejas con Toxemia de la gestación sub clínica, evaluando el tratamiento más eficaz para revertir el hígado graso. En este contexto, un segundo objetivo fue evaluar la eficacia del ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (estimulante de los PPAR $\alpha$ ) en la prevención y tratamiento de la Toxemia de la Gestación ovina subclínica.

Se seleccionaron 48 ovejas gestando un solo feto, las que fueron divididas aleatoriamente en cuatro grupos de 12 ovejas cada uno (H90, H+A, H, y C). A partir del día 130 de gestación todas las ovejas fueron encerradas para un ayuno total de forraje hasta que la glicemia alcanzó valores considerados de riesgo ( $28,62 \pm 4,33$  mg/dl), los cuales permiten diagnosticar la Toxemia de la gestación subclínica. En este momento se retiraron del ayuno y se aplicaron diferentes tratamientos para cada grupo. Grupo C: glicerol-propilenglicol, grupo H: ácido-2-metil-2-fenoxi-propiónico, grupo H+A: ácido-2-metil-2-fenoxi-propiónico más glicerol-propilenglicol, y grupo H90: tratamiento preventivo con ácido-2-metil-2-fenoxi-propiónico semanalmente desde el día 90 hasta el día 130 de gestación. Se midieron valores de peso, glicemia, aspartato aminotransferasa (ASAT), y  $\beta$  hidroxibutirato (BOHB). Se concluye que el ácido-2-metil-2-fenoxi-propiónico puede ser utilizado eficazmente para el tratamiento curativo y preventivo de la toxemia de la preñez subclínica.

## SUMMARY:

Gestational Toxemia is a metabolic disorder that affects pregnant ewes during the last third of gestation as a result of the incapacity of the body to maintain energetic homeostasis when faced a period of maximum energy requirement. It is characterized by hypoglycemia, hyperketonemia and an increase in free fatty acids in blood. The liver is one of the organs involved during this period since by increasing the power requirements presents an extensive fatty acids mobilization resulting in fatty liver. It has been shown that fatty acids are involved in metabolic regulation mainly through the interaction of the peroxisome proliferator activated receptors (PPARs). 2-methyl-2-phenoxy-propionic acid is a PPAR alpha specific stimulant fibrate acting in the same way that the natural binders. This binds to the PPAR alpha interacting in the regulation of genes involved in lipid and glucidic metabolism promoting the mitochondrial and peroxisomal beta-oxidation and hepatic gluconeogenesis (NG). The objective of this thesis was to test different therapeutic alternatives in sheep affected with sub clinic Gestational Toxemia evaluating the most effective treatment to reverse fatty liver. Therefore, a second objective was to evaluate the efficacy of acid-2-methyl-2-phenoxy-propionic acid (PPAR alpha stimulant) for the prevention and treatment of subclinical Gestational Toxemia in sheep. We selected 48 sheep gestating a single fetus, which were randomly divided into four groups of 12 ewes each (H90, H + A, H, and C). Starting on day 130 of gestation all ewes were locked for a forage total fasting until glycemia reached risky values ( $28.62 \pm 4.33$  mg / dl), which allow diagnosing subclinic Gestational Toxemia. We apply different treatments for each group. Group C: glycerol propylene glycol; Group H: 2-methyl-2-phenoxy-propionic acid; Group H+ A: 2-methyl-2-phenoxy-propionic added acid-propylene glycol and glycerol, and Group H90: preventive treatment with 2-methyl-2-phenoxy-propionic acid weekly from day 90 until day 130 of gestation. We measured weight values: glycemia; aspartate aminotransferase (AST), and  $\beta$ -hydroxy butyrate (BOHB). It is concluded that 2-methyl-2-phenoxy-propionic acid can be effectively used for the curative and preventive treatment of subclinical Gestational Toxemia.

## **INTRODUCCIÓN:**

La producción ovina ha sido a lo largo de la historia del Uruguay muy importante desde el punto de vista económico y social (Salgado, 2012). Su crianza ha tenido múltiples oscilaciones ya sea por el valor de la lana, o en estos últimos años principalmente por el auge del valor de la carne donde Uruguay representa el 2% de la oferta exportadora a nivel mundial (Salgado, 2012).

Frente al desafío de una producción que cada día debe ser más eficiente nos enfrentamos a problemas sanitarios, de manejo y nutricionales que pueden conspirar contra nuestros intereses. Uno de los pilares de la producción es tener una majada de cría importante (Robles y Olaechea, 2001), es por esto que todos los factores que vayan en su decremento pueden producir un caos en el establecimiento.

La toxemia de la preñez es una de las principales causas de muerte de ovejas gestadas en el Uruguay (Cal Pereyra, 2007), además de dejar secuelas como el hígado graso en múltiples animales que la cursaron de forma subclínica. Es por esto que el estudio de su tratamiento y profilaxis ha sido muy importante para todos los veterinarios que desarrollen su actividad profesional con esta especie.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA:

La toxemia de la gestación es un trastorno metabólico que afecta a las ovejas preñadas durante el último tercio de la gestación, especialmente en las últimas seis semanas como consecuencia de la incapacidad del organismo para mantener la homeostasis energética al enfrentarse a un período de máximo requerimiento energético (Harmeyer y Schlumbohm, 2006). Está caracterizada por hipoglicemia, hipercetonemia y un aumento de los ácidos grasos libres en sangre (Mazur y col, 2009). La hipoglicemia es la responsable de los principales signos clínicos, los valores menores de 20mg/dl de glucosa en sangre producen una encefalopatía con lesiones cerebrales irreversibles que explican los síntomas nerviosos (González Montaña y col, 2003). Aunque el comienzo de la enfermedad clínica es brusco, es probable que la enfermedad ya estaba evolucionando en forma subclínica (Bonino y col, 1987). Esto explica el porqué es fundamental instaurar un tratamiento lo antes posible antes de que las lesiones neuronales se hagan irreversibles (Bonino y col, 1987; González Montaña y col, 1995).

Los factores que predisponen a la oveja a sufrir la enfermedad los podemos dividir en tres fundamentalmente: estresantes, nutricionales e inherentes al animal (González y Rejas, 1995). Dentro de los nutricionales el más lógico es la subnutrición en el último tercio de la gestación que conduce a un balance energético negativo, pero también la sobre alimentación en los primeros meses de gestación puede disminuir la capacidad ruminal por depósito de grasa en abdomen y con esto disminuir la ingesta sumado a la presión física del útero sobre todo el aparato digestivo (Rook, 2000). Los factores estresantes pueden predisponer a la enfermedad por varios mecanismos, aumentan el gasto de energía y disminuyen el consumo (Rook, 2000). Dentro de los factores inherentes al animal que predispone a la toxemia de la gestación seguramente el más importante sea la gestación múltiple por el gasto de energía y el tamaño del útero comprimiendo el aparato digestivo, aunque en Uruguay con inviernos rigurosos con poca alimentación se puede dar con gestaciones simples (Bonino y col, 1987). También influyen negativamente la edad avanzada, la mala dentición, problemas podales que le impidan el normal traslado, problemas hepáticos como parásitos (fasciolosis o quiste hidático) o cualquier otra enfermedad que cause insuficiencia hepática. (González y Rejas, 1995).

Las diferencias entre el consumo y los requerimientos de energía libre para el mantenimiento y producción es determinante para el equilibrio energético (Campos y col, 2004). El crecimiento del feto, placenta, útero y líquido amniótico requieren energía adicional. En las ovejas el aumento de peso del feto es pequeño durante los primeros meses de la gestación, incrementándose bruscamente en los últimos 60 días lo que evidentemente aumentará la demanda fetal de glucosa, necesitando en esta época alrededor de 32 gramos por día (Robinson, 1996).

Las gestaciones múltiples aumentan considerablemente esta demanda de energía (Harmeyer y Schlumbohm, 2006; Rook, 2000). Los principales precursores de la neoglucogénesis (NG) son el ácido propiónico, los aminoácidos glucoformadores, el lactato y el glicerol (García Partida, 1976). La importancia de los distintos precursores se modifica cuando el animal está en ayuno o la alimentación es insuficiente. Los aportes de propionato y en menor medida de lactato se ven reducidos, ya que ambos provienen de la

alimentación. Los aminoácidos también provienen de la alimentación, pero en caso de ayuno el animal puede disponer hasta cierto punto de sus proteínas. El glicerol adquiere así mayor importancia, ya que el animal incrementa su lipólisis; de esta manera el glicerol de origen endógeno y el propionato de origen exógeno tienden a sustituirse mutuamente como precursores de la NG, según el estado nutricional y energético del animal (Ndibualonji y Godeau, 1993; Bergman y col, 1966). En el hígado el glicerol es transformado en alfa glicero fosfato ( $\alpha$ GP) y puede servir para la NG o para la re síntesis de triacilglicéridos (TAG) (esterificación) (Cirio y Tebot, 2000; Chilliard, 1987). Como resultado de esta nueva situación metabólica los rumiantes normalmente tienen una elevación de cuerpos cetónicos y una moderada disminución de la glicemia (Herdt y Emery, 1992). Los distintos cuerpos cetónicos son el ácido acetoacético, el ácido beta hidroxibutirato (BOHB), la acetona, y en menores cantidades el isopropanol (Diez Prieto y col, 1998). En ovejas en ayuno el 80% de los cuerpos cetónicos es BOHB (Brockman y Laarveld, 1985).

Uno de los órganos más implicados durante este período es el hígado, ya que al incrementar los requerimientos de energía se presenta una extensa movilización de ácidos grasos que dan como resultado un hígado graso (Farina R, 2007). Las enzimas requeridas para la beta oxidación de los ácidos grasos están presentes en los peroxisomas y en las mitocondrias, degradándose un 25% en los peroxisomas y el resto en las mitocondrias (Wierzbicki, 2007; Latruffe y col, 2001). La etiopatogenia del hígado graso se asocia con una alteración en la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos en la mitocondria de los hepatocitos (Bellot y Palazón, 2008). Esta alteración en el hígado hace que aumenten las enzimas indicadoras de daño hepático como ASAT, alanino amino transferasa (ALT) y gamma glutamiltransferasa (GGT) (Yarim y col, 2009). La ASAT ha demostrado ser un indicador fiable y precoz de daño hepático clínico en ovejas con esta patología (Cal, y col, 2009). El hígado regula la glicemia y el aporte de glucosa a las células, ya que prácticamente es el único órgano donde se realiza la NG; este órgano funciona entonces como un adaptador entre el balance energético negativo y el aporte de glucosa a las células. Cuando la movilización de ácidos grasos sobrepasa la capacidad del hígado de oxidarlos, y estando disminuido el oxalacetato por falta de glucosa y propionato, se produce un excedente de acetil CoA que es una importante fuente de cuerpos cetónicos (Cirio y Tebot, 2000). La figura N° 1 muestra las principales vías metabólicas que participan en el ciclo de Krebs y cómo se modifican en caso de hipoglicemia, con el consecuente aumento de la producción de cuerpos cetónicos.

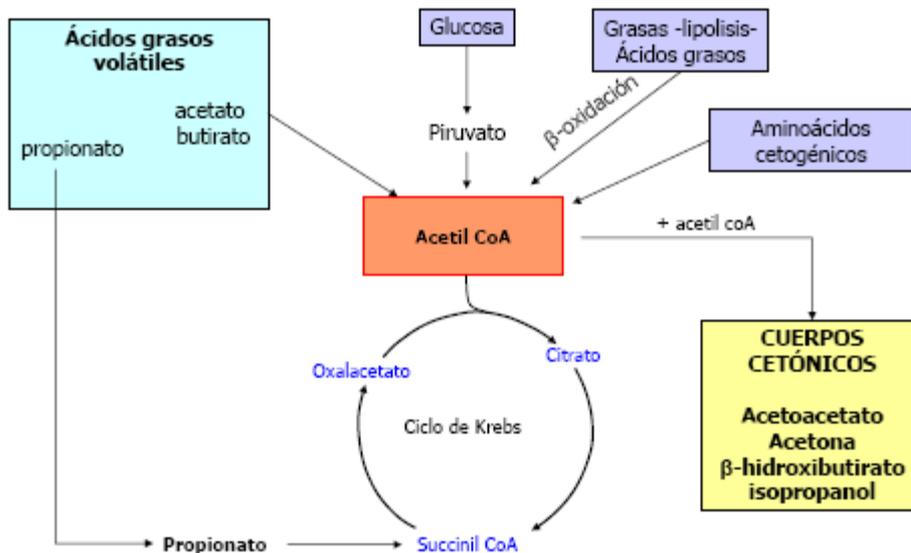


Figura 1: Principales vías de ingreso al ciclo de Krebs, donde se observa que si ocurre una hipoglucemia aumenta la producción de cuerpos cetónicos (extraído de tesis doctoral Dr. Cal Pereyra, 2007).

Se ha demostrado que los ácidos grasos participan en la regulación metabólica principalmente a través de la interacción con los receptores activados por Proliferadores Peroxisomales (PPARs) (De Brito Gomes, 2006). Los PPAR son un grupo de proteínas pertenecientes a la familia de receptores de ubicación nuclear que se comportan como factores que modulan la transcripción del DNA al unirse a elementos de respuesta específicos de ciertos genes blanco (Parra y Mejía, 2001). Hasta el momento se han descrito tres tipos principales de PPAR designados como alfa, delta, y gama (Parra y Mejía, 2001). Los PPAR $\alpha$  participan tanto en el catabolismo de los ácidos grasos como en el transporte extracelular de lípidos. Los PPAR $\alpha$  se expresan en forma mayoritaria en tejidos con alto contenido en mitocondrias, y donde se produce  $\beta$ -oxidación peroxisomal como en el hígado (principalmente), músculo esquelético, corazón, riñón, grasa parda y adrenales, están implicados en el control de la expresión de genes de que codifican proteínas y enzimas claves en el metabolismo lipídico, especialmente en los ácidos grasos (Parra y Mejía, 2001). Los fibratos (derivados del ácido fibríco), sus agonistas, tienen utilidad ampliamente demostrada en el manejo de algunas dis-lipidemias (Parra y Mejía, 2001). Los fibratos son hipolipemiantes, actúan fundamentalmente reduciendo los triglicéridos y en consecuencia las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Koda y col, 2006), lo hacen aumentando la acción de la lipoproteína lipasa periférica que facilita la entrada de triglicéridos procedentes de los quilomicrones y VLDL en los tejidos diana (Page y col, 1998). Estos receptores tienen efectos pleiotrópicos sobre el metabolismo de lípidos intra y extracelularmente y en la homeostasis de la glucosa, es más, recientemente este grupo de receptores ha emergido desde su papel limitado en el metabolismo a una función más amplia en el control transcripcional de numerosos procesos celulares, con implicaciones en el control del ciclo celular ,

la carcinogénesis, la inflamación, la aterosclerosis y la inmunomodulación (Parra y Mejía, 2001). Los ligandos endógenos de PPAR $\alpha$  son ácidos grasos o derivados metabólicos de estos, mientras que los ligandos exógenos son principalmente los fibratos hipolipimiantes (clofibrato, gemfibrozilo, etc) (Parra y Mejía, 2001). La actividad transcripcional de PPAR $\alpha$  en el tejido hepático es la causante de los efectos lipídicos de los fibratos (Ros y Laguna, 2006).

El ácido-2-metil-2-fenoxi-propiónico, es un fibrato estimulante específico de los PPAR $\alpha$ , actuando de la misma manera que los ligantes naturales. Este se une a los PPAR $\alpha$  interactuando en la regulación de genes implicados en el metabolismo lipídico y glucídico al promover la beta oxidación mitocondrial y peroxisomal y la NG hepática (SchutzeSegen, 2008).

## **OBJETIVOS**

Objetivo General:

Evaluar la eficacia del ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (estimulante de los PPAR alfa) en la prevención y tratamiento de la Toxemia de la Gestación ovina subclínica.

Objetivos Específicos:

- 1) Ensayar tres tratamientos en base a ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico con el fin de determinar el más eficaz para prevenir y/o revertir el hígado graso en ovejas con Toxemia de la gestación subclínica.
- 2) Demostrar la relación existente entre la respuesta al tratamiento del hígado graso con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico y la normalización de la homeostasis energética a través de la evaluación de parámetros del metabolismo energético.

## **HIPÓTESIS:**

Las ovejas tratadas con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico, tanto en forma preventiva como luego de desencadenada la toxemia de la gestación subclínica normalizarán los parámetros metabólicos, minimizando el daño hepático.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

El ensayo experimental se llevó a cabo en el Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria (Libertad) y fue avalado previamente por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA). Se trabajó con ovejas adultas, de raza Corriedale, multíparas de la majada de cría, las cuales se sincronizaron con esponjas intravaginales conteniendo 60 mg de medroxiprogesterona (Sincrovin<sup>®</sup>, Santa Elena) durante 12 días (Romano y col, 1996). Una vez retiradas las esponjas se realizó el servicio por monta natural usando 3 carneros provistos con arneses marcadores, controlándose las montas durante cuatro días. Se registró el día de la monta como el día cero (0) de la gestación. Entre los días 50 y 70 tras retirar los carneros se realizó el diagnóstico de gestación por ultrasonografía (Buckrell, 1988), descartándose del protocolo las ovejas vacías y las portadoras de dos o más fetos, seleccionando de esta forma 48 ovejas gestando un solo feto, las que fueron divididas aleatoriamente en cuatro (4) grupos de 12 ovejas cada uno (H90, H+A, H, y C).

Posteriormente a la cubrición, todos los animales pasaron a alimentarse en un potrero con pastura natural. A partir del día 130 de gestación todas las ovejas fueron encerradas en corrales techados y con piso de hormigón. Durante el encierro se sometieron a un ayuno total de forraje hasta que la glicemia alcanzo valores considerados de riesgo ( $28,62 \pm 4,33$  mg/dl), los cuales permiten diagnosticar la Toxemia de la gestación subclínica (Cal Pereyra, 2007). Todos los animales tuvieron agua ad libitum. A partir de este momento se retiraron del ayuno y pasaron a alimentarse en el potrero con pastura natural. A los grupos C, H, H+A, y H90 se les aplicó el siguiente protocolo de tratamiento:

Grupo H (n=12): 10 mg/kg de ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Hepagen<sup>®</sup>, Fatro) i/m cada 24 horas por un período de 5 días.

Grupo H+A (n=12): 10 mg/kg de ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Hepagen<sup>®</sup>, Fatro) i/m cada 24 más 100 ml de glicerol-propilenglicol (Acetolena<sup>®</sup>, Santa Elena) vía oral cada 12 horas por un período 5 días.

Al grupo H90 (n=12): se le aplico el siguiente tratamiento: 10 mg/kg de ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Hepagen<sup>®</sup>, Fatro) i/m una vez por semana a partir del día 90 de la gestación (comienzo del último tercio) y hasta el día 130 de la gestación (comienzo del ayuno). Tras retirarlas del ayuno no recibieron tratamiento.

Grupo C(n=12): (grupo control), 100 ml de glicerol-propilenglicol (Acetolena<sup>®</sup>, Santa Elena) vía oral cada 12 horas por un período de 5 días.

Este grupo será considerado grupo control teniendo en cuenta que el tratamiento con glicerol-propilenglicol constituye uno de los tratamientos de mayor difusión para la Toxemia de la gestación en Uruguay (Bonino y col, 1987), así como en otros países (Rook, 2000; Marteniuk y Herdt, 1988; Wierda y col, 1985; Koenig y Contreras, 1984). Los resultados de este tratamiento

muestran una respuesta de un 50 % en relación a la normalización de los parámetros metabólicos en animales con Toxemia de la gestación clínica (Cal Pereyra, 2007; Koenig y Contreras, 1984).

## **Determinaciones**

### **Peso vivo de las ovejas**

Se registraron los pesos vivos de todas las ovejas utilizando una balanza digital para ovinos con una sensibilidad de 0,1 kg, a los 90 y 130 días de gestación, al inicio y finalización de los tratamientos (grupos H, H90, H+A, y C) y 5 días tras el parto (todos los grupos).

### **Determinaciones en sangre de las ovejas**

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena yugular con jeringas de 10 ml y agujas 18G. Todas las ovejas fueron sangradas a los 90 y 130 días de gestación, al inicio y finalización de los tratamientos (grupos H, H90, H+A, y C) y 5 días tras el parto (todos los grupos), para determinar la actividad sérica de la aspartato aminotransferasa (ASAT). Por otro lado, durante el encierro (desde el día 130 de la gestación), todas las ovejas se sangraron diariamente hasta que la glicemia alcanzó los valores de riesgo ( $28,62 \pm 4,33$  mg/dl). La obtención de muestras sanguíneas se continuó diariamente para determinar  $\beta$ -hidroxibutirato (BOHB), y glicemia hasta finalizar los tratamientos. La sangre para determinación de glicemia se colectó en tubos con fluoruro de sodio y EDTA, mientras que para las demás determinaciones se colectó en tubos secos. Las determinaciones de ASAT fueron realizadas dentro de las doce horas posteriores a la obtención de los sueros y las muestras para determinar glicemia y BOHB se almacenaron congeladas a  $-20^{\circ}$  C en tubos Eppendorf debidamente rotulados e identificados hasta su procesamiento.

## **Análisis de las muestras**

### **Análisis de las muestras de sangre**

Las muestras de glicemia, BOHB y ASAT se procesaron en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria.

La glicemia se determinó por un método enzimático colorimétrico, utilizando para ello los Kits comerciales GlucoseLiquicolor® (Human). Se midió la absorbancia a 500 nm, a una temperatura de  $37^{\circ}$  C, en un colorímetro digital HUMALYSER Junior.

El BOHB se determinó por un método enzimático colorimétrico, utilizando para ello los Kits comerciales Ranbut® (RandoxLaboratories Ltd.). La lectura fue

realizada a 330 nm, a una temperatura de 37 ° C, en un colorímetro digital HUMALYSER Junior.

La actividad sérica de la ASAT se determinó por un método cinético enzimático, utilizando para ello los Kits comerciales GOT (ASAT)® (Human). Se midió la absorbancia a 340 nm, a una temperatura de 37 ° C, en un colorímetro digital HUMALYSER Junior.

#### Análisis estadístico

La significación de las diferencias entre los grupos en el peso vivo, en la actividad sérica de la ASAT y en los niveles séricos de glicemia y BHOB, se evaluaron mediante ANOVA de una vía, de efecto fijo ( $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + E_{ij}$ ), seguido de Tukey. De la misma forma se analizó la evolución de las mismas variables dentro de cada grupo independientemente, comparando cada muestreo realizado con el del día 130 de gestación.

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa STATISTICA 6.0. Se consideraron diferencias significativas cuando  $\alpha < 0.05$ .

## RESULTADOS

El peso promedio de los cuatro grupos al comenzar el ayuno (130 días de gestación) fue de  $73,8 \pm 8,1$  Kg;  $70,6 \pm 12,6$  Kg;  $73,01 \pm 7,02$  Kg y  $71,06 \pm 11,1$  Kg para los grupos C, H, H90 y H+A respectivamente, no registrándose diferencias significativas entre los grupos (figura2). El peso de los animales cayó durante el ayuno, registrándose  $70,3 \pm 4,8$  Kg en el grupo C,  $69,4 \pm 11,8$  Kg en el grupo H,  $68,9 \pm 4,4$  Kg, en el grupo H 90 y  $68,6 \pm 12,2$  Kg en el grupo H+A. Sin embargo este descenso no fue significativo dentro de cada grupo ni entre los diferentes grupos. Luego de los 5 días de tratamiento el peso mostró una recuperación aunque sin diferencias significativas con respecto al registro del final del ayuno. Este leve aumento del peso ocurrió en 3 grupos (C, H y H 90), pero no en el grupo H+A, sin embargo la diferencia entre los grupos no fue estadísticamente significativa.

### REGISTRO DEL PESO EN DIFERENTES MOMENTOS

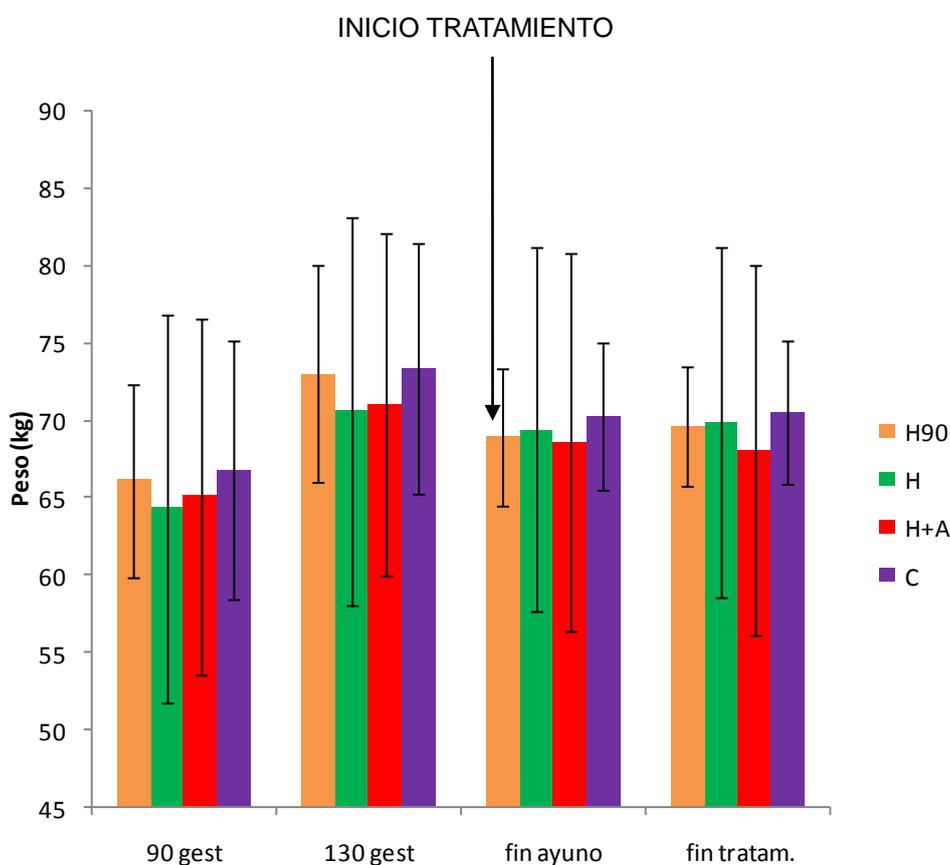


Figura 2: Evolución del peso en los cuatro grupos experimentales registrado el día 90 y 130 de gestación, al finalizar el ayuno y al finalizar el tratamiento (5 días). Valores en Kg  $\pm$  DS.

Al comenzar el ayuno, la glicemia registrada en los diferentes grupos fue de  $62,2 \pm 11,5$  mg/dl;  $59,6 \pm 12,4$  mg/dl;  $68,3 \pm 23,9$  mg/dl;  $63,1 \pm 14,3$  mg/dl para los grupos H90, H+A, H, y C respectivamente, no mostrándose diferencias estadísticas entre los grupos. En la figura 3, se observa la evolución de la glicemia de los cuatro grupos experimentales, donde se registra que los animales se retiraron del ayuno con un valor de glicemia de  $34,5 \pm 4,4$  mg/dl,  $32,2 \pm 4,9$  mg/dl,  $37,0 \pm 10,8$  mg/dl, y  $33,7 \pm 5,4$  mg/dl para los grupos H90, H+A, H, y C respectivamente.

A las 24 h de comenzados los tratamientos, todos los grupos registraron una recuperación en los valores de glicemia, siendo que el grupo H90 mostró el valor más bajo ( $62,4 \pm 9,9$  mg/dl) y el grupo C mostró el valor más alto ( $83,3 \pm 17,4$  mg/dl), encontrándose diferencia significativa entre ambos ( $p < 0,05$ ) (figura3). Después de este día no se presentaron diferencias significativas entre los grupos. Al terminar los diferentes tratamientos encontramos que las glicemias estaban en  $65,7 \pm 10,9$  mg/dl,  $61,7 \pm 13,4$  mg/dl,  $59,8 \pm 13,6$  mg/dl, y  $62,7 \pm 11,5$  mg/dl para los grupos H90, H+A, H, y C respectivamente.

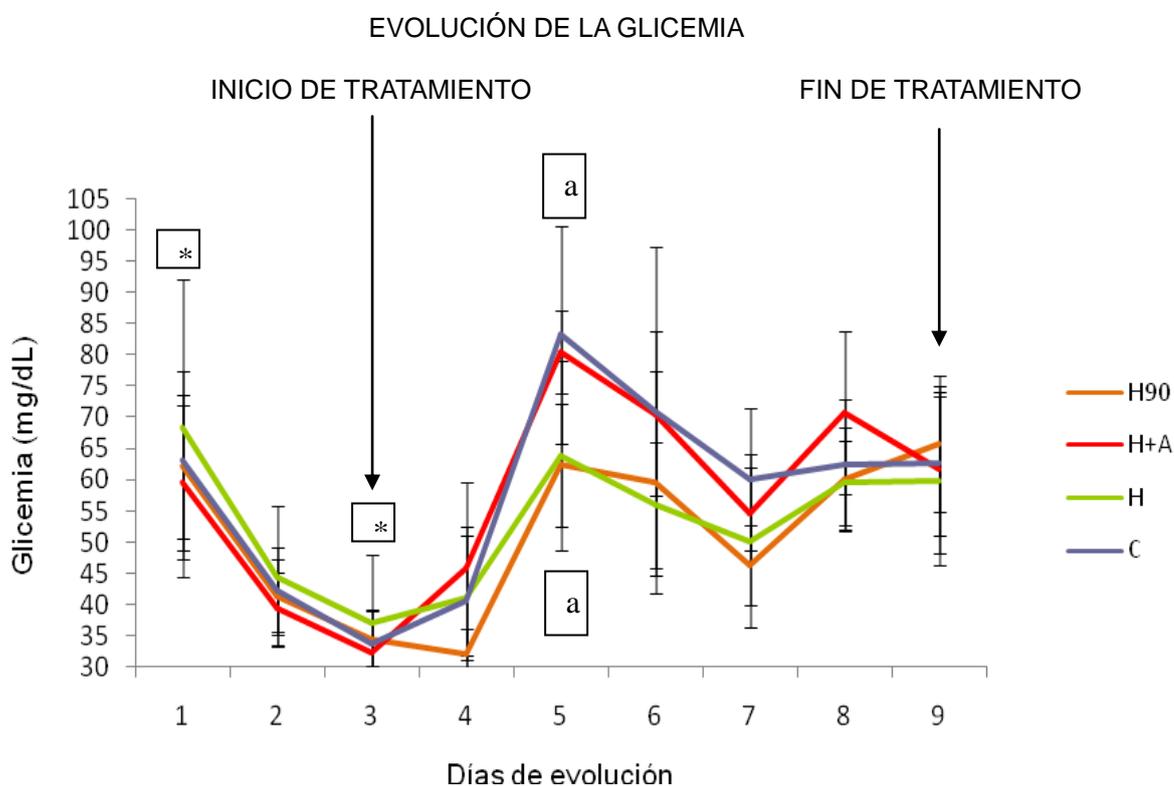


Figura 3: Evolución de la glicemia en las diferentes etapas del experimento.

\*  $P < 0,05$ ; a  $p < 0,05$ .

Al comienzo del ayuno, los valores de  $\beta$  hidroxibutirato fueron de  $0,4 \pm 0,1$  mmol/L para el grupo H90, H, y H+A, y  $0,4 \pm 0,2$  para el grupo C, no habiendo diferencias entre ellos. Estos valores aumentaron significativamente ( $p < 0,01$ )

en todos los grupos luego de tres días de ayuno, siendo sus valores de  $2,94 \pm 1,3$  mmol/L,  $2,84 \pm 1,03$  mmol/L,  $2,43 \pm 0,96$  mmol/L y  $2,3 \pm 0,6$  mmol/L en los grupos H90, H+A, H y C respectivamente (figura4).

Al tercer día de tratamiento los valores de BOHB fueron de  $2,01 \pm 0,8$  mmol/L;  $0,6 \pm 0,3$  mmol/L;  $2,1 \pm 1,4$  mmol/L; y  $0,6 \pm 0,3$  mmol/L para los grupos H90, H+A, H y C respectivamente, encontrándose diferencia significativa ( $p < 0,01$ ) entre los grupos H con H+A y C y entre el grupo H90 con H+A y C. Estas diferencias se mantuvieron hasta el último día de tratamiento, cuando los cuatro grupos registraron valores similares ( $1,3 \pm 2,1$  mmol/L,  $1,1 \pm 0,3$  mmol/L,  $1,8 \pm 2,03$  mmol/L y  $0,7 \pm 0,3$  mmol/L para los grupos H90, H+A, H y C respectivamente).

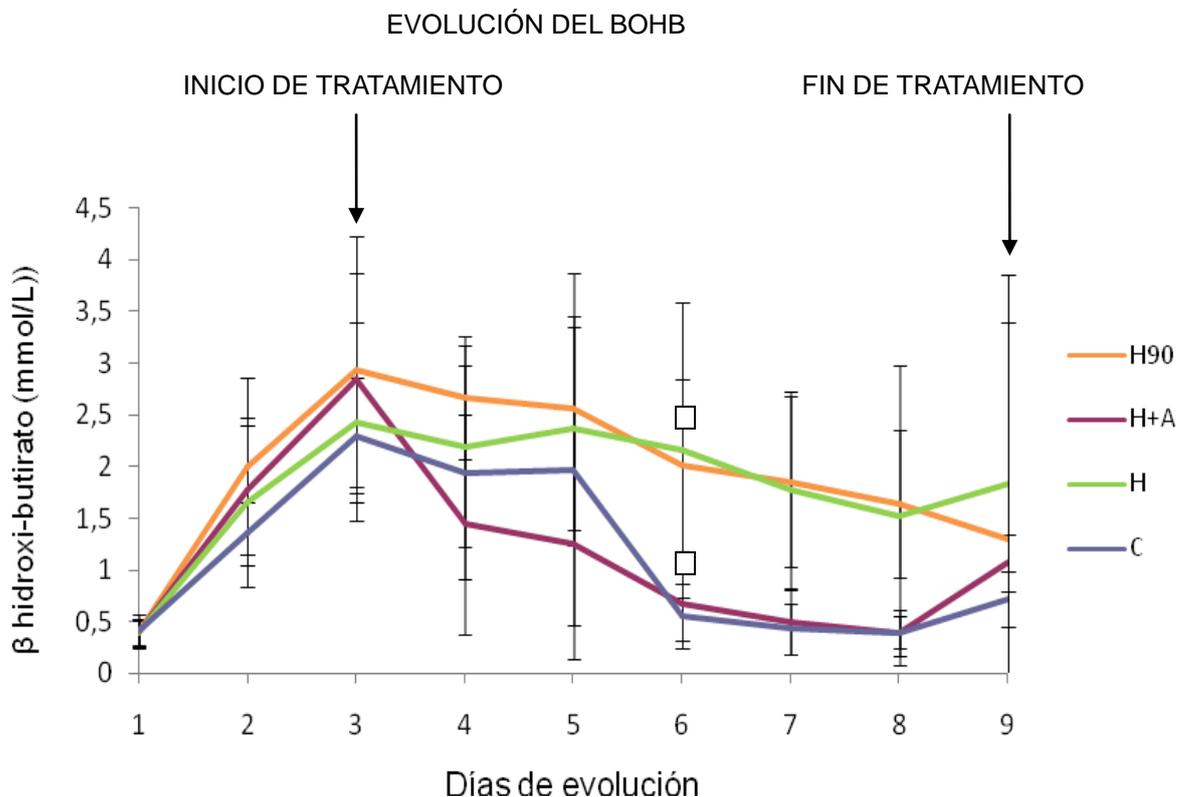


Figura 4: Evolución de los niveles sanguíneos de  $\beta$  hidroxibutirato (BOHB) en los cuatro grupos experimentales. Valores en media  $\pm$  DS.

□  $p < 0,01$

Al día 90 de gestación, los valores de ASAT fueron de  $185,8 \pm 73,4$  ui/L ;  $225,1 \pm 47,6$  ui/L ;  $234,9 \pm 62,9$  ui/L ; y  $190,5 \pm 69,8$  ui/L , para los grupos H90, H+A, H, y C respectivamente (figura 5), no registrándose diferencias significativas entre los grupos.

Al día 130 de gestación, los valores de esta enzima fueron de  $151 \pm 46,0$  ui/L para H90,  $126,3 \pm 44,9$  ui/L para H+A,  $157,7 \pm 46,1$  ui/L para H, y  $130,7 \pm 36,1$  ui/L para C, siendo que tampoco se registraron diferencia entre los grupos.

En todos los grupos se registró un aumento en los valores de ASAT entre el final del ayuno y el final del tratamiento, no presentando diferencias significativas entre ellos (figura 5).

### EVOLUCIÓN DE ASAT

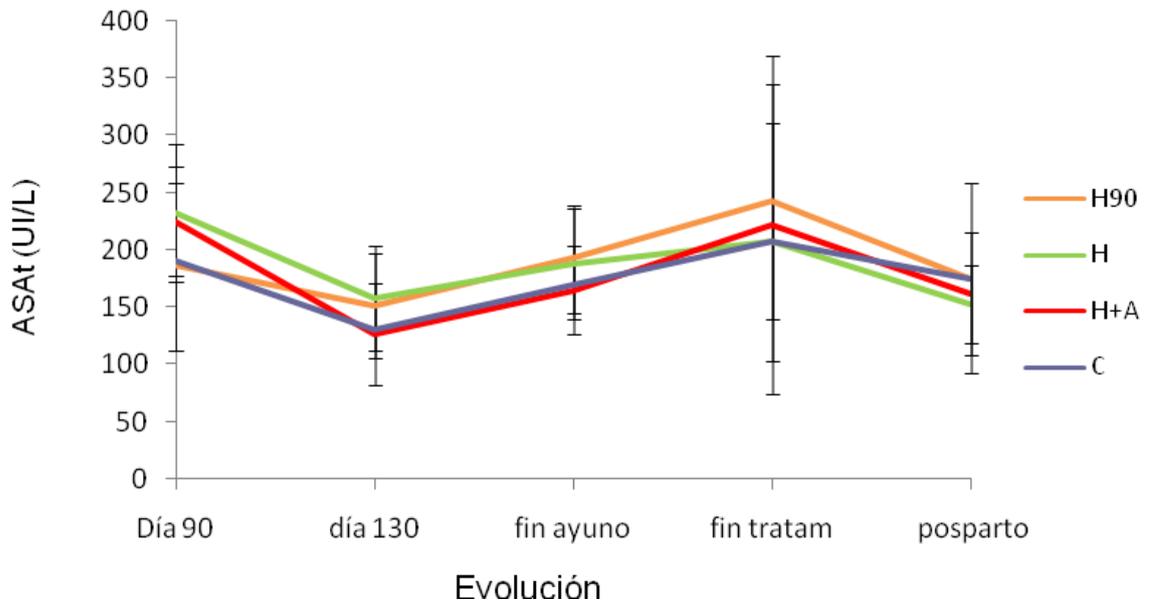


Figura 5: Evolución de aspartato amino transferasa (ASAT) en sangre  $\pm$  DS en ui/L.

## DISCUSIÓN

Los datos obtenidos en este ensayo indican que las ovejas utilizadas en este trabajo, las cuales fueron alimentadas exclusivamente a campo natural durante la gestación, mostraron una condición de nutrición normal. Según lo propuesto por Rusell (1984), las concentraciones de BOHB han demostrado ser un buen indicador de la subnutrición en ovinos en condiciones extensivas. Teniendo en cuenta éste indicador, y apoyándonos en la clasificación propuesta por Rusell y col (1977), observamos que las ovejas pertenecientes a los cuatro grupos experimentales mostraron en el día 130 de la gestación valores de nutrición normales (H90= BOHB  $0,39 \pm 0,14$ , H= BOHB  $0,39 \pm 0,12$ , H+A BOHB  $0,38 \pm 0,13$  y C BOHB  $0,41 \pm 0,15$  mmol/L). Rusell y col (1977) estimaron según los valores de BOHB el grado de subnutrición, y establecieron en base a los mismos las siguientes categorías: valor normal de nutrición, BOHB  $< 0,71$  mmol/l; subnutrición moderada, BOHB  $< 1,1$  mmol/l y subnutrición severa, BOHB  $> 1,6$  mmol/l.

La alimentación suministrada a las ovejas les permitió llegar al día 130 de la gestación con un peso acorde para ovejas gestadas de la raza Corriedale, el cual fue similar a pesos obtenidos por Cal (2007) ( $54,75 \pm 7,5$  Kg) y Cal y col (2009) ( $54,8 \pm 6,6$  kg), para hembras de la misma raza al mismo momento de la gestación. Sin embargo como era de esperar el ayuno se vio reflejado en una caída del peso vivo (2,82 kilos de promedio) en las ovejas de los cuatro grupos. West (1996) encontró que ovejas gestando mellizos y sometidas a ayuno al día 132 de la gestación, habían perdido 6,4 kilos, atribuyéndolo también al ayuno. La movilización de grasa y de aminoácidos de las masas musculares durante el período de déficit energético sería una de las causas de la pérdida de peso corporal como lo sugirió Contreras (1998), a lo que se debería agregar el vaciamiento ruminal. Según Borrelli (2001) si la demanda energética del animal es superior a la energía ingerida, éste moviliza y consume sus reservas grasas, lo que conduce a una pérdida de peso corporal. Asimismo como consecuencia del importante crecimiento fetal en las últimas semanas de gestación la oveja experimenta un aumento de sus necesidades nutritivas, y especialmente de energía, lo que obliga a ésta a aumentar el consumo de nutrientes, a incrementar la eficiencia de utilización de esos nutrientes por los tejidos e incluso a movilizar, si es preciso, sus reservas corporales (Gibbons 1996).

Los valores de glicemia de las ovejas de los cuatro grupos experimentales al día 130 de la gestación (H90=  $62,2 \pm 11,5$ , H+A=  $59,6 \pm 12,4$ , H=  $68,3 \pm 23,9$  y C=  $63,1 \pm 14,3$  mg/dl) se encontraron entre los valores admitidos como normales para ovejas alimentadas al final de la gestación. Contreras y col (1990) encontraron que la glicemia de ovejas gestando un solo feto fue de  $61,08 \pm 9,1$  mg/dl. Cal (2007) indicaron que ovejas gestando un solo cordero al día 130 de la gestación tenían una glicemia de  $57,4 \pm 8,9$  mg/dl, en tanto que Sigurdsson (1988) reportó un valor promedio de glicemia de  $51,82 \pm 10,14$  mg/dl en ovejas gestando uno o dos corderos al día 130 de la gestación.

La supresión de la alimentación provocada por el ayuno desencadenó una pronunciada caída de la glicemia en las ovejas de los cuatro grupos experimentales. Este descenso de la glicemia a consecuencia del ayuno también fue comunicado por Cal (2007), West (1996) y Sigurdsson (1988).

El balance entre ingreso y egreso de glucosa sería el elemento clave que explicaría la importante y rápida disminución de la glicemia en las ovejas sometidas a ayuno. El incremento de las demandas de nutrientes de la unidad materno-fetal, especialmente de glucosa, en las últimas semanas de la gestación, tal como proponen Rook (2000), Gibbons (1996) y Herdt y Emery (1992) explicaría la disminución de los valores de glicemia en las ovejas sometidas a ayuno. Este incremento de los requerimientos al final de la gestación esta causado por el hecho de que cerca del 85 % del crecimiento fetal ocurre durante las últimas 6 semanas de la gestación, lo que aumenta el drenaje fetal de glucosa (Rook, 2000; Robinson, 1996 y Russel, 1984).

En nuestras condiciones experimentales el ayuno provocó un rápido ascenso de los valores de BOHB, mostrando diferencias significativas en todos los grupos a las 72 horas de iniciado el ayuno. Cal (2007) demostró un aumento significativo de este cuerpo cetónico a las 48 horas de comenzado el ayuno. West (1996) observó asimismo un aumento del BOHB en ovejas sometidas a ayuno, sin embargo este autor no comunica a partir de qué momento se produce el ascenso continuado de los cuerpos cetónicos.

Teniendo en cuenta los valores medios observados en los dos indicadores metabólicos al momento de retirar las ovejas del ayuno (glicemia: H90=  $34,5 \pm 4,4$ , H+A=  $32,2 \pm 4,9$ , H= $37,0 \pm 10,8$  y C=  $33,7 \pm 5,4$  mg/dl); BOHB: H90=  $2,94 \pm 1,3$ , H+A=  $2,84 \pm 1,03$ , H= $2,43 \pm 0,96$  y C=  $2,3 \pm 0,6$  mmol/L) y sin que se observaran síntomas clínicos, podemos asumir que estos animales previo al comienzo de los tratamientos, se encontraban en una Toxemia de la gestación subclínica (Cal, 2007 ; Duffield, 2000).

Al valorar los resultados obtenidos en este trabajo se observa que una vez iniciado los tratamientos la glicemia comenzó a aumentar en los cuatro grupos experimentales. Sin embargo en las ovejas tratadas con glicerol-propilenglicol (grupos C y H+A), este ascenso fue más importante que en las ovejas tratadas con el ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico únicamente (grupos H y H90). Esta diferencia se puede explicar si tenemos en cuenta los diferentes mecanismos por los cuales estos tratamientos logran un aumento de la glicemia. El propilenglicol, el cual es absorbido en su mayoría intacto directamente desde el rumen a una tasa de 40 % por hora (Herdt y Emery, 1992; Emery y col, 1967) y alcanza su nivel máximo en sangre dentro de los 30 minutos de su administración, logra su máxima conversión en glucosa sanguínea alrededor de las 4 horas después de su administración. La transformación de propilenglicol a glucosa probablemente ocurre vía conversión a piruvato (Herdt y Emery, 1992), en tanto el glicerol es degradado lentamente en el rumen produciendo una elevada proporción de propionato, principal precursor de la glucosa vía NG, dando como resultado una elevación de la glicemia por un período relativamente prolongado (Bonino y col, 1987; Hunt, 1976). El ácido 2-metil-2-fenoxi-propiónico, es un fibrato estimulante específico de los PPAR $\alpha$ , que actúa de la misma manera que los ligantes naturales. Este se une a los PPAR $\alpha$  interactuando en la regulación de genes implicados en el metabolismo glucídico al promover la NG hepática, activando enzimas específicas de esta (Schütze-Segen, 2008). A partir de las 48 horas de iniciados los tratamientos los valores de la glucosa sanguínea de los cuatro grupos fueron similares, independientemente del tratamiento utilizado.

Los resultados de este experimento muestran que si bien el BOHB sanguíneo descendió en los cuatro grupos experimentales una vez aplicados los

tratamientos, este descenso fue más pronunciado en las ovejas tratadas con glicerol-propilenglicol (grupos C y H+A) observándose además que en estos animales el BOHB se mantuvo significativamente más bajo hasta el último día de aplicado los tratamientos. Resultados similares fueron reportados por Cal (2007), quien trató a las ovejas con Toxemia subclínica con este producto. Herdt y Emery (1992) sostienen que la meta en el tratamiento de la cetosis es restablecer la concentración normal de glucosa y cuerpos cetónicos en sangre, lo cual se puede lograr actuando conjuntamente en el metabolismo de los carbohidratos y en el de los ácidos grasos y de esa manera se logra aumentar la glicemia y disminuir los cuerpos cetónicos en sangre. El propilenglicol incrementa la concentración del piruvato con la subsecuente producción de oxalacetato vía piruvato carboxilasa (Emery y col, 1967). El incremento de oxalacetato disponible produce un incremento de la concentración de citrato intramitocondrial. Cuando la concentración de citrato se incrementa escapa hacia el citosol y forma malonil-CoA, un potente supresor del transporte de ácidos grasos dentro de las mitocondrias (Aiello y col, 1984). Esta reducción de la entrada de ácidos grasos dentro de las mitocondrias hepáticas tiene como consecuencia la disminución de la cetogénesis hepática. Adicionalmente el incremento en el suministro de glucosa proporcionado por el tratamiento con glicerol-propilenglicol incrementa la relación insulina:glucagón y esto afecta adicionalmente la disminución de la cetogénesis (Herdt y Emery, 1992). Los PPAR alfa participan tanto en el catabolismo de los ácidos grasos como en el transporte extracelular de lípidos. El ácido 2 metil-2-fenoxi-propiónico al unirse a los PPAR alfa promueve la regulación de genes implicados en el metabolismo lipídico al promover la beta oxidación mitocondrial y peroxisomal (SchutzeSegen, 2008), de esta manera se podría provocar un leve aumento en la formación de cuerpos cetónicos, lo que explicaría los resultados obtenidos.

La actividad sérica de la ASAT al día 130 de la gestación en los cuatro grupos experimentales (141,35 UI/L en promedio) fue similar a lo reportado por Cal (2007), quien reportó valores de  $86,9 \pm 13,8$  UI/L en ovejas en la misma fecha de gestación. El ayuno provocó un incremento en los valores de esta enzima en las ovejas de todos los grupos experimentales, lo cual podría ser atribuido a la importante movilización de ácidos grasos que se provoca como consecuencia de la restricción alimentaria. Estos mismos resultados fueron descritos por Cal y col 2009 y Cal (2007). La correlación positiva encontrada por estos autores entre la actividad sérica de la ASAT y el grado de daño o vacuolización hepática sugiere la presentación de esteatosis hepática en estos animales, la cual no disminuyó al finalizar ninguna de las alternativas terapéuticas ensayadas, aunque esto se logró 5 días luego del parto, posiblemente dado el tiempo necesario para lograr este fin.

## CONCLUSIÓN

Si bien los cuatro tratamientos aplicados lograron restablecer la concentración normal de glucosa y BOHB en sangre, el tratamiento con glicerol-propilenglicol fue el que logró estos resultados en menor tiempo. Sin embargo el ácido 2 metil-2-fenoxi-propiónico resulto de utilidad para restablecer el metabolismo energético y disminuir el daño hepático tanto al aplicarlo luego de desencadenado el cuadro de toxemia subclínica, como al utilizarlo de forma preventiva.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1- Aiello R J, Kenna T M, Herbein J H (1984) Hepatic gluconeogenic and ketogenic interrelationship in the lactating cow. *J Dairy Sci* 67: 1707-1715.
- 2-Ann Preece, H T (1972) Paraffin tissue processing method. En: Ann Preece A manual for histologic technicians, 3º ed. Boston, Little Brown. pp 57-73.
- 3-Bellot García P; Palazón Azorín J M (2008) Enfermedades hepáticas durante el embarazo. *Gastroenterol Hepatol* ; 31(Supl 5):16-29.
- 4-Bergman N E, Roe W E, Kon W (1966) Quantitative aspects of propionate metabolism and gluconeogenesis in sheep. *Am J Physiol* 211: 793-799.
- 5-Bonino J, Sienra R, Sorondo L (1987) Enfermedades causadas por trastornos metabólicos: toxemia de la preñez. En: Bonino J, Durán del Campo A, Mari J. Enfermedades de los lanares II. Montevideo, Uruguay: Hemisferio Sur; pp: 239-265.
- 6-Borrelli P (2001) Producción animal sobre pastizales naturales. En: Ganadería sustentable en la Patagonia Austral. Ed. Borrelli P, Oliva G, INTA, Reg. Pat. Sur, 126-160. Disponible en: [http://inta.gob.ar/documentos/ganaderia-ovina-sustentable-en-la-patagonia-austral-tecnologia-de-manejo-extensivo/at\\_multi\\_download/file/CapituloTME%205.pdf](http://inta.gob.ar/documentos/ganaderia-ovina-sustentable-en-la-patagonia-austral-tecnologia-de-manejo-extensivo/at_multi_download/file/CapituloTME%205.pdf). Fecha de consulta: 15/10/2012.
- 7-Brockman R P, Laarveld B (1985) Effects of insulin on net hepatic metabolism of acetate and B-hidroxybutyrate in sheep (ovisaries). *Comp Biochem Physiol*, 81 A(2):255-257.
- 8-Buckrell B C (1988). Application of ultrasonography in reproduction in sheep and goats. *Theriogenology* 29:11-20.
- 9-Cal Pereyra L (2007) Inducción experimental de la toxemia de la gestación ovina Aplicación en la explotación ovina en Uruguay, Tesis doctoral Facultad de Veterinaria: 131p.
- 10-Cal Pereyra L, Borteiro C, Benech A, Rodas E, Abreu MN, Cruz JC, Gonzalez-Montaña R. (2009) Histological changes of the liver and metabolic correlates in ewes with pregnancy toxemia. *Arq Bras Med Vet Zootec* 61(2):306-312.
- 11-Campos RJ, Carreño ES, González FD (2004) Perfil metabólico de vacas nativas colombianas. *Memorias, Universidad de los llanos. Rev Orinoquia* 8(2):32-40.

12-Cirio A, Tebot I. (2000) La lipomovilización durante el parto y la lactación. En: Cirio A, Tebot I. (eds). Fisiología Metabólica de los Rumiantes. Facultad de Veterinaria (Comisión Sectorial de Investigaciones Científicas). UdelaR. Montevideo: p81-113.

13-Chilliard Y (1987) Variations qualitatives et métabolisme des lipides dans les tissus adipeux et le foie au cours du cycle gestation-lactation chez la brebis et la vache. *Reprod Nutr Develop* 27: 327-398.

14-Contreras P A, Möller I, Wittwer F, Tadich N (1990) Concentraciones sanguíneas de glucosa, colesterol, cuerpos cetónicos y actividad de aspartato aminotransferasa en ovejas con gestación única y gemelar en pastoreo rotacional intensivo. *Arch Med Vet* 22 (1): 65-69.

15-Contreras P A (1998) Síndrome de movilización de grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños. *Arc Med Vet* 30 (2): 1-7.

16-Cruz J C, Cal Pereyra L, Abreu M N, Benech A, Borteiro C, Rodas E (2005) Biopsia hepática en ovinos: Modificación a la técnica de aspiración por aguja. *Veterinaria (Montevideo)* 40(159-160):15-17.

17-De Brito Gomes M (2006) Glitazonas e síndrome metabólica: Mecanismos de Ação, fisiopatología e indicações Terapêuticas. *Arq Bras Endocrinol Metab* 50(2):271-280.

18-Diez Prieto I, Cano Rábano M J, Castillo Rodríguez C, Pérez García C C (1998) Metabolismo energético de los rumiantes: aspectos de interés fisiopatológico. *Bovis (Madrid)* 80:13-29.

19-Duffield T (2000) Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet Clin North Am: Food Animal Practice* 16 (2): 231-251.

20-Emery R S, Brown R W, Black A L (1967) Metabolism of DL-1,2-propanediol-2-14C in a lactating cow. *J Nutr* 92:348-352.

21-Farina R (2007) Control de las enfermedades metabólicas en vacas lecheras. *Fatro group. Italia*. Disponible en:

[www.metabolase.com/spagnolo/point\\_pdf/vacas%2520lecheras%2520ESP.ppt](http://www.metabolase.com/spagnolo/point_pdf/vacas%2520lecheras%2520ESP.ppt)

Fecha de consulta: 22/11/2012.

22-García Partida P (1976). Cetosis bovina. *Bol Inf Consejo General Coleg Vet España*, 204-205: 43-78.

23-Gibbons A (1996) Efecto de la esquila sobre el peso al nacimiento de los corderos merino en el sistema extensivo patagónico. *Curso Superior de*

producción animal, producción y alimentación. Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza, Trabajo Monográfico: 1-13.

24-González-Montaña JR, Rejas-López J (1995). Toxemia de la Gestación. *Med Vet* 12(9):513-522.

25-González Montaña JR (2003) Patología de la nutrición y del metabolismo. En: Fidalgo Alvarez LE, Rejas LJ, Ruiz de Gopegui R, Ramos AJJ ed. Patología Médica Veterinaria. Salamanca, Universidad de León, Universidad de Santiago de Compostela, Universidad de Zaragoza; 330-379.

26-Harmeyer J, Schlumbohm C (2006) Pregnancy impairs ketone body disposal in late gestating ewes: Implications for onset of pregnancy toxemia. *Res Vet Sci* 81(2): 254-264.

27-Herdt T H, Emery R S (1992). Therapy of diseases of ruminant intermediary metabolism. *Vet Clin of North Am: Food Anim Pract* 8(1): 91-106.

28-Hunt E R (1976) Treatment of pregnancy toxemia in ewes by induction of parturition. *Australian Vet J* 52: 338-339.

29-Koda Kimble M, Young L, Kradjan W, Guglielmo B, Allredge B, Corelli R. (2006) Applied therapeutics: The clinical use of drugs 8<sup>o</sup>ed. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins. 2560p.

30-Koenig M V, Contreras P A (1984) Alteraciones del metabolismo energético en rumiantes y sus principales manifestaciones clínicas. *Arch Med Vet* 16 (1): 7-13.

31-Latruffe N, CherkaouiMalki M, Nicolas-Frances V, Jannin B, Clemencet M, Hansmannel F, Passilly.Degrace P, Berlot J (2001). Peroxisome-Proliferator-activated receptors as physiological sensors of fatty acid metabolism: molecular regulation in peroxisomes. *Biochem Soc Trans* 29(2), 305-309.

32-Marteniuk J V, Herdt T H (1988) Pregnancy toxemia and ketosis of ewes and does. *Vet Clin North Am: Food Animal Pract* 4( 2): 307-315.

33-Mazur A,Ozgo M,Rayssiguier Y (2009); Altered plasma triglyceride-rich lipoproteins andtriglyceride secretion in feed-restricted pregnant ewes *Vet Medicina* 54 (9): 412–418.

34-Ndibualonji B B, Godeau J M (1993). La neoglucogenese et les acides amines chez les ruminants: revue. *Ann Med Vet* 137: 537-554.

- 35-Page CP, Curtis MJ, Sutter MC, Walter MJ, Hoffman BB (1998). Farmacología integrada. Madrid: Hartcourt Brace.606p.
- 36-Parra Sergio, Mejia L C (2001) Implicaciones farmacológicas de los receptores activados por los Proliferadores Peroxisomales (PPAR) IATREIA. 14(1): 31-46.
- 37-Robles C y Olaechea F (2001) Salud y enfermedad de las majadas En: Borrelli P, Oliva Ganadería sustentable en la Patagonia Austral. INTA, Reg. Pat Sur. 269pp.
- 38-Rook J S (2000). Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. Vet Clin North Am: Food Anim Pract, 16 (2): 293-317.
- 39-Robinson J J (1996). Nutrition and reproduction. Amim. Reprod Sci 42: 25-34.
- 40-Ros E, Laguna J C (2006), Tratamiento de la hipertrigliceridemia: fibratos frente a ácidos grasos omega 3. Rev Esp Cardiol Supl. 5:52D-61D.
- 41-Romano J; Rodas E, Ferreira A, Lago I, Benech A (1996) Effects of progestagen, PMSG and artificial insemination times on fertility and prolificacy in Corriedale ewes. Small Rum Res 23: 157–162.
- 42-Ros E, Laguna J (2006) Tratamiento de la hipertrigliceridemia: fibratos frente a ácidos grasos omega-3. Rev Esp Cardiol Supl. Barcelona. (6): 52D-61D.
- 43-Rusell A F J, Doney J M, Reid R L. (1977) The use of biochemical parameters in controlling nutrition state in pregnancy ewes and the effect of undernourishment during pregnancy of lamb birth weight. J Agric Camb 68: 351-358.
- 44-Russel A J F (1984) Means of assessing the adequacy of nutrition of pregnant ewes. Livestock Prod Sci 11: 429-436.
- 45-Salgado C (2012). Situación y perspectiva de los mercados de carne y lana ovina. Secretariado uruguayo de la lana. Disponible en: [http://expoprado.com/es/PDF\\_ExpoMelilla2012/SUL%20-%20Situaci%F3n%20y%20Perspectivas%20de%20los%20Mercados%20de%20Lana%20y%20Carne%20Ovina.pdf](http://expoprado.com/es/PDF_ExpoMelilla2012/SUL%20-%20Situaci%F3n%20y%20Perspectivas%20de%20los%20Mercados%20de%20Lana%20y%20Carne%20Ovina.pdf) . Fecha de consulta: 19/11/2012.
- 46-Schütze-Segen (2008). Receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPAR) Disponible en: [www.schutze-segen.com/site/doctos/z\\_hepagan.pdf](http://www.schutze-segen.com/site/doctos/z_hepagan.pdf) fecha de consulta: 24/11/2012.

- 47-Siegel, S (1956). Nonparametric statistics for the behavioral sciences. New York, Mc Graw-Hill: 312 p.
- 48-Sienra R, Bonino J, Larregui V, Echeguía M (1984). Toxemia de la preñez II. Inducción experimental y respuesta a la terapia con glicerol – propilenglicol. Veterinaria (Montevideo) 20(88-89):78-83.
- 49-Sigurðsson H (1988) Susceptibility to pregnancy disease in ewes and its relation to gestational diabetes. Acta Vet Scand 1988 (29): 407-414.
- 50-Stockhaus C, Van Den Ingh T, Rothuizen J (2004). A multistep approach in the cytologic evaluation of liver biopsy samples of dogs with hepatic diseases. Vet Pathol 41: 461-470.
- 51-West H J (1996) Maternal undernutrition during late pregnancy in sheep. Its relationship to maternal condition, pregnancy length, hepatic physiology and glucose metabolism. Br J Nutr (75): 593-605.
- 52-Wierda A, Verhoeff J, Van Dijk S, Dorresteyn J, Wensing T (1985) Effects of Trembolone acetate and propilenglicol on pregnancy toxemia in ewes. Vet Rec 116: 284-287.
- 53-Wierzbicki A S (2007). Peroxisomal disorders affecting phytanic acid alpha-oxidation: a review Biochem. Soc Trans 35 (5): 881-886.
- 54-Yarim GF, Ciftci G. (2009). Serum protein pattern in ewe whit pregnancy toxemia. Vet Res Commun 33(5):431-438.