



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrado

**EVALUACIÓN DE LA FRUCTOSAMINEMIA
PARA LA DETECCIÓN DE LAS
ALTERACIONES DEL METABOLISMO
HIDROCARBONADO ASOCIADAS A LAS
ALTAS EXIGENCIAS PRODUCTIVAS DE
LOS RUMIANTES**

Dra. María Laura Sorondo Imperial

TESIS DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL

URUGUAY
2008



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

Programa de Postgrado

**Evaluación de la
fructosaminemia para la
detección de las alteraciones
del metabolismo
hidrocarbonado asociadas a las
altas exigencias
productivas de los rumiantes**

Dra. María Laura Sorondo Imperial

**Dr. Alberto Cirio, DV, MS, PhD
Director de Tesis**

2008

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE DE DEFENSA DE TESIS

José Antonio Coppo MV, MSc, PhD

Profesor Titular de Fisiología en Veterinaria, Bioquímica, Biología y Genética. Universidad Nacional del Nordeste (UNNE, Corrientes – Argentina) Universidad Nacional de Misiones (UNAM, Posadas – Argentina)

Norma Mussart MSc

Profesora de Fisiología en Veterinaria, Biología, Zoología y Genética (UNNE, Corrientes; UNAM, Misiones; Universidad Católica de Salta)

Profesora de Biología. Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE, Corrientes – Argentina)

Directora del Servicio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE

Daniel Cavestany Bocking DV, MSc, PhD

Profesor Titular de Teriogenología. Universidad de la República, Montevideo-Uruguay

Investigador principal en Fisiología de la Reproducción Animal. INIA- Uruguay

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor el Profesor Alberto Cirio, por su entusiasmo y generosidad al compartir conmigo su excelencia académica.

Al Programa de Posgrado de la Facultad de Veterinaria, a su elenco docente y a sus funcionarios administrativos que hicieron posible un ansiado sueño.

A mis compañeros y compañeras de maestría, con quienes viví la fantástica experiencia de volver a las aulas.

A mis amigas, la Dra. Islamey Tebot que me prestó sus ovejas y a la Dra. Inés Pisón que realizó los diagnósticos ecográficos, a ambas por su cariño de siempre.

Al Ing. Pablo Leborgne por permitirnos realizar el protocolo en su establecimiento y al Sr. Walter Rodríguez encargado del tambo por su amable disposición.

Al Dr. José Piaggio por su respaldo estadístico.

Al Dr. Luis Cal y su equipo con quienes compartimos ovejas y jornadas de trabajo.

Al Dr. Pedro Martino siempre dispuesto a solucionar nuestros inconvenientes.

A la Dra. Elena de Torres, y a Gustavo Cazard por facilitar nuestra tarea en el Campo N° 2.

A la Tec.Lab. Cristina Nievas y a la Dra. Virginia Goldberg por su trabajo de laboratorio, a la Dra. Victoria Elizondo por la colaboración en la tarea de campo.

Al jefe de la sección Locomoción Sr. León Fernández y a su personal, por su eficiente gestión.

A la Dra. Elsa Garófalo y al Dr. José Repetto por permitirnos el uso de sus equipos.

Este trabajo fue parcialmente financiado con los fondos de la Comisión Sectorial de Investigación Científica.

Dedico este trabajo a mi familia.

A mis hijas Mázel, Paloma y Jazmín, a mi hijo Saúl, a mi nieta Micaela, ellos son el perfume de mis días.

A Héctor, compañero invaluable del camino de la vida, sin cuyo constante aliento y sostén no hubiera sido posible alcanzar esta meta.

Lo dedico muy especialmente a mi madre, que estrena sus jóvenes 80 años, de quien aprendí a superar la adversidad sin perder la ternura jamás.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	
a. Posicionamiento del problema	1
b. Bases metabólicas de los desequilibrios energéticos asociados a la producción	1
c. Consecuencias de los desequilibrios energéticos: las enfermedades metabólicas	4
d. Fundamentos bioquímicos y antecedentes del seguimiento del estado metabólico por la fructosamina sérica	5
2. OBJETIVOS	11
3. MATERIAL Y METODOS	12
4. RESULTADOS	15
5. DISCUSIÓN	35
6. CONCLUSIONES	41
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

Lista de tablas y figuras

	Página
Tabla I	16
Tabla II	17
Tabla III	19
Tabla IV	20
Tabla V	20
Tabla VI	21
Tabla VII	21
Tabla VIII	22
Tabla IX	22
Tabla X	23
Tabla XI	24
Tabla XIIa	25
Tabla XIIb	26
Tabla XIIc	27
Tabla XIII	28
Tabla XIV	29
Tabla XV	29
Tabla XVI	31
Tabla XVII	31
Tabla XVIII	32
Tabla XIX	32
Tabla XX	33
Figura 1	17
Figura 2	18
Figura 3	23
Figura 4	24
Figura 5	27
Figura 6	30
Figura 7	34
Figura 8	34

RESUMEN

Se evaluó la capacidad de la fructosaminemia para detectar retrospectivamente el estatus glicémico de rumiantes con alta exigencia energética. En muestras de sangre semanales de 17 vacas lecheras (3 muestras preparto y 5 posparto) y 23 ovejas (7 preparto y 3 posparto), estas últimas con tres planos alimenticios (P_{bajo} , $n=8$; P_{medio} , $n=7$; P_{alto} , $n=8$), se determinaron concentraciones de glicemia, fructosamina, beta-hidroxibutirato y proteínas. Se establecieron regresiones lineales glicemia/fructosaminemia con una, dos y tres semanas de retrospectión. Los resultados individuales, del conjunto o por semana, en bovinos y ovinos, no mostraron correlaciones positivas significativas sistematizables para ninguno de los desfases considerados. Los bovinos se agruparon en altos y bajos niveles de exigencia metabólica según cuatro parámetros (glicemia, glicemia de semanas 3-4 posparto, beta-hidroxibutirato y producción láctea). Se establecieron las regresiones glicemia/fructosaminemia para cada nivel, semana y retrospectión: sólo 4 (niveles bajos) y 6 (niveles altos) de 68 regresiones fueron significativas y positivas, no coincidiendo ni en el desfase ni en la semana de ensayo. En ovinos, la glicemia del P_{bajo} fue menor ($p<0,05$) que la del P_{medio} y la del P_{alto} . En ninguno de los tres planos surgieron correlaciones positivas significativas sistematizables. Ni bovinos ni ovinos presentaron hipoproteinemias persistentes que pudieran afectar los datos de fructosaminemia (271 ± 55 $\mu\text{mol/L}$ promedio en bovinos y 272 ± 83 $\mu\text{mol/L}$ promedio en ovinos). Los resultados no sustentan la posibilidad de detección retrospectiva sistematizable del estatus glicémico por la fructosamina sérica, en rumiantes de alta producción.

SUMMARY

The capacity of the fructosaminaemia to detect the retrospective glycaemic status in ruminant with high energy demand was evaluated. In weekly blood samples of 17 dairy cows (3 samples before and 5 after calving) and 23 sheep (7 before and 3 after lambing), the concentrations of glucose, fructosamine, β -hydroxybutyrate and total proteins were determined. Sheep were distributed in three nutrition levels (P_{low} , $n=8$; P_{medium} , $n=7$; P_{high} , $n=8$). Linear regressions for glycaemia/fructosaminaemia were performed for one, two and three retrospective weeks. The results (individual, group or per week), in cows and sheep, did not show significant and systemizing positives correlations for any of the retrospection indexes considered. Therefore, bovines were distributed in high and low levels of metabolic requirements according to four parameters (glycaemia, glycaemia of 3-4 weeks postpartum, β -hydroxybutyrate and milk production). The regressions for glycaemia/serum fructosamine concentration were established for each level, week and retrospective index: only 4 (low level) and 6 (high level) of 68 regressions were significantly positive, not sistematizable for the retrospection or the week periods. In sheep, the glycaemia in the P_{low} was smaller ($p<0,05$) than in the P_{medium} or the P_{high} . In any of the three levels significant and systemizing positives correlations were found. In both species, persistent hypoproteinemias that could affect the fructosaminaemia values were not found (271 ± 55 $\mu\text{mol/L}$ in bovine and 272 ± 83 $\mu\text{mol/L}$ in ovine). Results do not support the possibility of retrospective monitoring of the glycaemic status by the serum fructosamine, in high production ruminants.

INTRODUCCIÓN

Posicionamiento del problema

La evaluación de los sistemas de alimentación y manejo en rumiantes de alta producción, requiere el apoyo de parámetros de medición continua que permitan las correcciones necesarias antes que los errores se manifiesten en problemas productivos, reproductivos o enfermedades metabólicas que pongan en riesgo la rentabilidad de la empresa. A medida que se eleva el mérito genético la alta aptitud productiva incrementa la susceptibilidad de estos animales frente a desbalances nutricionales aún leves. En vacas lecheras el objetivo primordial es aumentar la producción láctea. La fuerte presión de selección genética ha incrementado la producción individual centrándose en los primeros 2 meses de la lactancia (Hibbit, 1979). En forma paralela, durante ese período se ha incrementado notoriamente el riesgo de aparición del desequilibrio metabólico conocido como cetosis de lactación, que significa siempre descenso de la producción con importantes trastornos de la fertilidad, pudiendo llegar a la pérdida del animal. En ovinos y caprinos, la mayor exigencia metabólica la impone el crecimiento fetal en las últimas seis semanas de la gestación, en las que el feto desarrolla el 70% de su crecimiento (Russel, 1979). En ese período que aumenta el riesgo de aparición del trastorno metabólico conocido como toxemia de la preñez, cuadro de tipo colectivo que lleva a la pérdida del feto y de la madre, con las consecuencias económicas que esto supone.

El seguimiento del balance energético durante los períodos de altas exigencias, a través de parámetros de medición fácil, económica, rápida y precoz, es una herramienta muy buscada por los criadores y profesionales, ya que posibilita la prevención de accidentes metabólicos en los establecimientos con gran dependencia de factores climáticos y, consecuentemente, nutricionales. En 1970 Payne *et al.* describen los perfiles metabólicos como forma de examinar el estado metabólico del rodeo lechero, con el fin de adecuar la dieta a la producción. A pesar de su amplia difusión, tiene algunas limitaciones, por ser una prueba colectiva y poco confiable en el período de transición (3-4 últimas semanas de gestación y 3-4 primeras posparto) por los cambios hormonales que durante el mismo ocurren (Lee *et al.*, 1978; Kida, 2002).

Bases metabólicas de los desequilibrios energéticos asociados a la producción (revisiones de Chilliard, 1986 y de Cirio y Tebot, 2000)

La mayoría de los glúcidos ingeridos por el rumiante son fermentados por los microorganismos ruminales y transformados en ácidos grasos volátiles (AGV). La absorción de la glucosa de origen alimentario es por tanto muy baja (15 al 30% de la requerida por el animal). A pesar de este bajo aporte exógeno, las necesidades de glucosa del rumiante son similares a las de los monogástricos. La glucosa es el principal sustrato energético del cerebro, del feto, de la glándula mamaria y del músculo. Esto obliga al rumiante a obtener la mayor parte de la glucosa que necesita por intermedio de la neoglucogénesis hepática, siendo esta vía metabólica permanente y de fundamental importancia en estas especies. El 90% de la neoglucogénesis tiene lugar en el hígado y el 10% restante en los riñones. El ácido

propiónico, AGV absorbido en el rumen, es el principal precursor neoglucogénico en el rumiante.

En períodos de simple mantenimiento, la neoglucogénesis hepática es suficiente para aportar al organismo del rumiante la glucosa necesaria, pero en determinados estados fisiológicos, como la preñez gemelar avanzada en la oveja y el pico de la lactación en bovinos, los requerimientos de glucosa aumentan considerablemente. Las necesidades de glucosa son de 180 g/día para ovejas que portan mellizos contra 90 g/día en ovejas vacías. En una vaca lechera las necesidades de glucosa pueden pasar de 700 g/d en mantenimiento a 70 g por litro de leche sintetizada en el período productivo. En el caso de las vacas lecheras, estas exigencias son directamente proporcionales al nivel de producción ya que la lactosa, principal determinante del volumen de leche producido, se sintetiza exclusivamente en la glándula mamaria a partir de la glucosa, por lo que el aumento de la producción diaria de leche se basa en una mayor captación de glucosa por la ubre. En los pequeños rumiantes, en los que la producción de leche no significa en general un esfuerzo metabólico mayor, las exigencias están vinculadas con la demanda de energía de la unidad placentario-fetal, prioritaria frente a la madre. Esta energía es provista principalmente por la glucosa y el lactato (Marteniuk y Herdt, 1988). La glucosa es extraída de la sangre materna en proporción al tamaño del útero y de la concepción, pudiéndose retirar hasta un 60 a 70% de la glucosa circulante. Como elemento común a las tres especies de rumiantes domésticos, en la mayoría de los casos la demanda energética excede a los aportes de energía, resultando un estado nutricional o balance energético negativos, donde el animal deberá obtener de sus reservas la energía necesaria para cumplir con su rol productivo.

Si tomamos como ejemplo para esta descripción al bovino lechero en transición, luego del parto su capacidad de ingestión aumenta más lentamente que los requerimientos, por lo que el déficit energético se mantiene por algunas semanas. La principal consecuencia observable es una caída de la glicemia, en repuesta a la cual se produce una lipomovilización: aumento de la lipólisis y bloqueo de la lipogénesis en el adipocito, masiva liberación de ácidos grasos no esterificados (AGNE) y de glicerol a la circulación. Los AGNE son utilizados como fuentes de energía y como precursores de las grasas lácteas, pero también son agentes cetogénicos. El glicerol constituye el principal recurso neoglucogénico durante este período. Esta lipomovilización repercute de distinta forma sobre el hígado, principal proveedor de metabolitos y energía, y sobre la glándula mamaria, principal consumidor de esos productos. La entrada de AGNE al hígado es libre y directamente proporcional a su concentración plasmática. Dentro del hepatocito son reesterificados con glicerol para formar triacilglicéridos (TAG). Los TAG se depositarán en el citoplasma o serán devueltos a la circulación incorporados en proteínas de muy baja densidad (VLDL, very low density lipoproteins) de producción hepática. Parte del glicerol utilizado en la reesterificación proviene de la glucosa. Mientras la utilización de la glucosa por la ubre no sea máxima (periparto y primera semana de lactación) el hepatocito producirá un exceso de TAG que, al superarse la tasa de producción de VLDL, no podrán ser exportados y se depositarán apareciendo esteatosis (Contreras, 1998).

Cuando el drenaje de glucosa hacia la ubre alcanza su máximo (2^a a 4^a semanas de lactación) se reducen las posibilidades de esterificación, retrocede la esteatosis y los AGNE hepatocitarios son principalmente oxidados, produciendo

grandes cantidades de acetil-CoA intramitocondrial. La utilización con fines energéticos de ese acetil-CoA en el ciclo de Krebs está muy comprometida, debido a la utilización del oxaloacetato (OAA) en la neoglucogénesis para atender los altos requerimientos en glucosa en la ubre (lactosa y energía). El exceso de acetil-CoA deriva entonces a la producción de cuerpos cetónicos, principalmente beta-hidroxibutirato (β OHB). La cetonemia aparece así como consecuencia del desequilibrio entre la producción y la utilización energética del acetil-CoA. La neoglucogénesis, en virtud de sus requerimientos de OAA, promueve la cetogénesis. Cuando la producción de cuerpos cetónicos supera la capacidad del organismo para su utilización (aporte de energía al músculo y cerebro, síntesis de novo de ácidos grasos en la célula mamaria) aparece el cuadro de cetosis debido a la acidosis metabólica y a las propiedades neurotóxicas de estos compuestos.

A nivel de la glándula mamaria, durante y a consecuencia de la lipomovilización, hay un aumento de la síntesis de TAG, que se traduce en una importante secreción de grasa en la leche. El gran aflujo de los AGNE movilizados que difunden libremente hacia la célula mamaria, conjuntamente con un aumento en la actividad de enzimas claves como la lipoproteínlipasa (LPL) y la glicéridosintetasa, hacen posible un aumento significativo de la formación de TAG a partir de los ácidos grasos captados. A esto contribuye además un aumento en la oferta de VLDL, consecutivo al reciclaje hepático de los AGNE movilizados. En suma, el pico de grasa láctea que aparece al comienzo de la lactación es debido a la intensa lipomovilización. La rápida caída subsiguiente de esta producción está obviamente relacionada con la atenuación de esa lipomovilización. La producción de grasas continúa disminuyendo gradualmente, pero menos rápidamente que la actividad secretora global de la ubre, de allí el aumento importante de la tasa butirométrica que se produce hacia el final de la lactación.

Aunque la secreción láctea en vacas puede reducirse al restringirse el ingreso calórico, esto no suele ocurrir de forma inmediata ni en forma proporcional ya que los estímulos hormonales de la actividad mamaria al principio de la lactancia superan la caída del ingreso energético (Radostits *et al.*, 2002). La prioridad de la demanda de glucosa por la glándula mamaria en la lactación temprana, es el resultado de los niveles hormonales en el período del parto (Baird, 1982). Los mecanismos teleofóricos permiten aumentar y orientar el flujo de nutrientes hacia los órganos prioritarios “productivos” (glándula mamaria), sobre la base de una reorganización hormonal que depende principal pero no exclusivamente de la insulina, la somatotrofina (STH) y la prolactina. Al comienzo de la lactación los niveles sanguíneos de prolactina y STH son altos, en tanto son bajos los de insulina. La conjunción de las propiedades lipolíticas de la STH y de la limitación de los efectos lipogénicos y antilipolíticos de la insulina, permite la intensa lipomovilización a partir del tejido adiposo. La prolactina cumple un rol teleofórico al inducir una mayor síntesis de receptores insulínicos en la célula mamaria y una disminución de los mismos en el adipocito. Esto permite que la insulina manifieste su efecto lipogénico, a pesar de sus bajos niveles circulantes, casi exclusivamente en la glándula mamaria. La STH completaría la regulación teleofórica, ya que parecería responsable del incremento de la densidad de receptores β -adrenérgicos (lipolíticos) en el adipocito.

Consecuencias de los desequilibrios energéticos: las enfermedades metabólicas

La *cetosis de lactación* (descripción en base a Baird, 1982 y Radostits *et al.*, 2002) es un disturbio metabólico que afecta a las vacas lecheras de alta producción alrededor del pico de lactación (2^a a 6^a semana), reconocido como de gran significación económica en establecimientos lecheros. El factor desencadenante esencial es el aumento de la captación de glucosa por la glándula mamaria a medida que el animal incrementa su producción diaria de leche. En nuestro país, con explotación extensiva a campo, los desbalances alimenticios ligados a factores climáticos (sequías prolongadas, lluvias excesivas), actúan como importantes factores predisponentes favoreciendo la aparición del déficit energético. La cetosis puede manifestarse en forma clínica o subclínica. La *cetosis clínica* aparece en forma abrupta, observándose pérdida del apetito, disminución de la producción láctea, rápido decaimiento de la condición corporal y aparición de alteraciones nerviosas. Estos síntomas se acompañan de hipercetonemia, hipoglicemia y elevadas concentraciones de AGNE en sangre, con infiltración grasa del hígado. En la *cetosis subclínica* las vacas se adaptan a los bajos aportes calóricos de la dieta, reduciendo la producción diaria de leche, siendo la pérdida de peso corporal poco frecuente. Pueden ser detectados indicadores sanguíneos de insuficiencia de carbohidratos (hipoglicemia) y de lipomovilización (hipercetonemia), sin que se observen signos clínicos de cetosis. En estas vacas la concentración total de cuerpos cetónicos hallados en sangre no supera 1,5 a 2,0 mmol/L. La dificultad del eje hipotálamo-hipofisario, durante los períodos de balance energético negativo, para desencadenar los patrones pulsátiles de LH inductores del desarrollo de los folículos ováricos y de la ovulación (Butler *et al.*, 2006), hace que la forma subclínica de la cetosis se asocie normalmente con disminución de la fertilidad postparto. Por cada día de atraso en el período parto-concepción a partir de los 100 días (que es lo aceptado como normal), se pierden 7 litros de leche. En nuestro país la media para este período es de 230 días, es decir 130 días más de lo deseable, representando una pérdida de 910 litros de leche/vaca/año, que significan el 20% de una lactancia media (Landeira, 2001). Esta caída de la performance reproductiva, asociada a la ausencia de reconocimiento clínico que no induce un tratamiento, a la disminución de la producción láctea y a la predisposición a otras enfermedades del periparto, hacen que la cetosis subclínica signifique importantes pérdidas económicas para el tambero.

La *toxemia de la preñez* (descripción en base a Bonino *et al.*, 1987 y Ruiz Moreno y Silva, 1997) La toxemia de la preñez es una enfermedad metabólica de hembras ovinas y caprinas. Se presenta al final de la gestación cuando se produce el mayor desarrollo fetal, siendo más propensas las ovejas que portan mellizos, aunque en las condiciones de nuestro país se da también con gestaciones de un solo cordero. Al incrementarse las demandas de glucosa a partir del día 100 de la gestación, la oveja subalimentada o estresada es incapaz de mantener su homeostasis, lo que determina una severa hipoglicemia, lipomovilización y cetonemia consecuente. La principal causa de aparición de la enfermedad es la gestación múltiple, con disminución relativa de la capacidad ruminal por aumento del volumen del útero. Pero en nuestro país y a consecuencia del sistema extensivo de cría, existen importantes factores predisponentes: la subnutrición de la hembra gestante, prácticas inapropiadas de manejo (exceso de peso al servicio, época de servicio poco adecuada que hace que el último tercio de la gestación, el de mayor exigencia energética, coincida con menor disponibilidad de alimento). Se agregan además condiciones

climáticas adversas (frío, lluvias, heladas), asociadas a falta de abrigos, que determinan un estrés térmico con alto consumo de reservas orgánicas y disminución de las ingestas. El comienzo de las manifestaciones clínicas es relativamente brusco, aunque es probable que el cuadro se hubiera estado desarrollando desde tiempo atrás en forma subclínica. Los principales síntomas son: apatía, pérdida de reflejos, dificultad en la marcha, disnea, decúbito, convulsiones coma y muerte. Hasta el momento su diagnóstico se realiza a campo, por el hallazgo de ovejas muertas o con signos evidentes de la enfermedad, pero es importante que la detección de esta patología pueda realizarse en una etapa subclínica.

La cetosis de lactación y la toxemia de la preñez son patologías frecuentes en nuestro medio que ocasionan pérdidas económicas de importancia. Su prevención depende de un correcto manejo energético, por lo que sería de gran utilidad el disponer de un método de diagnóstico precoz que alerte del riesgo metabólico al que se enfrentan los animales con altos requerimientos productivos.

Fundamentos bioquímicos y antecedentes del seguimiento del estado metabólico por la fructosamina sérica (*Fser*)

La reducción sostenida de la glicemia es la manifestación bioquímica más constante y representativa de una alteración metabólica por excesivo requerimiento energético, es el fenómeno desencadenante de la lipomobilización y, en definitiva, es un índice fidedigno de riesgo de aparición de enfermedades metabólicas. Por tanto, el método de examen de los desbalances energéticos que nos propusimos evaluar se basa en la posibilidad de un seguimiento retrospectivo de la evolución de la glicemia a medida que se acercan los momentos críticos de máximas exigencias energéticas (últimas semanas de la gestación en ovinos, comienzo de lactación en bovinos de leche). El presente trabajo explora la posibilidad de que ese seguimiento se realice mediante la determinación de los valores séricos de fructosamina, una glicoproteína estable producto de la reacción de la glucosa con las proteínas plasmáticas (reacción de Maillard).

La reacción de Maillard

Louis Camille Maillard fue el descubridor de la reacción que lleva su nombre cuando en 1911, al estudiar la síntesis química de los péptidos, lineares y cíclicos, observó un hecho inesperado: la función reductora de los azúcares prevalecía en gran forma sobre la de los hidroxilos, por lo que se dedicó a estudiar los fenómenos que ocurren cuando azúcares y aminoácidos son expuestos juntos a altas temperaturas (Maillard, 1912). La reacción de Maillard o glicación¹ consiste en la reacción no enzimática de los azúcares (glucosa en general, pero no exclusivamente) con las proteínas (y en menor grado con lípidos y con DNA) para formar proteínas glicadas, también llamadas de Amadori o fructosaminas.

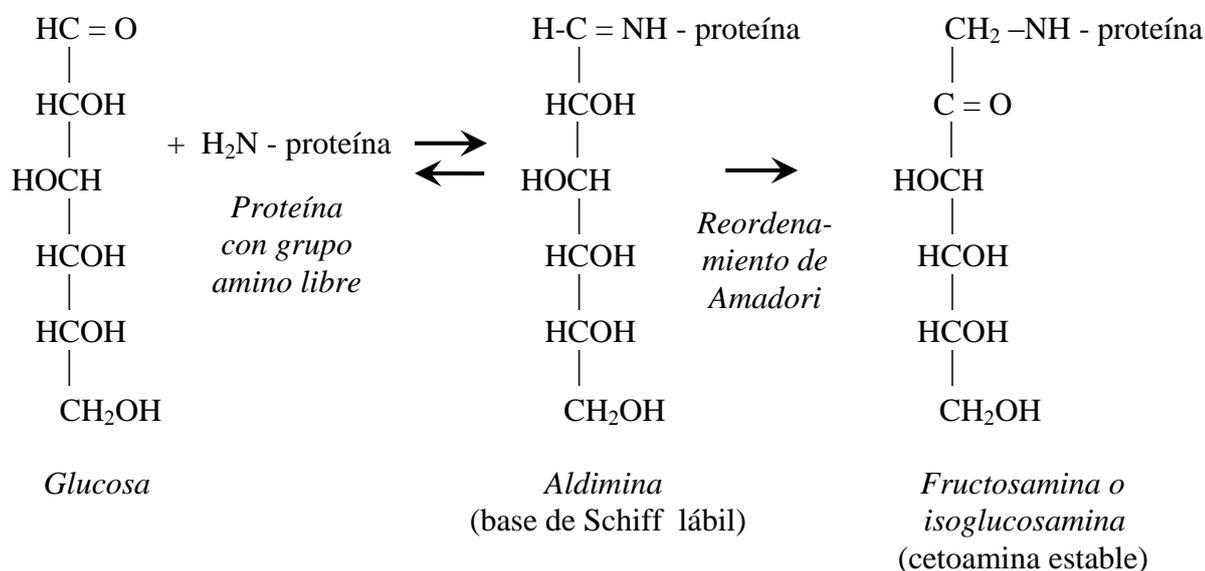
Tal vez la forma más apreciable de esta reacción se encuentra en los alimentos. Todos los productos panificados, rostizados y torrados, se sirven de las ventajas de este proceso y, como ejemplo cercano, el dulce de leche, la cerveza, y las

¹ El término glicación es recomendado por el IUPAC-IUB, Joint Commission on Biochemical Nomenclature, para denominar cualquier reacción que enlace un azúcar a una proteína (Armbruster, 1987).

bebidas cola. Como la reacción se produce también *in vivo*, la medicina le encuentra relación con varias afecciones, ya sea provocándolas o complicándolas. Es así que varios de sus productos intermedios y finales intervienen en la diabetes, el mal de Alzheimer, la hipertensión, la lepra y la opacidad del cristalino. La reacción aparece en procesos de lenta degradación de moléculas (como el colágeno tisular) en las arterias, los tendones, la piel, el cristalino, así como en el envejecimiento celular de neuronas, hepatocitos, miocitos, fibroblastos y linfocitos (Kennedy *et al.*, 1981; Ahmed *et al.*, 1986; Brownlee *et al.*, 1984). Para Monnier (1989), la reacción de Maillard es el centro de la teoría del envejecimiento. La diversidad y complejidad de las unidades de azúcar de la proteína glicada sugiere que estas son ricas en información y resultan funcionalmente importantes. Así por ejemplo, los residuos terminales de OH de una proteína glicada pueden servir como señal para que las células hepáticas eliminen esa proteína de la sangre. Se ha propuesto que estas unidades de oligosacáridos señalan el paso del tiempo, para indicar que las proteínas que las transportan deben ser retiradas de la circulación (Lubert Stryer, 1995).

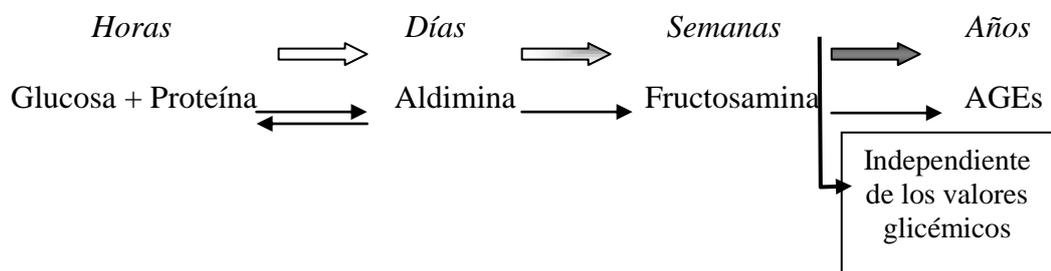
La Fser

Desde los reportes de Johnson *et al.* en 1982, es ampliamente aceptado que el término fructosamina (inicialmente también llamada isoglucosamina por Fischer en 1936, quien la sintetizó por primera vez) se refiere a las moléculas que resultan de la glicación de las proteínas séricas (Armbruster, 1987). Los valores de *Fser* responden a la glicación de todas las proteínas séricas. La albúmina es la más abundante y su glicación corresponde al 80% de la glicación de las proteínas séricas, siendo además la que se glica más rápidamente. El mecanismo de glicación no enzimática de una proteína (ver esquema debajo, adaptado de Armbruster, 1987) se inicia cuando la molécula de glucosa está en su forma de cadena abierta. Esta forma posee un grupo carbonilo, que usualmente está en el 0,001% de la glucosa sanguínea, y se combina reversible y no enzimáticamente con un grupo amino libre (típicamente el grupo épsilon-amino) de los residuos de lisina de las proteínas. Se forma así un compuesto inestable, una aldimina, que lenta pero irreversiblemente, a través de la catálisis ácido-base local conocida como el reordenamiento de Amadori, se transforma en un compuesto cetamina estable, la fructosamina. Se cree que este compuesto pasaría a una estructura de anillo, logrando así aún mayor estabilidad.



En una segunda etapa (ahora independiente de la glicemia), una serie compleja de reordenamientos intramoleculares y reacciones oxidativas conducen a la formación de compuestos múltiples, muy reactivos, colectivamente conocidos como "productos de glicación avanzada" (AGE, Advanced Glycation Endproducts) (Actis y Rebolledo, 2000). Estas reacciones son virtualmente irreversibles y la modificación sólo desaparece con la proteína. Tomando como ejemplo el dulce de leche, la lactosa y la glucosa de la leche reaccionan con la caseína y la lactalbúmina para dar complejas estructuras, de color amarronado, que son precisamente AGEs (Triana, 2001).

Para mejor conceptualizar el decurso temporal de la glicación, en el esquema siguiente (adaptado de Actis y Rebolledo, 2000) se indica la duración de cada paso sucesivo.



La formación de la *Fser* requiere semanas por lo que su capacidad predictiva no refiere a la glicemia actual: las oscilaciones diarias o rápidas de la glicemia no modifican su concentración (Marca *et al.*, 2000; Jensen 1992). Trabajando en bovinos Jensen *et al.* (1993) no detectaron modificaciones en la concentración de *Fser* durante cambios agudos de la glicemia, consecutivos a la perfusión intravenosa de glucosa, ni durante sus variaciones circadianas (de por sí muy débiles). La concentración de *Fser* equivale a una "memoria glicémica": refleja la concentración promedio de glucosa a la que está expuesta la albúmina mientras está en circulación, hasta que es metabolizada como las demás proteínas plasmáticas. La concentración de *Fser* será así elevada en las hiperglicemias prolongadas y disminuirá en las hipoglicemias prolongadas. La concentración de *Fser* es elevada en casos de diabetes mellitus en humanos (Armbruster, 1987), perros (Jensen, 1995; Coppo y Mussart de Coppo, 1997; Loste y Marca, 2001a), gatos (Reusch *et al.*, 1993; Elliot *et al.*, 1999) y roedores (Grombaek *et al.* 1995). Por el contrario su valor disminuye en hipoglicemias crónicas en perros con carcinoma pancreático insulino-secretor (Thorensen *et al.*, 1995). En rumiantes se han reportado estudios que indicarían su disminución durante hipoglicemias persistentes propias de toxemia de la preñez en ovinos (Cantley *et al.*, 1991) y de la cetosis de lactación en bovinos (Jensen *et al.*, 1993), o durante el crecimiento en terneros, en forma paralela a la progresiva reducción de la glicemia característica del pasaje de lactante a rumiante (Coppo, 2001). Otro factor susceptible de afectar la concentración de *Fser* es el nivel de las proteínas plasmáticas (Armbruster, 1987; Henrichs, 1990). En perros normoglucémicos con hipoproteinemias sostenidas, Coppo y Mussart de Coppo (1997) encontraron concentraciones de *Fser* por debajo del intervalo de referencia de perros normoproteinémicos. Sin embargo, Jensen (1993) en perros y Matamoros *et al.* (2002) en perros y gatos, afirman que tanto la hiper- como la hipoproteinemia crónicas tendrían que ser muy marcadas para modificar significativamente la *Fser*.

Según los autores, se puede establecer una correlación positiva entre los valores actuales de *Fser* y los de la glicemia de una a dos (Bermudez y Rebolledo, 1988; Kawamoto *et al.*, 1992; Loste y Marca, 2001b), o de una a tres semanas (Willms y Lehamann, 1990; Reusch *et al.*, 1993; Jensen, 1995; Loste y Marca, 2001a) que anteceden a la muestra. Este período respondería a la vida media de la albúmina plasmática, que en promedio es de 15 días en humanos (Dixon *et al.*, 1953), 8 días en caninos (Kawamoto *et al.*, 1992), 16,5 días en vacas (Cornelius *et al.*, 1962) y 14,3 días en ovinos (Campbell *et al.*, 1961). De esta forma la concentración de *Fser* representa en forma retrospectiva, un índice de la media de las fluctuaciones de la concentración de glucosa sanguínea (estatus glicémico), dos a tres semanas previas a la toma de la muestra, asumiendo que la proteinemia se ha mantenido relativamente estable durante ese período, sin que ese valor de *Fser* se vea influenciado por variaciones de la glicemia a más corto plazo o de ese mismo día.

Antecedentes de utilización del seguimiento de la glicemia por la Fser

A partir de la década de 1980, la evaluación del metabolismo hidrocarbonado a través del examen retrospectivo de la glicemia por las proteínas glicadas (cuantificación de la hemoglobina glicada [Hbg] y de la *Fser*) cobró mucha importancia en medicina humana para el diagnóstico y seguimiento del tratamiento de la diabetes mellitus. Durante esta enfermedad se incrementa la glicación de casi todas las proteínas plasmáticas, pero la mayoría de ellas tienen una vida media muy corta comparada con la de la hemoglobina, que es de 120 días, por lo que la información obtenida de ésta es más estable y de más largo alcance. Así, la cuantificación de la Hbg se difundió ampliamente y se considera un indicador muy confiable para el control de la diabetes, siendo realizada como rutina en la mayoría de los laboratorios. No obstante presenta ciertos inconvenientes como la dificultad de estandarización y control, lo laborioso del procedimiento y, para algunos autores, interferencias con la glucosa libre y otros metabolitos, así como con las variaciones de pH y de temperatura (Armbruster, 1987). Estas consideraciones llevaron a buscar métodos alternativos surgiendo, a partir de 1983, la cuantificación de la *Fser*, constatándose que sus valores se corresponden con los hallados para la Hbg (Armbruster, 1987). Por su vida media más corta, el control glicémico por la *Fser* es más próximo que el aportado por la Hbg (Kennedy *et al.*, 1981) y, según la mayoría de los autores, es una prueba rápida, técnicamente sencilla, económica y confiable.

En el ser humano se ha reportado una correlación positiva entre glicemia y *Fser*, en los casos de diabetes mellitus tipo I insulino-dependiente (Baker *et al.*, 1983 y 1985a; Benjamín y Sacks, 1994; Hom *et al.*, 1998), tipo II no insulino-dependiente (Baker *et al.*, 1985b; Mosca *et al.*, 1987; Rosediani *et al.*, 2006), así como en diabetes juvenil (Canahuati *et al.*, 1996) y en niños de 8 a 12 años para ajustar la dosis de insulina (Post *et al.*, 2000). Esta correlación ha sido recomendada para emplearse como prueba de “screening” en diabetes gestacional (Roberts y Baker, 1986), con la corrección por proteínas séricas para lograr mayor precisión (Khan *et al.*, 2007). Se ha empleado también para detectar anomalías en la prueba de tolerancia oral de la glucosa (Herdzik *et al.*, 2002) y como método para valorar la exposición de los pacientes a dietas ricas en azúcares simples en estudios epidemiológicos (Misciagna *et al.*, 2004). Pero a pesar de la gran evidencia experimental en favor de la correlación positiva glicemia/*Fser* en el ser humano, algunos autores indican poca confiabilidad en este método debido a la existencia de

interferencias con otros componentes sanguíneos (Baker *et al.*, 1985b; Flückiger *et al.*, 1987), o al efecto de hipoproteinemias (Flückiger *et al.*, 1987; Hom *et al.*, 1998) y de la disfunción tiroidea (Sako *et al.*, 1989). Por su parte Mula-Abed y Al-Naemi (2003) no recomiendan la prueba como prueba de “screening” para diabetes mellitus argumentando moderada sensibilidad, mientras que Li y Yang (2006) la descartan en los casos de diabetes mellitus gestacional en etapas tempranas del embarazo.

A partir de 1984 y con el mismo fin, tanto el seguimiento por Hbg como por *Fser* comenzaron a ser utilizados en medicina veterinaria, principalmente en perros y gatos. A los efectos de una correcta interpretación y evaluación de la significación de estas pruebas en los animales, es necesario tener presente las diferencias en los hábitos alimenticios y en los procesos metabólicos entre el hombre (omnívoro, ingestión y digestión frecuentes), otras especies monogástricas (carnívoros, ingestiones poco frecuentes, digestión puntual) y las especies poligástricas (herbívoros, ingestión y digestión continuas). A consecuencia de estas diferencias se establecen patrones de glicemia distintos y específicos para cada especie. En el hombre los picos de glucosa sanguínea son moderados, frecuentes y posprandiales, con una marcada regulación hormonal, en tanto son mayores y menos frecuentes en los carnívoros domésticos con períodos interprandiales más prolongados. Por su parte los poligástricos fermentan en alta proporción esta molécula en sus prestómagos, transformándola en otros productos finales de su digestión, conducentes a la formación y utilización metabólica de nuevas moléculas y a una euglicemia menor (0,5 -0,7 g/L) a la de los monogástricos. Pero fundamentalmente, el comportamiento alimentario de los rumiantes conlleva una absorción continua de nutrientes (y entre ellos de la glucosa que escapa a la digestión ruminal), lo cual determina la ausencia de hiperglicemias posprandiales y valores glicémicos mucho más estables a lo largo del nictemerio. Por esto, en estas especies la glicemia tiene una menor importancia como señal metabólica y reguladora de las secreciones hormonales.

En los monogástricos carnívoros sanos, se ha hallado correlación positiva entre *Fser* y glicemia, tal como fue reportado para la especie canina (Loste y Marca, 2001a). Similares resultados se obtuvieron al aplicar esta técnica a animales diabéticos, tal lo reportado para perros con hiperglicemia persistente por Jensen (1994), Thorensen y Lorenzen (1997), Loste y Marca, 2001b y González y Ceroni da Silva (2006). La técnica permite además la diferenciación de las hiperglicemias diabéticas (persistentes) de las no diabéticas (transitorias) en perros (Jensen, 1994 y 1995; Marca *et al.*, 2000; Matamoros *et al.*, 2002). En perros hipoglicémicos por presencia de insulinoma, Loste y Marca (2001b) no hallaron correlación entre *Fser* y glicemia, contrariamente a lo sugerido por Thorensen *et al.* (1995). En gatos la técnica de *Fser* se preconiza como de gran utilidad en el diagnóstico y control de tratamiento en casos de diabetes mellitus (Kaneko *et al.*, 1992; Reusch *et al.*, 1993; Crenshaw *et al.*, 1996; Elliott *et al.*, 1999; Vaccaro *et al.*, 2003). La corrección de los valores de *Fser* por la proteinemia como procedimiento de rutina no se justifica ya que los resultados de la *Fser* sin corregir mantienen valores aceptables de especificidad y sensibilidad (Jensen *et al.*, 1993). Esta corrección se aconseja solo cuando la concentración de proteínas totales es marcadamente anormal (Lutz *et al.*, 1995), en casos de perros hipoalbuminémicos donde se corrige por albúmina (Kawamoto *et al.*, 1992) o cuando coexisten ambas situaciones, es decir perros hipoproteinémicos e hipoalbuminémicos (Loste y Marca, 1999). La correlación

positiva glicemia/*Fser* parecería ser poco confiable en casos de perros con hipoproteinemia severa (Reusch y Haberer, 2001; Matamoros *et al.*, 2002), infectados con *Angiostrongylus vasorum* (Willensen *et al.*, 2006) y en gatos hipotiroideos (Reusch y Tomsa, 1999) o hipoproteinémicos (Reusch y Haberer, 2001). Es de destacar que todos los autores que diagnostican hiperglicemias persistentes mediante la *Fser*, se basan en la presunción de que la *Fser* actual refleja las modificaciones de la glicemia de 1 a 3 semanas anteriores. Sin embargo, en nuestro conocimiento, la correlación positiva retrospectiva entre estos dos parámetros no ha sido comunicada.

En los herbívoros poligástricos (rumiantes), la aplicación de esta técnica para el diagnóstico precoz de toxemia de gestación o de cetosis subclínica fue sugerido desde comienzos de la década de 1990 (Jensen, 1993). No obstante, su uso ha sido menos reportado y los resultados menos concluyentes que los citados para monogástricos. Si bien se ha encontrado correlación positiva glicemia/*Fser* en terneros en crecimiento (Coppo, 2001) y se comunicó la utilidad de la *Fser* para el diagnóstico precoz de cetosis bovina (Jensen *et al.*, 1993) y de toxemia en ovinos (Cantley *et al.*, 1991; Arnt Brito *et al.*, 2006), Ropstad (1991), trabajando con vacas lecheras, encuentra esta prueba limitada a la hora de examinar su estatus metabólico. Más aún, los resultados de los trabajos de Ceballos *et al.* (2002a, 2002b) en ganado de leche y de Jordán *et al.* (2006) en ganado de lidia, son categóricos en cuanto a que no hallaron correlación entre glicemia y *Fser*. Incluso para la Hbg Ganaba *et al.* (1993) no encontraron correlación con la glicemia en vacas lecheras en transición. Sin embargo y considerando que las concentraciones de *Fser* no son afectados por las variaciones circadianas o de corto plazo de la glicemia, en ninguna de esas publicaciones se evalúa su capacidad predictiva sobre la glicemia de semanas anteriores. Ingvarsen *et al.* (2003) sugieren que “son necesarios más estudios que complementen las relativamente pocas investigaciones primarias que midieron la fructosamina en el ganado”. Por su parte Rivas *et al.* (2006), entre sus conclusiones indican que “la fructosamina aporta una mejor apreciación de la utilización de la glucosa; no obstante se requiere mayor investigación sobre el uso de este indicador en rumiantes”.

En vista de los resultados heterogéneos expuestos y de la ausencia de trabajos vinculando, en rumiantes, los valores de *Fser* con los de glicemia de semanas anteriores, nos hemos propuesto evaluar la capacidad y la confiabilidad de la fructosaminemia para detectar retrospectivamente estados de susceptibilidad o de riesgo de aparición de patologías de origen metabólico (asociadas a hipoglicemias), cuando bovinos y ovinos enfrentan situaciones de muy alta exigencia energética como la lactación y la gestación terminal respectivamente. La estabilidad de los valores sanguíneos de glucosa en relación a la ingestión de alimentos posibilita, en estas especies, un seguimiento de la glicemia más confiable que en los monogástricos, por lo que estarían dadas las condiciones para establecer la existencia o la ausencia de correlación positiva con la *Fser*.

Nuestra *hipótesis a verificar* podría presentarse de la forma siguiente:

Dado *a)* el proceso de formación de la fructosamina, por el cual su concentración sérica está correlacionada con los valores plasmáticos de glucosa de hasta tres semanas anteriores, y *b)* la significación de la hipoglicemia persistente como indicador de riesgo de aparición de alteraciones metabólicas, *la determinación de la concentración sérica de fructosamina durante períodos productivos de alta exigencia, permite la detección retroactiva de hipoglicemias basales (no contaminadas por eventuales oscilaciones diarias), alertando sobre la presencia de desbalances metabólicos susceptibles de evolucionar hacia patologías subclínicas o clínicas.*

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la fructosaminemia como herramienta para el diagnóstico del estado metabólico del rumiante durante los períodos de alta exigencia productiva.

Objetivos particulares

- Determinar la capacidad de las concentraciones séricas de fructosamina para informar en forma retrospectiva sobre la evolución de la glicemia en bovinos lecheros en período de transición.
- Determinar la capacidad de las concentraciones séricas de fructosamina para informar en forma retrospectiva sobre la evolución de la glicemia en ovinos hacia el final de la gestación.

MATERIAL Y METODOS

El manejo de ovinos y bovinos se realizó de acuerdo a las normas éticas y de bienestar animal internacionalmente aceptadas. Los protocolos experimentales fueron aprobados por la Comisión de Experimentación Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Protocolo de bovinos

Animales y alimentación

El protocolo se desarrolló en un tambo comercial de San Antonio, 15^a Sección del Departamento de Canelones, Uruguay entre los meses de mayo y julio (invierno) de 2005. Su rutina de ordeño era de dos veces diarias, a las 06 y 18 horas. Se seleccionaron 17 vacas Holando (500-600 kg) multíparas y con antecedentes de alta producción (25 a 30 L/día en el pico de lactación), condición que predispone a los desbalances energéticos. Todas se encontraban en gestación terminal y sus partos fueron normales. Los animales eran mantenidos en pradera compuesta de lotus, trébol, cebadilla y avena y además recibían:

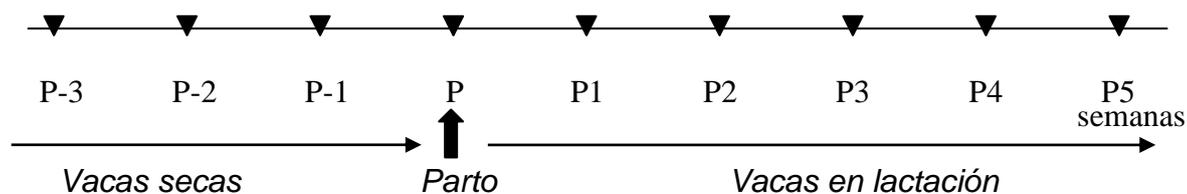
- en cada ordeño, 1,5 kg de concentrado A (86,3% MS, 9,7% PB, 9,5% FAD, 1,9 Mcal EM / kg MS);

- a las 18,30 horas, 6 kg de concentrado B (76,6% MS, 13,2% PB, 15,4% FAD, 2,4 Mcal EM / kg MS); y silo de maíz de planta entera (41,2% MS, 2,6 % PB, 12,9% FAD, 11,3 % Cen, 1,0 Mcal EM / Kg MS) .

- 1 kg de mañana y 1 kg de tarde de afrechillo de arroz (12% PB, 12,5% FAD, 0,9% Ca).

Desarrollo experimental

Se tomaron muestras de sangre de los animales una vez por semana y a intervalos fijos de 7 días, según el siguiente esquema:



El muestreo se realizó por la mañana en la sala de ordeño (luego de completada la extracción de leche) y aproximadamente a la misma hora para cada vaca, ya que no se modificó la rutina de ordeño a los efectos de disminuir el estrés de los animales. La extracción se realizó por punción coccígea con vacutainers colectándose en tubos con fluoruro de sodio para la determinación de glicemia y proteínas totales y en tubos secos para la determinación de fructosamina y β OHB. Inmediatamente de regresados al laboratorio se centrifugaron las muestras (3.000 rpm x 10 min) y se almacenó plasma y suero en tubos Eppendorf etiquetados y congelados a -20°C hasta su procesamiento. Es importante notar que la toma de sangre se realizó muy cercana a la primera suplementación del día, evitándose así posibles oscilaciones de la glicemia asociadas a la absorción de ác. propiónico o de la

misma glucosa. El valor de este parámetro responde entonces a las condiciones basales de pastoreo de los animales.

Protocolo de ovinos

Animales y alimentación

El trabajo de campo se llevó a cabo en las instalaciones del Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria (Libertad, Departamento de San José, Uruguay) entre los meses de abril y octubre de 2006 (otoño-invierno). Se emplearon 23 ovejas multíparas de la raza Corriedale de entre 4 y 9 años de edad (45-50 kg), sincronizando sus celos con esponjas intravaginales de medroxiprogesterona (Sincrovin[®], Santa Elena, Uruguay). A los 14 días se retiraron las esponjas y se introdujeron dos carneros con arneses marcadores de la misma raza y fertilidad probada. El día de la monta se tomó como día 0 de la gestación, confirmándose la misma al día 70 por ultrasonografía (Esaote Pie Medical, modelo Aquila, con sonda de 5 MHz, USA). Los animales se mantuvieron sobre campo mejorado (preponderancia de rye grass) hasta el día del parto y luego, conjuntamente con sus crías, fueron pasados a pradera de trébol blanco, lotus y rye grass. Hacia el final de la gestación los animales se distribuyeron en forma aleatoria en tres grupos que recibieron planos diferentes de alimentación:

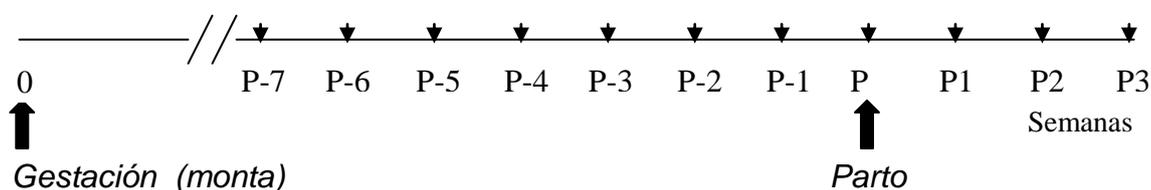
- un grupo (n = 8) recibió una suplementación desde el día 100 hasta el parto (plano alto de alimentación, P_{alto}). La suplementación consistió en 400 g de ración (89,5 % MS, 12,5 % PB, 10,1 % FAD y 2,6 % EM) por ovino, en dos distribuciones diarias;

- otro grupo (n = 7) no tuvo ningún tratamiento (plano medio de alimentación, P_{medio});

- un tercer grupo (n = 8) se ayunó durante 5 días, entre los días 136 y 141, volviendo luego al campo natural hasta el parto (plano bajo de alimentación, P_{bajo}). El ayuno se realizó confinando los animales sin alimento en un local de piso de concreto y techado, con agua ad-libitum. Hubieron tres partos melliceros, dos en el grupo P_{alto} y uno en el P_{bajo}.

Desarrollo experimental

Se tomaron muestras de sangre de todos los animales una vez por semana y a intervalos fijos de 7 días, según el siguiente esquema:



El muestreo se llevó a cabo en horario razonablemente constante para cada ovino (entre las 9 y las 10 horas para el lote) y, en el grupo P_{alto}, precediendo la suplementación matinal. La extracción se realizó por punción de la vena yugular con agujas 18G recogiendo y procesando la sangre en las mismas condiciones que las indicadas para bovinos.

Análisis bioquímicos

En ambos protocolos se determinaron los valores plasmáticos de glucosa y proteínas totales y los séricos de fructosamina y β OHB.

La *glucosa* sufre una oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno formado reacciona, bajo la catálisis de peroxidasa, con fenol y 4-aminofenazona formando un complejo rojo-violeta, usando la quinoneimina como indicador. Se utilizó un kit Glucose liquicolor[®], Método GOD-PAP, sin desproteinización (Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica, GmbH-Germany), y se leyó en un colorímetro digital (Humalyser Junior, Human GmbH, Germany) a 340 nm.

La *Fser* se dosificó mediante la prueba de reducción del azul de nitrotetrazolio (NBT, nitrotetrazolium blue test). En medio alcalino (pH de la mezcla de reacción = 10,3) la fructosamina contenida en el suero se encuentra en forma de enamínol. Este enamínol, reduce al NBT formando formazano, el cual se mide colorimétricamente a 530 nm. La cinética del desarrollo cromático es proporcional a la concentración de la fructosamina en el suero. La medición se efectúa frente a un estándar que mide la habilidad de las proteínas glicadas totales para efectuar la reducción alcalina del azul de nitrotetrazolio. La condición de alcalinidad previene la interferencia con la reducción de otras sustancias en el suero. Para el análisis se utilizó el kit Fructosamina AA[®] (Wiener Laboratorios, Rosario, Argentina).

El β OHB se dosificó sólo en las semanas P2, P4 y P5 en bovinos y P-2 y P-1 en ovinos, coincidiendo con el período de mayor exigencia para cada especie. Se usó el método enzimático, basado en la oxidación del D-3-hidroxi butirato a acetoacetato por la enzima 3-hidroxi butirato deshidrogenasa. Concomitantemente con esta oxidación el cofactor NAD es reducido a NADH y el cambio de absorbancia asociado puede ser directamente correlacionado con la concentración de β OHB. Se empleó el kit Rambut[®] D-3-Hydroxybutyrate-RB 1007 (Randox Laboratories Ltd., UK), y se leyó en el colorímetro digital a 340 nm.

Las *proteínas totales* presentes en la muestra reaccionan con los iones cobre en medio alcalino, originando un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría. Se empleó el kit Proteína Biuret[®] (Bio Systems, España) y se leyó a 540 nm.

Estudios de correlación y tratamiento estadístico

A los efectos de verificar la hipótesis de la posible estimación retrospectiva de la glicemia a partir de los valores actuales de *Fser*, se investigó la existencia de asociación lineal entre ambos parámetros mediante análisis de regresión, tomando la glicemia como variable independiente. Se determinó el coeficiente de correlación de Pearson (r) y se evaluó la significación mediante el test “t” de Student, asumiendo que la distribución no se aleja de la normalidad por tratarse de valores séricos. Se empleó Excel Microsoft[®] y el nivel de rechazo de la hipótesis nula fue $P < 0,05$. Tomando como vida media de la albúmina los 16,5 días propuestos por Cornelius *et al.* (1962) para el bovino y los 14,3 días propuestos por Campbell *et al.* (1961) para ovinos, se decidió explorar esa hipótesis en el rango de 1 a 3 semanas precedentes a

la determinación de la *Fser* en ambas especies. Se realizó entonces, para cada animal, un análisis de regresión lineal entre los valores de glicemia de cada semana y los de *Fser* de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores. A efectos de poder comparar con las publicaciones ya citadas, se estudió también la correlación entre los valores de ambos parámetros en la misma semana. La significación estadística de las diferencias entre los valores de glicemia de cada uno de los tres grupos experimentales de ovinos, así como entre los valores de las Tablas V y XI y de las Figuras 1, 3, 5, 7 y 8, se determinó mediante el test “t” de Student.

RESULTADOS

Vacas

Los valores de glicemia y *Fser* obtenidos de las 17 vacas fueron ordenados en relación a la semana del parto a fin de hacerlos comparables entre sí (Tabla I). Sus promedios semanales (últimas filas de la tabla) se grafican en la Figura 1. La glicemia promedio del conjunto de vacas fue de $60,3 \pm 8,8$ mg/dL (rango 45-79) previo al parto (semanas P-1 a P-3) y de $60,1 \pm 8,4$ mg/dL (rango 40-81) posterior al parto (semanas P1 a P5). La *Fser* promedio de las 9 semanas del ensayo fue de 271 ± 55 μ mol/L (rango 152-423), siendo su promedio preparto 303 ± 63 (P-1 a P-3) y posparto 251 ± 44 (P1 a P5) μ mol/L. No se encontró ninguna correlación significativa entre ambos parámetros en la misma semana, ni considerando todo el ensayo (9 semanas, $r = 0,001$) ni en el preparto (P-3 a P-1, $r = 0,04$) ni en el posparto (P1 a P5, $r = 0,11$).

Los resultados por vaca de las regresiones lineales establecidas entre los valores de glicemia de cada semana (P-3 a P4) y los de *Fser* de G+1, G+2 y G+3 se indican en la Tabla II. La glicemia de P3 solo se compara con *Fser* G+1 y G+2, en tanto que la glicemia P4 solo se compara con *Fser* G+1 (la glicemia P5 no se puede utilizar para esta relación). El promedio de los valores de r para todas las vacas fue de $0,28 \pm 0,23$ para G+1, $0,42 \pm 0,28$ para G+2 y $0,38 \pm 0,23$ para G+3. Con igual criterio, en la Figura 2 se relacionaron los valores semanales de glicemia de todos los animales con sus respectivas *Fser* de G+1, G+2 y G+3. En la Tabla III se desglosaron por semana (P-3 a P3) los coeficientes de correlación de glicemia vs *Fser* G+1 a G+3, para el conjunto de vacas.

Tabla I. Valores individuales semanales de glicemia (gli, mg/dL) y de fructosamina sérica (*Fser*, $\mu\text{mol/L}$) ordenados en relación a la semana del parto (P).

Vaca	Parámetro	Semanas con respecto al parto								
		P-3	P-2	P-1	P	P1	P2	P3	P4	P5
49	gli	-	48	58	74	67	69	58	63	60
	<i>Fser</i>	-	301	402	270	235	251	294	221	214
112	gli	56	54	72	68	76	55	63	60	41
	<i>Fser</i>	301	319	337	255	272	294	277	227	152
691	gli	59	74	70	78	40	63	49	41	-
	<i>Fser</i>	388	346	261	285	266	240	220	286	-
709	gli	-	56	58	77	69	81	63	72	66
	<i>Fser</i>	-	238	270	295	274	306	322	372	279
827	gli	54	75	73	73	47	65	67	42	-
	<i>Fser</i>	250	329	216	258	308	246	181	210	-
932	gli	60	56	78	72	59	51	60	65	48
	<i>Fser</i>	406	291	371	312	326	336	290	279	280
961	gli	56	59	79	59	66	58	65	62	52
	<i>Fser</i>	357	360	295	274	292	329	290	298	297
993	gli	-	51	68	62	67	71	50	63	71
	<i>Fser</i>	-	343	319	287	261	278	329	246	266
1028	gli	46	62	66	57	68	62	67	69	55
	<i>Fser</i>	364	319	312	305	272	287	246	279	274
1072	gli	47	61	70	-	68	50	56	62	46
	<i>Fser</i>	294	207	295	-	204	266	183	194	251
1092	gli	53	57	66	-	60	63	61	64	50
	<i>Fser</i>	231	207	304	-	211	238	195	220	175
1106	gli	48	56	60	51	69	64	71	69	45
	<i>Fser</i>	280	423	396	223	204	266	227	220	198
1116	gli	-	61	57	66	53	71	51	60	56
	<i>Fser</i>	-	259	284	261	216	245	308	296	246
1154	gli	-	55	67	62	-	64	54	62	55
	<i>Fser</i>	189	263	165	-	231	246	188	222	-
1169	gli	56	71	62	-	54	-	65	52	-
	<i>Fser</i>	305	202	255	-	238	-	246	245	-
1197	gli	53	52	78	57	64	54	60	69	50
	<i>Fser</i>	420	360	346	274	217	189	170	201	222
1235	gli	45	54	63	82	64	47	59	-	-
	<i>Fser</i>	264	281	329	235	245	245	246	-	227
Promedio ± DS	gli	53±5	60±8	67±7	67±10	62±9	61±9	60±6	62±8	53±9
	<i>Fser</i>	311±71	297±62	303±61	272±26	251±37	266±38	248±53	251±47	237±44

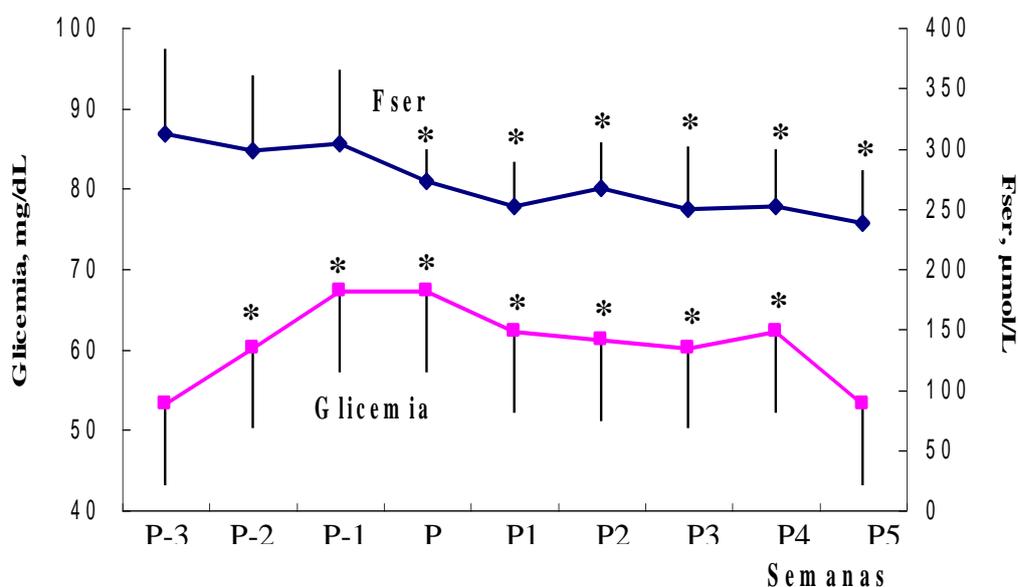


Figura 1. Evolución de la glicemia (mg/dL) y de la Fser ($\mu\text{mol/L}$) a lo largo de las 9 semanas del ensayo (P-3 a P5). Valores = promedios semanales \pm DS, $n = 17$, * = $p < 0,01$ con respecto a P-3, test “t” de Student.

Tabla II. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los valores de glicemia y los de *Fser* de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, para cada uno de los animales.

Vaca	Semana	r	p	Vaca	Semana	r	p
49	G+1	0,51	0,14	1072	G+1	0,77	0,02
	G+2	0,04	0,93		G+2	0,65	0,09
	G+3	0,36	0,46		G+3	0,17	0,82
112	G+1	0,13	0,75	1092	G+1	0,39	0,35
	G+2	0,10	0,82		G+2	0,71	0,04
	G+3	0,30	0,53		G+3	0,16	0,79
691	G+1	0,10	0,82	1106	G+1	0,57	0,09
	G+2	0,10	0,82		G+2	0,74	0,01
	G+3	0,75	0,03		G+3	0,08	0,87
709	G+1	0,06	0,88	1116	G+1	0,13	0,74
	G+2	0,54	0,15		G+2	0,16	0,72
	G+3	0,24	0,64		G+3	0,24	0,64
827	G+1	0,17	0,69	1154	G+1	0,03	0,95
	G+2	0,11	0,81		G+2	0,46	0,31
	G+3	0,32	0,51		G+3	0,88	0,03
932	G+1	0,01	0,98	1169	G+1	0,57	0,35
	G+2	0,44	0,27		G+2	0,85	0,04
	G+3	0,44	0,34		G+3	0,27	0,82
993	G+1	0,08	0,84	1197	G+1	0,25	0,54
	G+2	0,09	0,84		G+2	0,42	0,29
	G+3	0,41	0,39		G+3	0,50	0,24
1028	G+1	0,36	0,35	1235	G+1	0,42	0,37
	G+2	0,77	0,01		G+2	0,55	0,18
	G+3	0,30	0,54		G+3	0,71	0,10

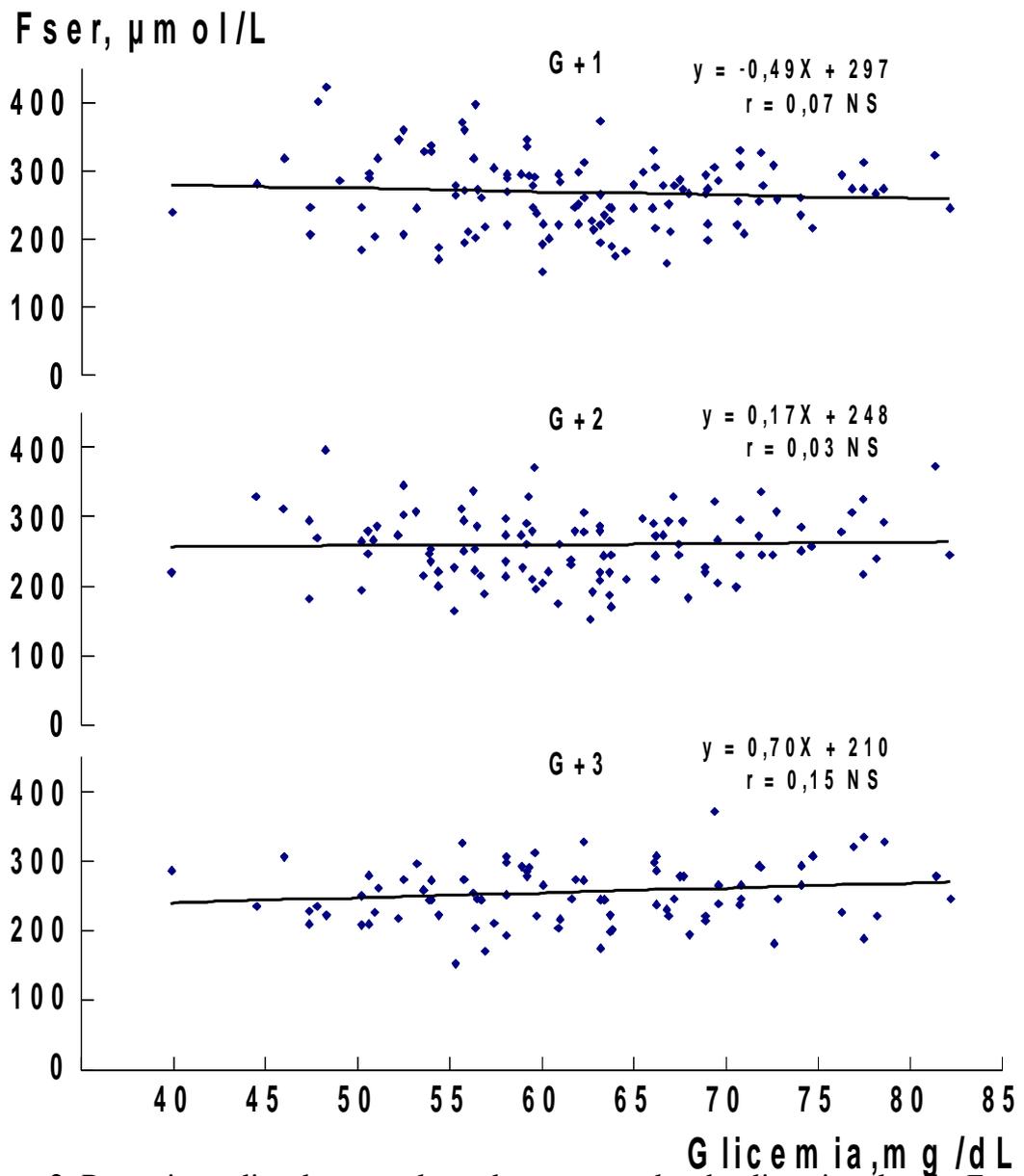


Figura 2. Regresiones lineales entre los valores semanales de glicemia y los de *Fser* desfasados una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas, para el conjunto de vacas (n = 17).

Tabla III. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los valores de glicemia y los de *Fser* de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, expresados por semana (P-3 a P3), para el conjunto de vacas.

Semana de glicemia	Semana de <i>Fser</i>	r	P
P-3	G+1	0,01	0,96
	G+2	0,25	0,39
	G+3	0,44	0,09
P-2	G+1	0,76	0,01
	G+2	0,06	0,83
	G+3	0,17	0,48
P-1	G+1	0,28	0,31
	G+2	0,50	0,01
	G+3	0,19	0,45
P	G+1	0,32	0,24
	G+2	0,08	0,78
	G+3	0,15	0,61
P1	G+1	0,34	0,16
	G+2	0,27	0,27
	G+3	0,07	0,78
P2	G+1	0,49	0,02
	G+2	0,55	0,01
	G+3	0,14	0,62
P3	G+1	0,10	0,70
	G+2	0,12	0,68
	G+3	0,55	0,37

Al no poderse deducir de estos resultados la existencia de una correlación retrospectiva significativa entre glicemia y *Fser*, se pensó en la posibilidad de que la población total enmascarase algún subconjunto donde esa correlación pudiese expresarse en forma significativa. Se decidió entonces agrupar los animales buscando establecer diferencias en cuanto a su estado metabólico y/o su esfuerzo energético. Los parámetros elegidos para establecer esas diferencias fueron: la glicemia promedio a lo largo de las nueve semanas del ensayo (9S), las glicemias promedio de las semanas P3 y P4 (periodo crítico por alcanzarse la máxima producción de leche), las concentraciones sanguíneas de β OHB (indicadores indirectos de lipomovilización) y la producción láctea durante el ensayo (resultante del esfuerzo metabólico del animal). Para cada parámetro se repartieron las vacas en dos grupos: alto y bajo nivel, tomando la mediana de los valores como punto divisorio.

El perfil individual de cada vaca se indica en la Tabla IV. En la Tabla V se observan los valores promedio de las características que componen los perfiles de la tabla anterior, para los grupos de alto y bajo nivel en los cuatro agrupamientos realizadas. Trece de las 17 vacas mantuvieron el mismo nivel en los cuatro agrupamientos. Las Tablas VI a IX muestran, para los dos niveles de los cuatro

agrupamientos, la correlación entre las glicemias semanales y los correspondientes *Fser* G+1, G+2 y G+3.

Tabla IV. Características individuales (peso, número de lactancia, producción de leche, glicemias y concentraciones séricas de β OHB) de las vacas estudiadas.

Vaca	Peso (kg)	Número de lactancia	Producción de leche ¹ (L/día)	Glicemia ² (mg/dL)	Glicemia P3-4 ³ (mg/dL)	β OHB ⁴ (mmol/L)
49	600	8	27,5	60,4 ± 8,7	60,5	0,58 ± 0,19
112	480	6	23,0	60,6 ± 8,2	61,5	0,61 ± 0,34
691	500	9	26,0	58,9 ± 13,8	45,0	0,26 ± 0,03
709	600	9	29,5	65,5 ± 10,0	67,5	0,43 ± 0,18
827	600	9	22,0	59,9 ± 13,1	54,5	0,48 ± 0,30
932	550	8	22,0	60,8 ± 8,7	62,5	0,55 ± 0,19
961	500	8	35,0	61,9 ± 7,2	63,5	0,49 ± 0,23
993	500	8	23,0	61,1 ± 8,1	56,5	0,48 ± 0,04
1028	600	8	24,5	61,2 ± 7,6	68,0	0,44 ± 0,16
1072	520	7	30,0	60,8 ± 8,4	59,0	0,73 ± 0,33
1092	550	7	14,0	59,3 ± 4,6	62,5	0,46 ± 0,14
1106	600	7	20,0	59,2 ± 8,5	70,0	0,36 ± 0,09
1116	550	7	20,0	57,4 ± 7,4	55,5	0,42 ± 0,03
1154	600	6	16,5	58,6 ± 5,8	58,0	0,48 ± 0,22
1169	500	6	19,0	60,7 ± 6,7	58,5	0,52 ± 0,04
1197	550	6	22,0	59,6 ± 8,9	64,5	0,46 ± 0,08
1235	550	5	23,0	59,2 ± 12,6	59,0	0,61 ± 0,04

¹ Valores estimados por el control lechero mensual, para el período del ensayo

² Valores promedio de las 9 semanas del ensayo

³ Valores promedio de las semanas P3 y P4

⁴ Valores promedio de las semanas P2, P4 y P5

Tabla V. Promedios de peso corporal, número de lactancia, producción de leche, glicemia 9S, glicemia P3-4 y concentraciones séricas de β OHB, para los niveles alto y bajo correspondientes a los criterios de agrupamiento glicemia 9S, glicemia P3-4, β OHB y producción láctea (valores en negrita = parámetros determinantes de los agrupamientos).

Niveles y agrupamientos	Peso (kg)	Número de lactancia	Producción de leche ¹ (L/día)	Glicemia 9S ² (mg/dL)	Glicemia P3-4 ³ (mg/dL)	β OHB ⁴ (mmol/L)
<i>Bajo</i>						
Glicemia 9S	563 ± 35	7,0 ± 1,4	20,4 ± 3,8**	59,0 ± 0,8**	58,6 ± 7,5	0,44 ± 0,10*
Glicemia P3-4	540 ± 42	7,1 ± 1,5	22,4 ± 4,2	59,6 ± 1,3*	55,8 ± 4,7**	0,50 ± 0,14
β OHB	565 ± 41*	7,6 ± 1,2	21,8 ± 4,5*	60,1 ± 2,2	60,2 ± 7,7	0,43 ± 0,07**
Prod. láctea	563 ± 35	7,0 ± 1,1	19,4 ± 2,9**	59,4 ± 1,1*	60,8 ± 5,1	0,47 ± 0,06
<i>Alto</i>						
Glicemia 9S	539 ± 50	7,6 ± 1,0	25,9 ± 5,0	61,4 ± 1,6	61,9 ± 3,9	0,54 ± 0,09
Glicemia P3-4	559 ± 56	7,4 ± 1,0	24,2 ± 6,0	60,9 ± 1,9	64,5 ± 3,3	0,49 ± 0,08
β OHB	529 ± 41	6,9 ± 1,2	25,6 ± 5,5	60,6 ± 0,8	60,6 ± 1,9	0,58 ± 0,08
Prod. láctea	544 ± 47	7,6 ± 1,3	26,8 ± 4,1	61,1 ± 1,9	60,1 ± 6,8	0,51 ± 0,14

¹ Valores estimados por el control lechero mensual, para el período del ensayo

² Valores promedio de las 9 semanas del ensayo

³ Valores promedio de las semanas P3 y P4

⁴ Valores promedio de las semanas P2, P4 y P5

* = p<0,05 ** = p<0,01 test "t" de Student entre niveles

Tabla VI. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los valores promedio semanales (P-2 a P3) de glicemia y los de *Fser* de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, para los niveles de alta y baja glicemia promedio de las 9 semanas de ensayo (9S).

Parámetro de agrupación: Glicemia 9S					
Semana de glicemia	Semana de <i>Fser</i>	Nivel bajo		Nivel alto	
		r	p	r	p
P-2	G+1	0,74	0,01	0,74	0,01
	G+2	0,47	0,28	0,44	0,18
	G+3	0,77	0,01	0,17	0,66
P-1	G+1	0,56	0,17	0,02	0,94
	G+2	0,44	0,22	0,54	0,08
	G+3	0,70	0,01	0,66	0,02
P	G+1	0,65	0,08	0,06	0,89
	G+2	0,13	0,80	0,07	0,88
	G+3	0,15	0,70	0,47	0,22
P1	G+1	0,02	0,95	0,37	0,33
	G+2	0,10	0,81	0,12	0,74
	G+3	0,59	0,10	0,02	0,95
P2	G+1	0,36	0,34	0,66	0,03
	G+2	0,63	0,06	0,56	0,09
	G+3	0,04	0,94	0,15	0,71
P3	G+1	0,38	0,36	0,44	0,19
	G+2	0,04	0,95	0,07	0,85

Tabla VII. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los valores promedio semanales (P-2 a P3) de glicemia y los de *Fser* de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, para los niveles de alto y bajo promedio de glicemia de las semanas P3-4.

Parámetro de agrupación: Glicemia P3-4					
Semana de glicemia	Semana de <i>Fser</i>	Nivel bajo		Nivel alto	
		r	p	r	p
P-2	G+1	0,70	0,01	0,57	0,05
	G+2	0,17	0,77	0,27	0,48
	G+3	0,39	0,28	0,27	0,45
P-1	G+1	0,32	0,57	0,24	0,54
	G+2	0,60	0,05	0,44	0,18
	G+3	0,24	0,58	0,14	0,71
P	G+1	0,14	0,81	0,47	0,14
	G+2	0,70	0,09	0,33	0,34
	G+3	0,68	0,11	0,76	0,01
P1	G+1	0,67	0,03	0,14	0,71
	G+2	0,14	0,72	0,33	0,34
	G+3	0,52	0,13	0,08	0,83
P2	G+1	0,61	0,08	0,37	0,28
	G+2	0,68	0,06	0,52	0,10
	G+3	0,66	0,22	0,12	0,75
P3	G+1	0,62	0,07	0,15	0,69
	G+2	0,79	0,09	0,09	0,80

Tabla VIII. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los valores promedio semanales (P-2 a P3) de glicemia y los de $Fser$ de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, para los niveles de alto y bajo β OHB sérico promedio de las semanas P2, P4 y P5.

<i>Parámetro de agrupación: βOHB</i>					
Semana de glicemia	Semana de $Fser$	Nivel bajo		Nivel alto	
		r	p	r	p
P-2	G+1	0,67	0,01	0,91	0,02
	G+2	0,01	0,97	0,19	0,74
	G+3	0,51	0,08	0,17	0,71
P-1	G+1	0,27	0,54	0,54	0,27
	G+2	0,26	0,54	0,71	0,02
	G+3	0,60	0,02	0,92	0,01
P	G+1	0,62	0,04	0,49	0,34
	G+2	0,14	0,73	0,73	0,07
	G+3	0,18	0,66	0,65	0,08
P1	G+1	0,40	0,20	0,21	0,67
	G+2	0,28	0,40	0,03	0,94
	G+3	0,05	0,88	0,36	0,45
P2	G+1	0,84	0,01	0,54	0,19
	G+2	0,78	0,01	0,05	0,92
	G+3	0,53	0,15	0,16	0,74
P3	G+1	0,24	0,47	0,65	0,08
	G+2	0,25	0,57	0,08	0,92

Tabla IX. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los valores promedio semanales (P-2 a P3) de glicemia y los de $Fser$ de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, para los niveles de alta y baja producción láctea.

<i>Parámetro de agrupación: Producción láctea</i>					
Semana de glicemia	Semana de $Fser$	Nivel bajo		Nivel alto	
		r	p	r	p
P-2	G+1	0,80	0,01	0,74	0,01
	G+2	0,19	0,75	0,36	0,34
	G+3	0,32	0,41	0,14	0,70
P-1	G+1	0,68	0,11	0,33	0,56
	G+2	0,61	0,05	0,32	0,37
	G+3	0,09	0,84	0,40	0,23
P	G+1	0,84	0,01	0,56	0,09
	G+2	0,42	0,42	0,63	0,04
	G+3	0,29	0,61	0,22	0,59
P1	G+1	0,03	0,94	0,54	0,08
	G+2	0,20	0,62	0,38	0,27
	G+3	0,29	0,46	0,17	0,68
P2	G+1	0,21	0,63	0,66	0,03
	G+2	0,18	0,67	0,32	0,40
	G+3	0,39	0,48	0,33	0,40
P3	G+1	0,67	0,02	0,10	0,79
	G+2	0,47	0,19	0,20	0,62

Los valores individuales de las proteinemias en las 9 semanas del ensayo y los promedios semanales del conjunto de animales se muestran en la Tabla X. La evolución de los promedios se grafica en la Figura 3.

Tabla X. Proteinemias (g/dL) individuales semanales (P-3 a P5) y sus promedios, para el conjunto de animales.

Vacas	Proteinemias (g/dL)								
	Semanas en relación al parto								
	P-3	P-2	P-1	P	P1	P2	P3	P4	P5
49	–	7,1	6,1	5,0	6,1	7,9	9,3	7,1	7,7
112	5,2	5,0	3,9	5,8	5,6	7,6	7,3	6,5	8,0
691	6,5	5,3	5,3	7,1	8,0	7,4	7,2	7,6	–
709	–	5,8	6,7	7,1	5,8	7,4	8,1	7,2	7,4
827	6,5	5,2	4,9	7,4	5,3	7,0	7,4	7,8	–
932	5,5	7,9	5,1	6,3	5,1	5,8	7,8	6,9	7,3
961	8,1	5,5	4,5	5,6	5,4	5,8	5,4	6,9	6,6
993	–	6,2	6,5	4,9	6,1	5,1	6,3	7,6	7,7
1028	5,2	3,0	4,5	4,7	9,0	6,6	5,4	7,1	6,8
1072	6,0	5,5	5,4	–	7,6	7,3	5,1	6,7	7,3
1092	7,6	6,2	5,4	–	5,4	6,8	8,2	8,2	8,4
1106	5,7	5,1	5,9	6,8	9,0	7,5	7,2	7,1	7,1
1116	–	6,4	5,1	5,4	6,5	6,5	8,9	6,9	5,1
1154	6,2	6,2	–	–	6,2	7,3	5,3	7,2	–
1169	7,0	5,7	4,2	–	5,0	–	8,5	6,7	–
1197	5,2	7,3	5,2	5,3	7,4	6,1	5,9	6,8	7,2
1235	5,5	5,1	4,4	5,7	7,4	5,7	6,7	–	6,5
Promedio	6,2	5,8	5,2	5,9	6,5	6,7	7,1	7,1	7,2
± DS	0,9	1,1	0,8	0,9	1,3	0,8	1,3	0,4	0,8

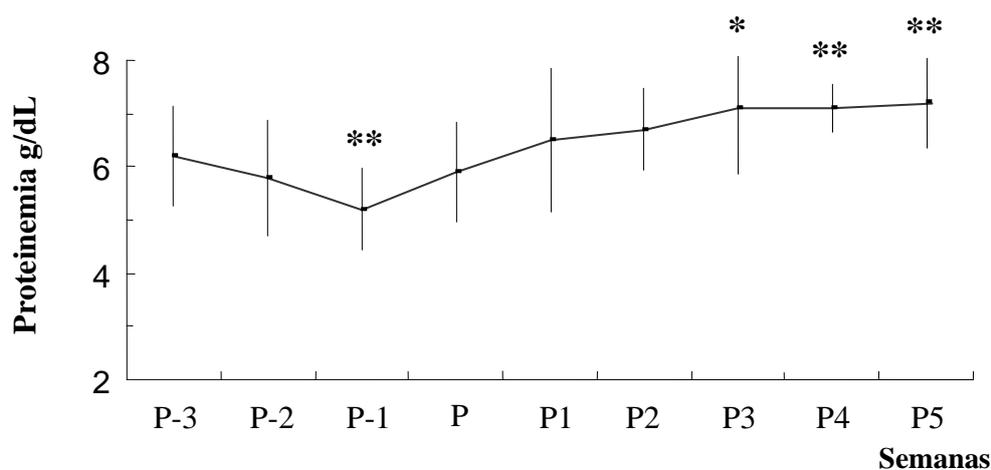


Figura 3. Evolución de la proteinemia (promedios semanales del conjunto de vacas, g/dL) durante las nueve semanas del ensayo (P-3 a P5). * = $p < 0,05$ ** = $p < 0,01$ en relación a P-3, test “t” de Student.

Los datos relativos a la evolución del β OHB sérico se agrupan en la Tabla XI. La regresión lineal entre β OHB y glicemia (Figura 4a) muestra una correlación inversa significativa ($r = -0,55$, $p < 0,05$). Por el contrario, no se halló correlación significativa entre β OHB y producción láctea (Figura 4b).

Tabla XI. Concentraciones séricas individuales y promedios por semana y por animal de β OHB (mmol/L) en las semanas P2, P4 y P5.

Vacas	β OHB (mmol/L)			
	Semanas en relación al parto			Promedio por vaca
	P2	P4	P5	
49	0,43	0,81	0,66	$0,58 \pm 0,19$
112	1,00	0,40	0,43	$0,61 \pm 0,34$
691	0,24	0,28	-	$0,26 \pm 0,03$
709	0,64	0,35	0,31	$0,43 \pm 0,18$
827	0,69	0,27	-	$0,48 \pm 0,30$
932	0,77	0,48	0,40	$0,55 \pm 0,19$
961	0,76	0,40	0,32	$0,49 \pm 0,23$
993	0,41	0,42	0,48	$0,48 \pm 0,04$
1028	0,63	0,33	0,37	$0,44 \pm 0,16$
1072	1,11	0,52	0,55	$0,73 \pm 0,33$
1092	0,58	0,31	0,48	$0,46 \pm 0,14$
1106	0,35	0,27	0,45	$0,36 \pm 0,09$
1116	0,40	0,45	0,40	$0,42 \pm 0,03$
1154	0,32	0,63	-	$0,48 \pm 0,22$
1169	0,56	0,52	0,48	$0,52 \pm 0,04$
1197	0,43	0,39	0,55	$0,46 \pm 0,08$
1235	0,61	0,65	0,57	$0,61 \pm 0,04$
Promedio \pm DS	$0,59 \pm 0,24^*$	$0,43 \pm 0,14$	$0,45 \pm 0,10$	$0,49 \pm 0,11$

* = $p < 0,05$ entre semanas, test "t" de Student

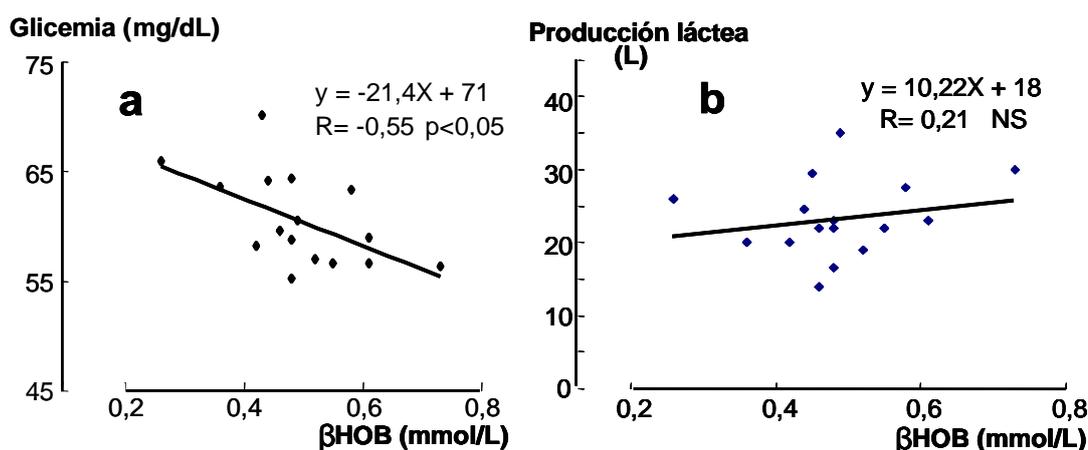


Figura 4. Regresiones lineales entre los valores individuales promedio de β OHB (mmol/L) de las semanas P2, P4 y P5 y la glicemia individual promedio (mg/dL) de las semanas P1 a P5 (a), y los promedios de producción láctea diaria (L) para igual período (b).

Ovejas

Los valores de glicemia y *Fser* obtenidos de las 23 ovejas que integraron nuestro ensayo, así como los promedios grupales, ordenados en relación a la semana de parto, se indican en las Tablas XIIa, XIIb y XIIc, para los tres grupos experimentales. Se halló una diferencia significativa ($p < 0,05$) entre la glicemia promedio del grupo P_{bajo} y la de los otros dos. Los rangos de variación de los promedios glicémicos semanales fueron de 49 a 76, 65 a 78 y 64 a 78 mg/dL para los grupos P_{bajo} , P_{medio} y P_{alto} respectivamente. La evolución de la glicemia para cada uno de los grupos experimentales se observa en la Figura 5. El valor promedio de *Fser* para las 23 ovejas durante las 11 semanas del ensayo fue de 272 ± 83 $\mu\text{mol/L}$. La *Fser* promedio del grupo P_{alto} fue significativamente inferior a la de los otros dos grupos ($p < 0,05$), los cuales no resultaron estadísticamente diferentes entre sí.

Considerando los datos de glicemia y *Fser* de la misma semana, no se halló correlación significativa ni tomando el conjunto de animales ($r = 0,12$) ni para cada grupo experimental por separado ($r = 0,13, 0,22$ y $0,03$ para los grupos P_{bajo} , P_{medio} y P_{alto} respectivamente). Tampoco se encontró significación expresando esa correlación para cada semana en cada plano de alimentación, con la excepción (para $p < 0,05$) de la semana P-3 en P_{bajo} ($r = 0,60$) y P_{alto} ($r = 0,65$).

Tabla XIIa. Valores individuales semanales y promedio grupal de glicemia (gli, mg/dL) y de fructosamina sérica (*Fser*, $\mu\text{mol/L}$) ordenados en relación a la semana del parto (P), para el grupo P_{bajo} .

Grupo P_{bajo}													
Oveja	Parámetro	Semanas con respecto al parto											Promedio \pm DS
		P-7	P-6	P-5	P-4	P-3	P-2	P-1	P	P1	P2	P3	
7066	gli	68	72	60	51	51	66	61	54	53	76	77	63 \pm 10
	<i>Fser</i>	149	429	246	304	234	385	379	379	391	309	309	319 \pm 84
7106	gli	-	52	63	58	94	64	19	53	55	48	99	61 \pm 23
	<i>Fser</i>	-	190	-	208	315	219	183	221	202	189	335	229 \pm 56
7135	gli	59	17	98	76	45	29	65	82	61	65	68	60 \pm 23
	<i>Fser</i>	231	309	253	347	336	303	322	335	385	335	347	318 \pm 44
7156	gli	-	63	62	85	77	59	26	54	64	62	70	62 \pm 16
	<i>Fser</i>	-	231	-	379	352	208	246	366	366	272	-	303 \pm 70
7161	gli	72	-	79	-	87	85	65	65	-	78	71	75 \pm 8
	<i>Fser</i>	225	-	164	240	360	331	256	316	436	410	354	302 \pm 81
7177	gli	41	87	76	55	56	26	77	68	62	82	60	63 \pm 18
	<i>Fser</i>	102	144	246	341	256	215	253	271	309	303	398	258 \pm 84
7184	gli	-	-	92	76	52	31	73	90	90	91	81	75 \pm 21
	<i>Fser</i>	-	181	385	197	251	234	373	322	234	284	303	276 \pm 70
C 03	gli	-	61	77	59	53	26	40	53	60	73	59	56 \pm 15
	<i>Fser</i>	-	158	335	315	203	253	316	322	221	265	328	272 \pm 62
Promedios gli \pm DS		60	59	76	66	65	49	54	65	64	72	74	64 18
Promedios <i>Fser</i> \pm DS		177	235	272	291	288	269	291	317	318	296	339	285 74

Tabla XIIb. Valores individuales semanales y promedio grupal de glicemia (gli, mg/dL) y de fructosamina sérica (*Fser*, $\mu\text{mol/L}$) ordenados en relación a la semana del parto (P), para el grupo P_{medio} .

Grupo P_{medio}													
Oveja	Parámetro	Semanas con respecto al parto											Promedio \pm DS
		P-7	P-6	P-5	P-4	P-3	P-2	P-1	P	P1	P2	P3	
432	gli	65	71	55	69	52	41	27	84	86	88	82	65 ± 20
	<i>Fser</i>	179	118	189	-	182	195	169	335	379	293	493	253 ± 118
480	gli	-	76	61	53	68	93	81	58	69	61	75	70 ± 12
	<i>Fser</i>	-	-	134	228	143	179	379	202	229	316	360	241 ± 91
7085	gli	72	65	88	59	70	70	49	52	36	69	59	63 ± 14
	<i>Fser</i>	143	207	287	179	379	187	320	347	309	436	253	277 ± 92
7127	gli	53	64	70	40	69	72	66	83	88	81	60	68 ± 14
	<i>Fser</i>	164	223	298	149	392	352	331	366	429	379	398	316 ± 97
7154	gli	67	72	57	96	-	75	45	85	82	74	87	74 ± 15
	<i>Fser</i>	186	218	231	192	373	336	245	278	290	360	379	272 ± 69
7165	gli	99	78	76	70	75	65	51	75	81	67	61	73 ± 12
	<i>Fser</i>	208	170	143	304	366	341	261	404	511	423	278	310 ± 113
C 39	gli	114	84	107	67	68	106	59	72	70	76	-	82 ± 20
	<i>Fser</i>	195	288	215	170	385	315	235	234	278	316	-	263 ± 65
Promedios gli		78	73	73	65	67	60	57	72	72	76	70	70
\pm DS		23	7	19	17	8	21	17	13	18	9	12	16
Promedios <i>Fser</i>		179	194	227	190	322	301	252	313	359	369	360	276
\pm DS		23	58	54	59	97	77	59	67	86	52	87	93

Tabla XIIc. Valores individuales semanales y promedio grupal de glicemia (gli, mg/dL) y de fructosamina sérica (*Fser*, $\mu\text{mol/L}$) ordenados en relación a la semana del parto (P), para el grupo P_{alto} .

<i>Grupo P_{alto}</i>		Semanas con respecto al parto											Promedio \pm DS
Oveja	Parámetro	P-7	P-6	P-5	P-4	P-3	P-2	P-1	P	P1	P2	P3	
409	gli	68	67	77	67	82	70	74	60	75	66	69	70 \pm 6
	<i>Fser</i>	-	278	210	144	265	224	261	322	173	303	246	243 \pm 56
414	gli	78	55	70	39	87	73	60	58	64	74	77	67 \pm 13
	<i>Fser</i>	177	208	169	169	309	309	251	290	290	316	297	253 \pm 61
429	gli	-	54	84	70	72	79	57	53	64	54	-	65 \pm 12
	<i>Fser</i>	-	142	169	-	316	277	309	335	347	240	-	267 \pm 77
430	gli	-	74	69	92	71	68	75	98	67	51	67	73 \pm 13
	<i>Fser</i>	-	177	208	169	169	259	309	251	385	234	208	237 \pm 69
443	gli	78	47	104	81	88	90	75	67	88	75	78	79 \pm 15
	<i>Fser</i>	190	162	200	293	221	240	176	303	234	170	208	218 \pm 47
444	gli	-	68	61	61	50	74	76	78	63	68	65	66 \pm 8
	<i>Fser</i>	-	121	172	-	179	354	331	245	385	341	391	280 \pm 102
458	gli	-	63	72	96	55	81	91	91	63	109	68	79 \pm 17
	<i>Fser</i>	-	173	152	154	117	265	299	331	391	398	366	265 \pm 108
475	gli	84	81	65	-	81	82	47	59	39	67	63	67 \pm 16
	<i>Fser</i>	130	123	149	142	240	240	256	347	341	354	354	243 \pm 96
Promedios gli \pm DS		77	64	75	73	74	78	70	71	66	71	70	72
		7	11	14	20	14	7	14	17	14	18	6	13
Promedios <i>Fser</i> \pm DS		166	173	179	179	227	271	274	303	318	295	296	249
		32	51	24	57	70	43	49	38	80	75	77	77

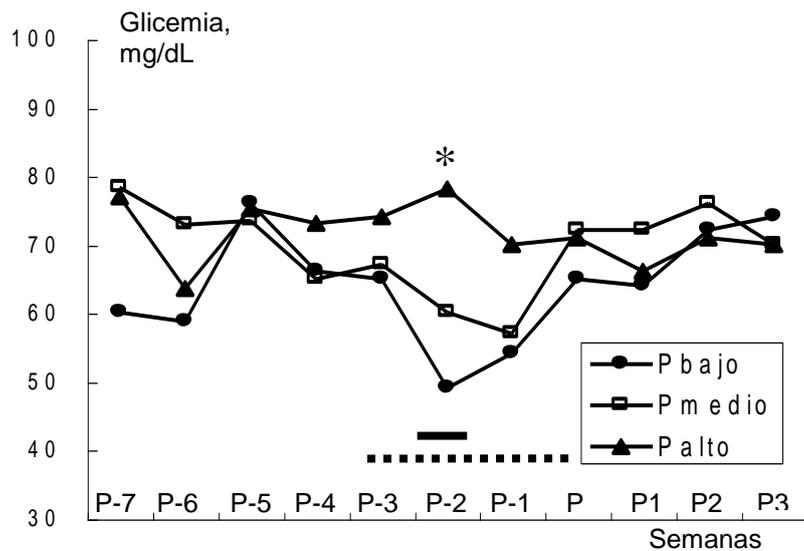


Figura 5. Evolución de la glicemia en los tres grupos experimentales. La línea de puntos indica el período de suplementación del grupo P_{alto} y la entera el período de ayuno del grupo P_{bajo} . Valores = promedios semanales intra grupos. * = $P < 0,05$ entre P_{bajo} y P_{medio} y entre P_{bajo} y P_{alto} para la semana P-2, test "t" de Student.

Los resultados del estudio retrospectivo individual de correlación glicemia / *Fser* G+1, G+2 y G+3 se indican en la Tabla XIII. El promedio de los valores de r para todas las ovejas fue de $0,22 \pm 0,33$ para G+1, $0,28 \pm 0,20$ para G+2 y $0,32 \pm 0,19$ para G+3. Los valores individuales de glicemia semanales (P7 a P) de la totalidad de las ovejas (con independencia de los grupos experimentales) (Tabla XIV) y los promedios de glicemia de las semanas P-7 a P (Tabla XV), fueron correlacionados linealmente con los valores de la *Fser* de G+1, G+2 y G+3. En la Figura 6 se grafican, para el conjunto de animales, las relaciones entre los valores individuales semanales de glicemia y sus correspondientes de *Fser* G+1, G+2 y G+3.

Tabla XIII. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los valores de glicemia y los de *Fser* de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, para cada uno de los animales.

Oveja	Semana	r	p	Oveja	Semana	r	p	Oveja	Semana	r	p
409	G+1	0,01	0,78	475	G+1	0,30	0,06	7156	G+1	0,12	0,39
	G+2	0,01	0,97		G+2	0,57	0,08		G+2	0,72	0,02
	G+3	0,44	0,90		G+3	0,50	0,20		G+3	0,08	0,87
414	G+1	0,01	0,80	480	G+1	0,01	0,81	7161	G+1	0,30	0,18
	G+2	0,31	0,35		G+2	0,39	0,29		G+2	0,44	0,33
	G+3	0,21	0,54		G+3	0,11	0,81		G+3	0,05	0,92
429	G+1	0,02	0,75	7066	G+1	0,01	0,97	7165	G+1	0,17	0,21
	G+2	0,41	0,38		G+2	0,08	0,82		G+2	0,71	0,01
	G+3	0,31	0,52		G+3	0,68	0,01		G+3	0,21	0,61
430	G+1	0,13	0,29	7085	G+1	0,70	0,01	7177	G+1	0,23	0,11
	G+2	0,15	0,69		G+2	0,21	0,54		G+2	0,11	0,75
	G+3	0,34	0,34		G+3	0,49	0,12		G+3	0,36	0,31
432	G+1	0,15	0,26	7106	G+1	0,07	0,50	7184	G+1	0,29	0,11
	G+2	0,23	0,53		G+2	0,09	0,83		G+2	0,42	0,26
	G+3	0,02	0,97		G+3	0,31	0,43		G+3	0,16	0,72
443	G+1	0,04	0,56	7127	G+1	0,06	0,46	C03	G+1	1,41	0,99
	G+2	0,29	0,38		G+2	0,26	0,45		G+2	0,34	0,33
	G+3	0,20	0,59		G+3	0,45	0,18		G+3	0,11	0,79
444	G+1	0,01	0,89	7135	G+1	0,64	0,01	C39	G+1	0,20	0,21
	G+2	0,06	0,88		G+2	0,13	0,72		G+2	0,19	0,65
	G+3	0,28	0,47		G+3	0,60	0,04		G+3	0,35	0,41
458	G+1	0,03	0,72	7154	G+1	0,04	0,55				
	G+2	0,36	0,45		G+2	0,02	0,95				
	G+3	0,61	0,05		G+3	0,58	0,05				

Tabla XIV. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los valores de glicemia y los de $Fser$ de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, expresados por semana (P-7 a P), para el conjunto de ovejas.

Semana de glicemia	Semana de $Fser$	r	p
P-7	G+1	0,01	0,94
	G+2	0,43	0,09
	G+3	0,31	0,27
P-6	G+1	0,02	0,53
	G+2	0,29	0,22
	G+3	0,12	0,60
P-5	G+1	0,01	0,83
	G+2	0,27	0,17
	G+3	0,15	0,48
P-4	G+1	0,01	0,64
	G+2	0,37	0,07
	G+3	0,27	0,21
P-3	G+1	0,01	0,75
	G+2	0,54	0,01
	G+3	0,12	0,59
P-2	G+1	0,07	0,17
	G+2	0,23	0,27
	G+3	0,08	0,70
P-1	G+1	0,17	0,02
	G+2	0,09	0,67
	G+3	0,21	0,30
P	G+1	0,10	0,11
	G+2	0,12	0,57
	G+3	0,17	0,45

Tabla XV. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los promedios semanales (P-7 a P) de glicemia y los de $Fser$ de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, para el conjunto de ovejas.

Semanas de $Fser$	r	p
G+1	0,54	0,01
G+2	0,22	0,17
G+3	0,18	0,25

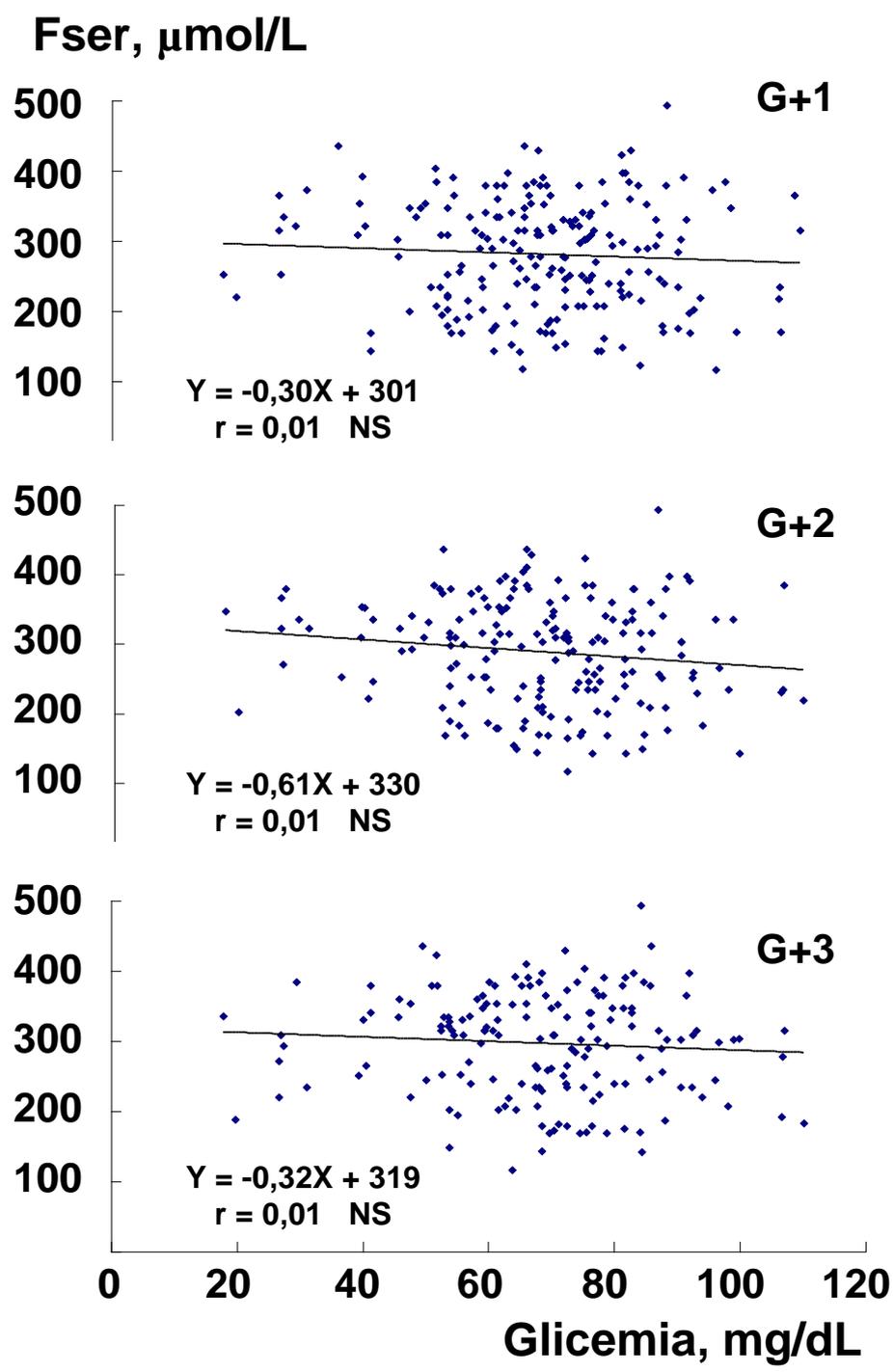


Figura 6. Relación entre los valores semanales de glicemia y los de *Fser* de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, para el conjunto de ovinos (n = 23).

Considerando cada grupo experimental por separado, los valores individuales semanales de glicemia fueron correlacionados linealmente con los de *Fser* de G+1, G+2 y G+3 (Tabla XVI). Esas mismas correlaciones, expresadas por semana de glicemia, se muestran en las Tablas XVII, XVIII y XIX.

Tabla XVI. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los valores individuales semanales de glicemia y los de $Fser$ de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, para los tres grupos experimentales (P_{bajo} , P_{medio} , P_{alto}).

Semanas de $Fser$	P_{bajo}		P_{medio}		P_{alto}	
	r	p	r	p	r	p
G+1	0,05	0,60	0,04	0,74	0,07	0,53
G+2	0,10	0,46	0,08	0,50	0,15	0,21
G+3	0,03	0,85	0,11	0,45	0,29	0,82

Grupo P_{bajo}			
Semana de glicemia	Semana de $Fser$	r	p
P-6	G+1	0,04	0,96
	G+2	0,04	0,93
	G+3	0,52	0,22
P-5	G+1	0,10	0,81
	G+2	0,05	0,90
	G+3	0,01	0,99
P-4	G+1	0,63	0,06
	G+2	0,37	0,99
	G+3	0,02	0,96
P-3	G+1	0,23	0,57
	G+2	0,82	0,01
	G+3	0,47	0,19
P-2	G+1	0,33	0,39
	G+2	0,06	0,88
	G+3	0,47	0,17
P-1	G+1	0,2	0,62
	G+2	0,35	0,36
	G+3	0,67	0,02
P	G+1	0,03	0,94
	G+2	0,34	0,37
	G+3	0,02	0,96

Tabla XVII. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los valores de glicemia y los de $Fser$ de una (G+1), dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, expresados por semana (P-6 a P), para las ovejas del grupo P_{bajo} .

Tabla XVIII. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los valores de glicemia y los de *Fser* de una (G+1) dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, expresados por semana (P-6 a P), para las ovejas del grupo P_{medio} .

<i>Grupo P_{alto}</i>			
Semana de glicemia	Semana de <i>Fser</i>	r	p
P-6	G+1	0,16	0,69
	G+2	0,75	0,02
	G+3	0,34	0,38
P-5	G+1	0,93	0,01
	G+2	0,22	0,58
	G+3	0,46	0,20
P-4	G+1	0,72	0,04
	G+2	0,51	0,24
	G+3	0,08	0,85
P-3	G+1	0,57	0,08
	G+2	0,79	0,01
	G+3	0,32	0,40
P-2	G+1	0,59	0,07
	G+2	0,51	0,14
	G+3	0,07	0,86
P-1	G+1	0,32	0,41
	G+2	0,07	0,85
	G+3	0,10	0,80
P	G+1	0,55	0,09
	G+2	0,13	0,75
	G+3	0,02	0,97

<i>Grupo P_{medio}</i>			
Semana de glicemia	Semana de <i>Fser</i>	r	p
P-6	G+1	0,68	0,03
	G+2	0,27	0,57
	G+3	0,08	0,86
P-5	G+1	0,02	0,96
	G+2	0,58	0,10
	G+3	0,09	0,84
P-4	G+1	0,08	0,85
	G+2	0,09	0,84
	G+3	0,38	0,36
P-3	G+1	0,55	0,18
	G+2	0,62	0,10
	G+3	0,16	0,75
P-2	G+1	0,10	0,85
	G+2	0,71	0,02
	G+3	0,51	0,18
P-1	G+1	0,39	0,35
	G+2	0,09	0,84
	G+3	0,33	0,43
P	G+1	0,31	0,47
	G+2	0,50	0,17
	G+3	0,66	0,08

Tabla XIX. Coeficiente de correlación (r) y significación estadística de las regresiones lineales entre los valores de glicemia y los de *Fser* de una (G+1) dos (G+2) y tres (G+3) semanas posteriores, expresados por semana (P-6 a P), para las ovejas del grupo P_{alto} .

En la Tabla XX se observan las proteinemias individuales con sus promedios semanales, en tanto que la evolución de esos promedios a lo largo del ensayo se grafica en la Figura 7. La proteinemia promedio del conjunto de ovinos fue de $6,9 \pm 1,0$ g/dL (rango individual = 5,1 - 9,0). La valoración del compromiso energético se hizo a través de la dosificación de β OHB, cuyos valores promedio para los tres grupos experimentales en las dos últimas semanas pre-parto (P-2 y P-1) se observan en la Figura 8.

Tabla XX. Proteinemias (g/dL) individuales semanales y sus promedios.

Ovino	Proteinemias g/dL										
	Semanas en relación al parto										
	P-7	P-6	P-5	P-4	P-3	P-2	P-1	P	P1	P2	P3
409	5,4	6,2	5,8	7,9	5,6	6,3	-	7,9	7,9	7,5	6,9
414	-	7,5	5,7	7,2	7,8	5,3	-	8,4	6,8	7,2	5,6
429	5,4	6,4	5,2	5,5	6,2	6,4	-	6,3	5,4	7,4	-
430	-	7,7	5,4	7,8	5,5	6,9	6,3	5,6	-	6,5	7,7
432	7,5	5,7	9,0	-	5,9	6,7	7,1	7,2	6,9	5,7	-
443	6,1	8,1	6,1	8,2	5,4	6,8	-	8,1	5,8	7,1	5,1
444	-	6,5	5,3	-	6,3	6,2	5,7	5,1	-	8,4	6,3
458	-	5,8	5,3	6,9	5,4	5,2	5,6	5,3	-	6,8	7,5
475	5,4	7,9	5,2	6,9	7,1	6,4	-	6,6	5,2	7,6	6,6
480	-	6,2	5,6	6,7	5,8	6,8	6,1	6,3	-	7,7	5,8
7066	8,2	7,5	6,0	-	7,9	8,7	7,6	5,5	7,7	8,0	8,6
7085	6,0	9,0	5,6	8,5	6,2	6,8	-	8,2	8,1	8,2	6,7
7106	7,5	6,2	7,4	6,1	6,9	-	7,1	6,2	8,0	6,8	8,1
7127	6,1	8,0	5,5	7,9	7,8	6,7	-	7,2	6,0	7,0	5,4
7135	5,3	7,7	6,1	7,5	-	7,4	6,0	7,8	6,4	8,0	7,8
7154	5,7	7,6	6,1	7,9	6,2	7,4	-	8,3	5,9	7,9	6,9
7156	8,7	-	8,0	7,2	7,9	-	7,6	6,9	8,9	6,2	7,7
7161	-	7,5	6,0	6,4	6,4	6,7	7,9	6,9	6,4	8,1	6,3
7165	6,4	8,1	6,6	7,9	6,9	7,2	-	7,2	7,5	8,7	6,4
7177	6,7	7,7	7,7	6,7	-	7,7	6,1	8,3	6,0	7,9	8,0
7184	5,1	6,9		6,5	-	6,6	6,6	7,3	6,0	7,4	6,0
C03	5,4	7,4		6,3	-	6,7	6,9	7,4	5,4	7,1	7,2
C30	5,6	7,5	6,2	7,1	6,1	6,5	-	6,8	5,9	7,9	-
Promedio	6,3	7,2	6,2	7,2	6,4	6,7	6,7	7,0	6,6	7,4	6,8
± DS	1,1	0,9	1,1	0,8	1,0	0,7	0,8	1,0	1,1	0,7	1,0

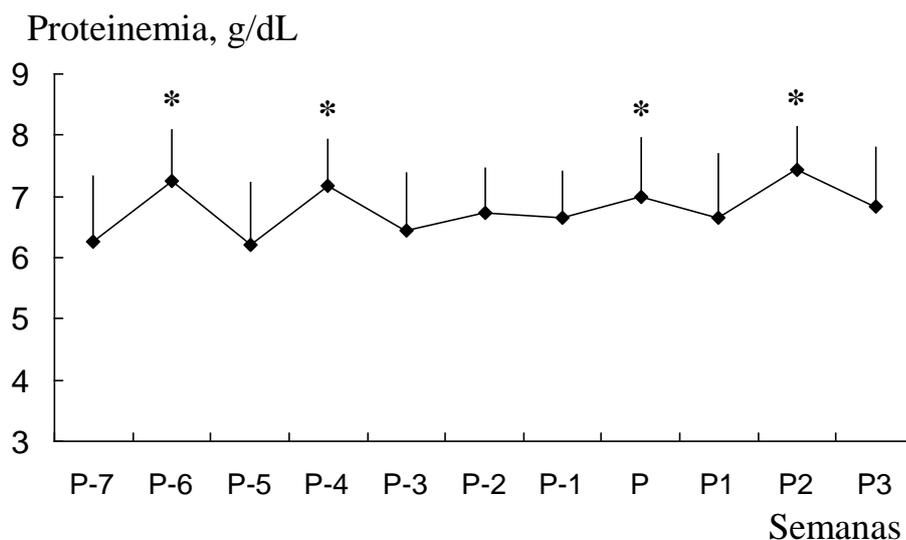


Figura 7. Evolución de los promedios semanales (\pm DS) de las proteinemias (g/dL) del conjunto de ovejas. * = $p < 0,05$ con respecto a P-7, test “t” de Student.

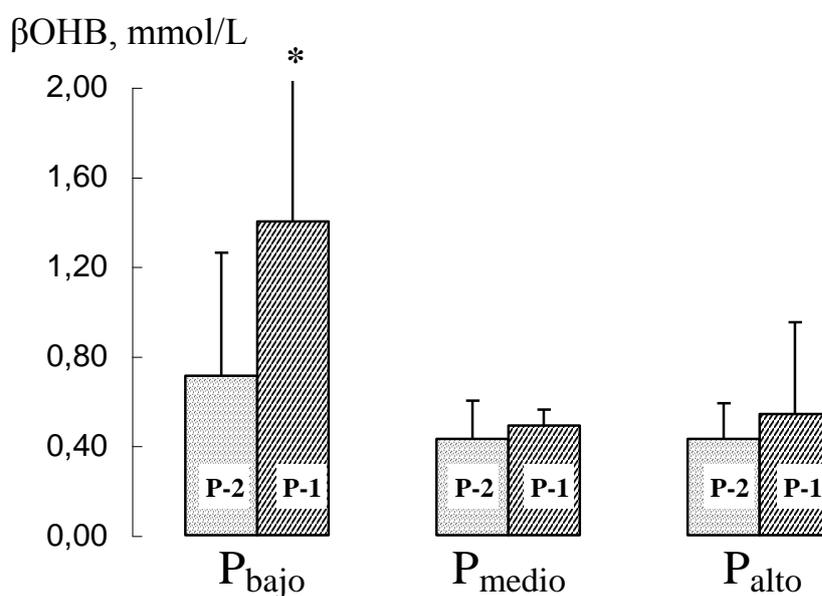


Figura 8. Valores promedio de β OHB (mmol/L) para los tres grupos experimentales en las dos últimas semanas preparto (P-2 y P-1). * = $p < 0,05$ entre grupos, misma semana, test “t” de Student.

DISCUSION

Protocolo de bovinos

Los valores promedio de glicemia obtenidos en los períodos pre y posparto ($60,3 \pm 8,8$ y $60,1 \pm 8,4$ mg/dL respectivamente) se encuentran dentro del rango reportado en la literatura: son menores a los comunicados por Ceballos *et al.* (2002a) en ganado lechero de distintas razas en Colombia (68 ± 18 y 66 ± 18 mg/dL) y mayores a los encontrados por Ceballos y Andaur (1999) en vacas frisonas chilenas (54 ± 2 y 45 ± 3 mg/dL) y por Đoković *et al.* (2003) en vacas Holstein buenas productoras (54 y 48 mg/dL) para iguales períodos. La evolución de la glicemia es coincidente con estos autores ya que nuestros valores aumentan significativamente durante el período preparto declinando luego hasta la semana P5, tal como se aprecia en la Figura 1. Esta evolución puede atribuirse, por una parte, a la suplementación energética dada a los animales que incrementa la glicemia preparto y, por otra parte, a las altas exigencias energéticas de estos animales buenos productores durante las primeras semanas de lactación, que reducen la glucosa circulante. Esto último parecería confirmarse por las concentraciones de β OHB sérico más elevadas observadas en la semana P2 (Tabla XI), indicadores de lipomovilización, y que se ubican dentro del rango de normalidad de $0,5$ a $1,0$ mmol/L, comunicado por Wittwer (2000) para vacas en lactación. Nuestros valores de β OHB en el período posparto resultan inferiores a los $1,3 \pm 1,2$ mmol/L reportados por Ceballos *et al.* (2002a) y a los propuestos por Whitaker *et al.* (1983), Wittwer (2000) y Cavestany *et al.* (2006) como límite normal en la lactación temprana ($1,0$ mmol/L). De todas formas, es muy difícil establecer una comparación válida con los valores publicados de β OHB, ya que sus concentraciones sanguíneas responden a muchos factores asociados con la alimentación, las reservas lipídicas, su utilización metabólica (síntesis de grasas lácteas, entre otras) y el grado de exigencia energética a que es sometido el animal.

Los valores promedio de *Fser* durante las 9 semanas del ensayo (271 ± 55 μ mol/L) están apenas más allá del límite superior del intervalo de referencia establecido por Jensen *et al.* (1993), $213 - 265$ μ mol/L para vacas lecheras de diferentes edades y condiciones, y del comunicado por Coppo y Mussart de Coppo (1997), 226 a 261 para adultos cruza Cebú. Se encuentran dentro de los promedios indicados por Coppo (2004) para terneros en crecimiento entre el día cero (297 ± 35 μ mol/L) y el día 120 (226 ± 33 μ mol/L). Sin embargo nuestros valores de *Fser* discriminados en preparto (303 ± 63 μ mol/L) y posparto (251 ± 44 μ mol/L) son inferiores a los reportados por Ceballos *et al.* (2002a) (346 ± 220 y 428 ± 239 μ mol/L). En el trabajo de Ceballos *et al.* (2002b) se encontraron concentraciones de *Fser* diferentes según la raza lechera: más altas para Holstein (356 ± 202 (semana P-4) y 333 ± 243 μ mol/L (semana P-2), y para el posparto promedios entre 374 ± 260 y 504 ± 249 μ mol/L) y más bajas para Brahman (234 ± 94 (semana P-4) y 195 ± 79 μ mol/L (semana P-2), y para el posparto promedios entre 222 ± 37 y 253 ± 66 μ mol/L). Aún considerando la importante variabilidad en la concentración de *Fser* hallada por distintos autores, podemos asumir que nuestros datos están dentro de los valores internacionalmente aceptados. Contrariamente a lo comunicado por Ceballos *et al.* (2002b), quienes observan mayores valores de *Fser* en el posparto que en el preparto en bovinos Holstein y Brahman, nuestros datos muestran, para ese mismo período, una significativa y progresiva disminución de la *Fser* en relación a los

valores preparto. Esta evolución no puede ser atribuida a variaciones en el mismo sentido de la proteinemia ya que ésta aumenta luego del parto (ver Figura 3), Tampoco se correlaciona con la glicemia actual (aunque sus perfiles evolutivos posparto sean similares, ver Figura 1), ya que los coeficientes de correlación r hallados para las regresiones lineales entre los valores de la misma semana de ambos parámetros, no son significativos.

La ausencia de correlación glicemia / $Fser$ en la misma semana, tanto para los datos de todo el ensayo, como para los referidos sólo al preparto o sólo al posparto, coincide con lo descrito por Ceballos *et al.* (2002a). Estos autores buscaron también la asociación entre glucosa y $Fser$ de las muestras del mismo día para todo el ensayo, para el preparto y para el posparto, sin encontrar correlación significativa entre ambos parámetros. La misma conclusión aportan Ceballos *et al.* (2002b) en vacas Holstein y Brahman, al no encontrar correlación entre glucosa y $Fser$ en ninguno de los grupos de animales ni en preparto ni en posparto. Por su parte Jordán *et al.* (2006) en vacas de lidia tampoco encontraron correlación entre los parámetros de la misma muestra en el período que va desde la semana P-4 a P10. Por el contrario, Coppo (2001), trabajando con 120 terneros cruza Cebú, entre 60 y 75 días de edad, obtiene correlaciones significativas entre estos parámetros en animales con y sin destete temprano ($r = 0,74$ y $0,72$, respectivamente). Parecería así existir una relación directa entre $Fser$ y glicemia actuales durante el período de crecimiento pero no en la vaca lechera en transición.

En relación a la posibilidad de seguimiento glicémico retrospectivo a partir de los valores de $Fser$, los análisis de regresión lineal aplicados a las relaciones entre glicemia y $Fser$ G+1, $Fser$ G+2 y $Fser$ G+3 de cada animal en forma individual (Tabla II), del conjunto de animales (Figura 2) y para los datos agrupados por semanas relativas al parto (Tabla III), no permiten validar esta hipótesis para un nivel de significación de $p < 0,05$. En la Tabla II, sólo el 13% de las regresiones lineales son estadísticamente significativas, siendo además no coincidentes en la semana de correlación. Los mayores coeficientes de correlación se observaron para G+2 (r promedio = $0,42 \pm 0,28$), valores que indican una correlación débil, al igual que los obtenidos en la Figura 2 donde incluso se observa una pendiente negativa en G+1. En la Tabla III sólo 4 de 21 correlaciones son significativas y no para el mismo intervalo (G+1 ó G+2). Además en una de ellas (glicemia P-2 y $Fser$ G+1) la pendiente es negativa (datos no mostrados), relación que podría explicarse por la evolución de ambos parámetros entre P-2 y P-1 (Figura 1).

Al no haberse hallado correlación retrospectiva significativa entre glicemia y $Fser$ para el conjunto de vacas, se planteó la posibilidad de que esta relación estuviese asociada a características específicamente vinculadas a las altas exigencias productivas, como ser la glicemia promedio a lo largo del período de transición estudiado (9S), los valores glicémicos más directamente asociados al comienzo del pico de lactación (semanas P3-4), las concentraciones séricas de β OHB, indicador confiable según Ceballos *et al.*, (2002a) del balance de energía desde un mes preparto hasta la semana 6 posparto y, por consiguiente, de la intensidad de la lipomobilización (Leng y West, 1969) o la producción de leche en sí. Este razonamiento justificó la agrupación de los animales en altos y bajos niveles en cada uno de esos parámetros. En este nuevo escenario, las diferencias significativas

halladas entre los niveles alto y bajo en el parámetro seleccionado para establecer cada agrupación (Tabla V), justificaron los estudios de correlación.

En el agrupamiento por glicemia 9S, el nivel bajo produce menos leche y tiene mayor peso y menor β OHB que el nivel alto: su esfuerzo metabólico es menor (baja lipomovilización y menor pérdida de peso) lo cual puede explicar la inferior producción. En el agrupamiento por glicemia P3-4, salvo en las glicemias, no hay diferencias significativas entre niveles. El hecho que con glicemias más bajas no se resienta la producción láctea, sin que se detecte una mayor lipomovilización, podría indicar una mejor captación y utilización de la glucosa por la ubre con la consiguiente mayor síntesis de lactosa (¿mérito genético?). En el agrupamiento por β OHB, el nivel bajo produce menos leche con animales de mayor peso promedio, lo cual sugiere un menor compromiso metabólico que el nivel alto, donde habría mayor lipomovilización. La relación inversa en las primeras semanas de lactación entre glicemia y β OHB (Figura 4a) sugiere el aumento de la lipomovilización cuando la glicemia es baja. Sin embargo, una alta concentración de β OHB no es forzosamente sinónimo de alta producción, como lo indica la ausencia de correlación significativa entre ambos parámetros (Figura 4b). Finalmente, en el agrupamiento por producción láctea las razones para una menor producción en el nivel bajo, en animales con tendencia a mayor peso y promedios glicémicos y de β OHB similares a los del nivel alto, deberían buscarse en otros índices o factores que no forman parte de este estudio. En ningún agrupamiento se halló diferencia significativa en el número de lactancia entre los niveles altos y bajos. Consideramos así que, tal vez con la excepción del agrupamiento por glicemia P3-4, los animales que conforman los niveles bajos y altos se encuentran en grados de exigencia metabólica diferentes. De hecho, el 77% de las vacas mantuvieron el mismo nivel en los cuatro agrupamientos.

Las regresiones lineales entre las glicemias y las *Fser* G+1 a G+3 de los animales pertenecientes a los niveles bajos de los cuatro agrupamientos (Tablas 6 a 9) sólo fueron significativas (para $p < 0,05$) en 15 de las 68 relaciones analizadas. Once de esas 15, fueron correlaciones negativas, quedando así del total de regresiones sólo un 6% de correlaciones positivas significativas. En el caso de los niveles altos, supuestamente más exigidos metabólicamente, sólo 11 de 68 regresiones resultaron significativas y de ellas 5 fueron correlaciones negativas, quedando un 9% del total como correlaciones positivas significativas. En ambos niveles, las correlaciones positivas significativas no coincidieron ni en el período retrospectivo (G+1 a G+3) dentro de cada agrupamiento, ni en la semana de glicemia (P-2 a P3) considerada entre niveles o entre agrupamientos. El único resultado sistematizable fue el de las correlaciones negativas significativas entre la glicemia de la semana P-2 y la *Fser* de la semana G+1 (o sea *Fser* P-1). La negatividad de esta correlación se explicaría por la evolución inversa de ambos parámetros en el período preparto. Con esta sola excepción, no se halló uniformidad de significación o de signo, ni para los niveles de baja ni para los de alta exigencia metabólica. Tomados en su conjunto, nuestros resultados no permiten entonces sistematizar las correlaciones positivas significativas, por lo que no se pudo obtener una confirmación lógica de la existencia de correlación retrospectiva glicemia/*Fser* en situaciones de altas o bajas exigencias metabólicas.

Esta ausencia de correlaciones significativas no puede atribuirse a una hipoproteinemia que altere las concentraciones séricas de *Fser*, ya que nuestros

promedios semanales (Tabla X y Figura 3) están mayoritariamente dentro del rango de 6,2 a 8,2 g/dL establecido en The Merck Veterinary Manual (1986) para bovinos. Si bien los promedios de las semanas P-2 a P están algo por debajo de ese rango, los datos no corresponden a una hipoproteinemia crónica. Esta reducción de los niveles circulantes de proteínas puede atribuirse, al menos parcialmente, al pasaje de las proteínas maternas al calostro (Brandon *et al.*, 1971), cuya formación comienza entre 4 y 6 semanas antes del parto (Radostits *et al.*, 2002). Por otra parte, los valores glicémicos usados para establecer las correlaciones pueden aceptarse como basales. La regularidad del muestreo (misma hora para cada animal), la no influencia de la suplementación matinal (apenas previa al muestreo) y las ya de por sí naturalmente escasas y poco amplias fluctuaciones diarias de la glicemia en estas especies, son elementos a nuestro juicio suficientes para considerar esos valores como independientes de eventuales oscilaciones cotidianas que podrían interferir con el establecimiento de una correlación.

Protocolo de ovinos

Las glicemias promedio y sus rangos de variación para cada uno de los tres grupos experimentales se encuentran dentro del rango 50-80 mg/dL propuesto por Kaneko (1997) para ovinos adultos. Son superiores a los 61 ± 9 mg/dL para ovejas gestando un solo feto y 55 ± 13 mg/dL para ovejas gestando mellizos, reportados por Contreras *et al.* (1990), y a los 57 ± 9 mg/dL hallados por Cal Pereyra (2007) en el día 130 de gestación. El promedio para el grupo P_{bajo} fue significativamente inferior al de los otros dos planos de alimentación, consecuencia principalmente de la pronunciada caída de la glicemia durante el período de confinamiento. Reducciones similares de la glicemia a consecuencia del ayuno también fueron comunicados por Sierra *et al.* (1984), West (1996) y Cal Pereyra (2007). La privación total de alimento provocó un desequilibrio entre aportes y requerimientos de glucosa en favor de estos últimos. La vía neoglucogénica, que provee al rumiante de casi el 85% de la glucosa en condiciones basales (Ndibualonji y Godeau, 1993), depende principalmente del aporte de propionato, cuyo origen es exclusivamente la fermentación ruminal. Su disponibilidad depende así enteramente de la ingestión de alimentos. La posibilidad de obtener glucosa a partir de otro precursor como el lactato, liberado por el músculo durante el ejercicio físico (Chandler *et al.* 1985), fue impedida por el encierro. Los requerimientos en glucosa se vieron incrementados por la etapa de la preñez de las ovejas, ya que la privación del alimento se realizó casi al final de la gestación, coincidiendo con el mayor crecimiento fetal (Bonino *et al.*, 1987; Rook, 2000).

La confirmación de este compromiso energético se obtuvo del comportamiento del β OHB, un buen indicador de la subnutrición en ovinos en condiciones extensivas (Russell, 1977) y del grado de la misma (Russell *et al.*, 1967). Estos autores encontraron valores de 0,71 mmol/L de β OHB en planos alimenticios normales, llegándose hasta 1,10 mmol/L en subnutrición moderada y hasta 1,60 mmol/L en subnutrición severa. Rook (2000) propone un límite de 0,47 mmol/L para ovejas en alimentación normal. Nuestros valores para el grupo P_{bajo} en la semana de ayuno (P-2 = $0,71 \pm 0,55$ mmol/L) y en la siguiente (P-1 = $1,36 \pm 0,97$ mmol/L), son superiores (significativamente en el caso de P-1) a las correspondientes semanas de los otros dos grupos (Figura 8). Esos valores están indicando un progresivo ajuste metabólico que responde a una subnutrición entre moderada y severa. Estas

concentraciones son similares a las reportadas por Cal *et al.* (2006) en ovejas con plano alto de alimentación sometidas a ayuno ($1,4 \pm 0,5$ mmol/L) y que posteriormente presentaron síntomas clínicos de toxemia. Sin embargo, ningún ovino de este grupo mostró síntomas de toxemia. Es de notar que las gestaciones gemelares, importante factor de aparición de la toxemia, fueron muy escasas en nuestro protocolo (dos en P_{alto} y una en P_{bajo}). Este resultado no concuerda con el de West (1996), quien encuentra al 100% de las ovejas gestantes de mellizos con síntomas de la enfermedad a los 4 días de la privación de alimentos, ni con el de Cal Pereyra (2007), quién reporta que el 80% de las ovejas, gestando un solo feto, manifestó síntomas clínicos a los $4,8 \pm 0,4$ días de iniciado el ayuno. Por el contrario, Sigurdsson (1988) comunicó que sólo 2 ovejas preñadas de un total de 8 (6 con mellizos) presentaron síntomas de toxemia tras un ayuno de 10 días. En general los autores concuerdan acerca de una marcada variación individual en la capacidad para tolerar la privación de alimento sin desarrollar síntomas clínicos de toxemia (Duffield, 2000; Rook, 2000).

Entre los grupos P_{medio} y P_{alto} no hubo diferencias significativas en los valores de glicemia, aunque en el grupo P_{medio} tienden a ser menores a medida que se acerca el parto, hecho que es explicable por el plano de alimentación. Los promedios de βOHB en las semanas P-2 ($0,43 \pm 0,17$ y $0,43 \pm 0,16$ mmol/L) y P-1 ($0,49 \pm 0,07$ y $0,54 \pm 0,41$ mmol/L) para P_{medio} y P_{alto} respectivamente, no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos y corresponden, según Russel *et al.* (1967), a un plano alimenticio normal.

En relación al empleo de la *Fser* en ovinos la literatura es sumamente escasa. Nuestros valores promedio de *Fser* fueron sensiblemente mayores que el promedio de $169 \mu\text{mol/L}$ propuesto por Cantley *et al.* (1991), sobre la base de 93 ovinos en fin de gestación de los cuales 87 eran aparentemente normales y 6 revelaban síntomas clínicos de toxemia de la preñez. Arnt Brito *et al.* (2006) comunican una *Fser* promedio de $178 \pm 21 \mu\text{mol/L}$ para ovejas, pero al inicio de la gestación. En corderos, las concentraciones de *Fser* serían algo superiores ($226 \mu\text{mol/L}$, citado por Cantley *et al.*, 1991). Para Arnt Brito *et al.* (2006) las concentraciones de *Fser* mostraron un comportamiento paralelo a los de la glucosa en la gestación y lactación de ovejas lecheras. Por el contrario, en nuestro trabajo los menores valores promedio de *Fser* aparecen en el grupo P_{alto} y los mayores en el P_{bajo} (aunque estos sin diferencia significativa con los del P_{medio}), es decir en forma inversa al comportamiento de la glicemia (y en aparente contradicción con el principio que relaciona ambos parámetros).

Al igual que en el caso de los bovinos, no encontramos correlación significativa entre los valores de glicemia y *Fser* de la misma semana, en ninguna de las combinaciones ensayadas (por conjunto de animales, por planos de alimentación, por número de semana). Las dos únicas excepciones halladas (P-3 en P_{bajo} y P_{alto}) parecen atribuibles al azar ya que no hay explicación para que en esa misma semana no haya significación para el P_{medio} , siendo su glicemia y su *Fser* en P-3 (Figura 5 y Tabla XIIb) similares a las de los otros dos grupos. En el mismo sentido, en las semanas donde se observan marcadas reducciones de la glicemia (P-2 y P-1), la correlación entre ambos parámetros no fue significativa ni para el P_{bajo} ni para el P_{medio} . No encontramos en la literatura ninguna publicación sobre esta relación en ovinos que nos permita discutir estos resultados.

En cuanto a la utilidad de la *Fser* para el seguimiento glicémico retroactivo, las regresiones lineales aplicadas a las relaciones entre glicemia y *Fser* G+1, *Fser* G+2 y *Fser* G+3 de cada animal en forma individual (Tabla XIII) y para los datos de la totalidad de los ovinos expresados por semanas relativas al parto (Tabla XIV) o por semana de desfasaje (Tabla XV y Figura 6), no permiten validar esa hipótesis para un nivel de significación de $p < 0,05$. En la Tabla XIII sólo la oveja 7135 muestra una correlación positiva significativa para G+1. En la Tabla XIV las dos únicas correlaciones significativas son negativas, al igual que la correlación G+1 en la Tabla XV. Las regresiones de la Figura 6 muestran también pendientes negativas, pero sin significación estadística.

Dentro de los subconjuntos generados por los tres planos de alimentación, no surgieron correlaciones significativas sistematizables entre estas dos variables, para ninguna de las semanas de desfasaje (Tabla XVI). Tampoco aparecen cuando se expresan los resultados para cada una de las semanas del ensayo (Tablas XVII, XVIII y XIX). En el período P-2 / P-1 de los grupos P_{bajo} y P_{medio} , donde las condiciones son particularmente apropiadas (glicemias reducidas) para poner de manifiesto una correlación retrospectiva glicemia / *Fser*, sólo en el desfasaje P-1 / G+3 del P_{bajo} las variables se hallaron asociadas positivamente en forma significativa, sugiriendo que la *Fser* de la semana P2 permitiría evaluar el status glicémico. Pero desde el punto de vista práctico este dato no sería relevante, ya que en los ovinos interesa conocer el riesgo de hipoglicemia antes del parto. En el grupo P_{medio} , las dos regresiones significativas encontradas son inversas (pendiente negativa). En el grupo P_{alto} , de las 4 correlaciones significativas observables, sólo la de P-5 / G+1 es positiva. En total, de las 63 asociaciones estudiadas en los tres grupos, sólo hubo 8 correlaciones con un nivel de significación inferior a 0,05 (de las que únicamente 2 fueron positivas) y sin uniformidad en cuanto al período de desfasaje.

Los valores de *Fser* encontrados no fueron afectados por variaciones importantes de la proteinemia: nuestro promedio general está comprendido dentro del rango de normalidad de 5,9 – 7,8 g/dL indicado en The Merck Veterinary Manual (1986) para ovinos, y la evolución de los promedios semanales (Figura 7) muestra que los valores también se mantuvieron dentro de ese rango a lo largo de todo el estudio. Los datos coinciden además con el promedio de $6,5 \pm 1,3$ g/dL reportado por Arnt Brito *et al.* (2006) para ovejas al día 120 de gestación. Asumimos, por las mismas razones expuestas para los bovinos, que los valores glicémicos hallados representan niveles basales no afectados por hipotéticas fluctuaciones cotidianas.

Los resultados expuestos, al igual que en el caso de las vacas lecheras, no avalan la posibilidad del uso de la *Fser* para la evaluación del riesgo hipoglicémico (ni actual ni retrospectiva), anunciante de toxemia, al final de la gestación en ovinos. No obstante, esta posibilidad es propuesta por Cantley *et al.* (1991). Estos autores encontraron que las ovejas aparentemente sanas tenían un promedio de *Fser* de 172 $\mu\text{mol/L}$, mientras que las toxémicas mostraban 124 $\mu\text{mol/L}$. Al hallar en el grupo sano 9 ovinos (8 de ellos con concentraciones de βOHB normales) con concentraciones de *Fser* tan bajas como las de los enfermos, concluyen que la fructosaminemia puede ser un buen indicador precoz de toxemia. Sin embargo esta conclusión debe ser tomada con mucha precaución, ya que los mismos autores

indican que no se hizo seguimiento clínico de esos 9 ovinos para confirmar la aparición de la enfermedad. Por otra parte, no midieron la glicemia por lo que no es posible establecer su correlación con la *Fser*.

CONCLUSIONES

En nuestras condiciones experimentales no ha sido posible validar la utilidad de la *Fser* para el examen retrospectivo, entre una y tres semanas, de la evolución de la glicemia en rumiantes en períodos productivos de alta demanda energética (vacas al inicio de la lactación y ovejas en el último tercio de la gestación). El análisis de los resultados presentados sugiere fuertemente que las variables en estudio, glicemia y *Fser*, son independientes. Ni en los bovinos u ovinos en su conjunto, ni en sus agrupamientos por niveles de exigencia metabólica (vacas lecheras) o por planos de alimentación (ovejas gestantes), fue posible demostrar la existencia de una asociación confiable y sistematizable entre estas dos variables, que permita el uso rutinario de las concentraciones de *Fser* para la supervisión retrospectiva del riesgo hipoglicémico en períodos de alta producción.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Actis Dato S, Rebolledo O.** (2000) La glicación y glicoxidación de las lipoproteínas, su importancia en la diabetes mellitus. *Medicina* 60: 645-656.
2. **Ahmed M, Thorpe S, Baynes J.** (1986) Identification of N-carboxymethyllysine as a degradation product of fructoselysine in glycated protein. *J Biol Chem* 261: 4889-4894.
3. **Armbruster DA.** (1987) Fructosamine: structure, analysis and clinical usefulness. *Clin Chem* 33: 2157-2163.
4. **Arnt Brito M, Diaz Gonzales F, Ribeiro LA, Campos R, Lacerda L, Rick P, Bergmann G.** (2006) Blood and milk composition in dairy ewes from southern Brazil: variations during pregnancy and lactation. *Cienc Rural* 36: 1-9
5. **Baird GD.** (1982) Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention and outlook. *J Dairy Sci* 65: 1-10
6. **Baker J, Metcalf P, Holdaway I, Johnson R.** (1985a) Serum fructosamine concentration as measure of blood glucose control in type I (insulin dependent) diabetes mellitus. *Br Med J* 290: 352-357.
7. **Baker J; Metcalf P; Johnson R; Newman D; Rietz P.** (1985b) Use of protein-based in automated colorimetric determinations on fructosamine in serum. *Clin Chem* 31: 1550-1554
8. **Baker J; O'Connor JP; Metcalf P; Lawson MR; Johnson RN.** (1983) Clinical usefulness of estimation of serum fructosamine concentration as a screening test for diabetes mellitus. *Br Med J* 287: 863-867.
9. **Benjamin JR, Sacks D.** (1994) Glycated protein update: Implications of recent studies, including the diabetes control and complications trial. *Clin Chem* 40: 663-687.
10. **Bermúdez MC, Rebolledo OR.** (1988) Valoración de las proteínas glicosiladas del suero como índice retrospectivo del control glucémico. *Acta Bioq Clin Lat* 22: 279-288.
11. **Bonino J, Sienra R, Sorondo ML.** (1987) Enfermedades causadas por trastornos metabólicos: Toxemia de la Preñez. En: *Enfermedades de los lanares. Tomo II.* Eds. Bonino J, Durán del Campo A, Mary J. Ed Hemisferio Sur, Montevideo. Cap.12 p239-265.
12. **Brandon MR, Watson DL, Lascelles AK.** (1971) The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows. *Aust J Biol Med Sci* 49:613-623.
13. **Brownlee M, Vlassara H, Cerami A.** (1984) Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann Intern Med* 4: 527-537.
14. **Butler ST, Pelton SH, Butler WR.** (2006) Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol. *J Dairy Sci* 89: 2938-2951.
15. **Cal L, Cruz JC, Benech A, Silva R, Abreu MN, Borteiro C, Rodas E, González Montaña JC.** (2006) Indicadores precoces de riesgo de la toxemia de la preñez ovina. XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría, 5-8 junio, Paysandú, Uruguay, p152-153.
16. **Cal Pereyra L.** (2007) Inducción experimental de toxemia de la gestación ovina. Aplicación a la explotación ovina en Uruguay. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria, Universidad de León, León, España.

17. **Campbell RM, Cuthbertson DP, Mackie W, McFarlane AS, Phiupson AT, Sudsaneh, S.** (1961) Passage of plasma albumin into the intestine of the sheep. *J Physiol* 158 : 113-131.
18. **Canahauti RLE, Terrés SAM, González SR.** (1996) Aterogénesis y glicosilación de proteínas en diabetes mellitus. *Rev Mex Patol Clin* 43: 67-79.
19. **Cantley CE, Ford DM, Heath MF.** (1991) Serum Fructosamine in ovine pregnancy toxemia: a possible prognostic index. *Vet Rec* 128: 525-526.
20. **Cavestany D, La Manna A, Mendoza AF, Albanell F, Belassi S, Olariaga F, Pérez MN, Silva A.** (2006) Efecto de diferentes dietas durante el periodo de transición (PT) sobre la producción y calidad de leche y el inicio de la actividad ovárica de vacas lecheras en pastoreo. *Jornada Técnica de Lechería, Florida, Uruguay. Serie Actividades de Difusión n°455, p 9-15.*
21. **Ceballos A, Andaur M.** (1999) Indicadores bioquímicos sanguíneos de los desequilibrios energéticos en ganado lechero. II Seminario Internacional en reproducción y metabolismo de la vaca lechera. Universidad de Caldas Manizales, Colombia.
22. **Ceballos A, Gomez P, Velez M, Villa N, Lopez L.** (2002a) Variación de los indicadores bioquímicos del balance de energía según el estado productivo en bovinos lecheros de Manizales, Colombia. *Rev Col Cienc Pec* 15: 13-25.
23. **Ceballos A, Villa NA, Andaur M, Gomez PM, Velez ML, Escobar DM, Osorio M, Loaiza J, Wittwer F.** (2002b) Serum fructosamine concentration during the transitional period in holstein and brahman cows. *Proc.10th Congress Int. Soc. Animal Clinical Biochemistry, june 18-22, Gainesville, Florida.*
24. **Chandler KD, Leury BJ, Bird AR, Bell AW.** (1985) Effects of undernutrition and exercise during late pregnancy on uterine, fetal and uteroplacental metabolism in the ewe. *Br J Nut* 53: 625-635.
25. **Chilliard Y.** (1986) Revue bibliographique: Variations quantitatives et métabolisme des lipides dans les tissus adipeux et le foie au cours du cycle gestation-lactation. 2^e partie: Chez la brebis et la vache. *Reprod Nutr Dévelop* 27 (2 A): 327-398.
26. **Cirio A, Tebot I.** (2000) La neoglucogénesis en el rumiante y Lipogénesis y lipólisis en el rumiante. En: *Fisiología metabólica de los Ruminantes*. Ed: Cirio A, Tebot I. Depto. de Fisiología. Fac. de Veterinaria (Comisión Sectorial de Investigaciones Científicas) UDELAR, Montevideo, Uruguay, p 43-68.
27. **Contreras PA.** (1998) Síndrome de movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños. *Arch Med Vet* 30: 17-27.
28. **Contreras PA, 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: 65-69.
29. **Coppo JA.** (2001) Evolution of fructosaminaemia and gliccaemia during the growth of unweaned and early weaned half-bred Zebu calves. *Vet Res Com* 25: 449-459.
30. **Coppo JA.** (2004) El destete precoz del ternero causaría alarma simpática meduloadrenal en lugar de estrés corticoadrenal. *Invet* 6: 11-20.
31. **Coppo JA, Mussart de Coppo NB.** (1997) La glicosilación de proteínas hemáticas como evaluación retrospectiva de la glucemia. *Aplicaciones en medicina veterinaria. Rev Med Vet* 78: 292-295.

32. **Cornelius CE, Baker NF, Kaneko JJ, Douglas JR.** (1962) Distribution and turnover of iodine-131-tagged bovine albumin in normal and parasitized cattle. *Am J Vet Res* 23: 837–842.
33. **Crenshaw KL, Peterson ME, Heeb LA, Moroff SD, Nichols R.** (1996) Serum fructosamine concentration as an index of glycemia in cats with diabetes mellitus and stress hyperglycemia. *J Vet Intern Med* 10: 360-364.
34. **Dixon FJ, Maurer PH, Deichmiller MP.** (1953) Half-lives of homologous serumalbumins in several species. *Proc Soc Exp Biol & Med* 83: 287-294.
35. **Đoković R , Šamanc H , Bošković- Bogosavljević S.** (2003) Blood concentration of free fatty acids, glucose and insulin in high producing dairy cows during the peripartum period. *Vet Glas* 57: 405-413
36. **Duffield T.** (2000) Subclinical ketosis in lactating dairy cattle: Metabolic disorders of ruminants. *Vet Clin North Am: Food animal practice* 16: 231-254.
37. **Elliot DA, Nelson RW, Reusch CE, Feldman EC, Neal LA.** (1999) Comparison of serum fructosamine and blood glycosylated hemoglobin concentrations for assessment of glycemic control in cats with diabetes mellitus. *J Am Vet Med Assoc* 214: 1794-1798.
38. **Flückiger R, Woodtli M, Berger W.** (1987) Evaluation of the serum fructosamine test for the measurement of plasma protein glycation. *Diab J* 30: 648-652.
39. **Ganaba R, Bigras-Poulin M, Vermette L, Larivière N.** (1993) L'hémoglobine glycosylée chez la vache laitière en période péripartum. *Can Vet J* 34: 119–120.
40. **González F, Ceroni da Silva S.** (2006) Diagnóstico da diabetes mellitus. En: González F, Ceroni da Silva S, *Introdução à bioquímica clínica veterinária.* Ed. UFRGS 2ª ed. Univ. Fed Rio Grande Do Sul. Cap 9, p 200.
41. **Grombaek H, Nielsen B, Osterby R, Harris A, Orskov H, Flyvberg.** (1995) Effect of octreotide and insulin on manifest renal and glomerular hypertrophy and urinary albumin excretion in long-term experimental diabetes in rats. *Diab* 38: 135-144.
42. **Henrichs HR.** (1990) Limitations of fructosamine determination. *Wiener Klin Suppl* 180 102: 90-91.
43. **Herdzik E, Safranow K, Ciechanowski K.** (2002) Diagnostic value of fasting capillary glucose, fructosamine and glycosylated haemoglobin in detecting diabetes and other glucose tolerance abnormalities compared to oral glucose tolerance test. *Acta Diabetol* 39: 15-22.
44. **Hibbit KG.** (1979) Bovine ketosis and its prevention. *Vet Rec* 5: 13-15.
45. **Hom FG, Ettinger B, Lin MJ.** (1998) Comparison of serum fructosamine vs glycohemoglobin as measures of glycemic control in a large diabetes population. *Acta Diabetol* 35: 48-51
46. **Ingvarstsen KL, Dewhurst RJ, Friggens NC.** (2003) On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. *Liv Prod Sci* 83: 277-308.
47. **Jensen AL.** (1992) Serum fructosamine in canine diabetes mellitus. An initial study. *Vet Res Comm* 16: 1-9.
48. **Jensen AL.** (1993) Various proteins and albumin corrections of the serum fructosamine concentration in the diagnosis of canine diabetes mellitus. *Vet Res Comm*, 17, 13-23.

49. **Jensen AL.** (1994) Serum fructosamine as screening test for diabetes mellitus in non healthy middle-aged to older dogs. *Zentr Vet A* 41: 480-484.
50. **Jensen AL.** (1995) Glycated blood proteins in canine diabetes mellitus. *Vet. Rec* 137: 401-405.
51. **Jensen AL, Petersen MB, Houe H.** (1993) Determination of fructosamine concentration in bovine serum samples. *J Vet Med* 41: 480-484.
52. **Johnson RN, Metcalf PA, Baker JR.** (1982) Fructosamine: a new approach to the estimation of serum glycosylprotein. An index of diabetes control. *Clin Chim Acta* 127: 87-95.
53. **Jordán D, Villa N, Gutierrez M, Gallego A, Occhoa G, Ceballos A.** (2006) Indicadores bioquímicos sanguíneos en ganado de lidia mantenido en pastoreo en la cordillera central colombiana. *Rev Col Cienc Pec* 19: 18-26.
54. **Kaneko JJ.** (1997) Carbohydrate Metabolism and Its Diseases . En: *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5th edition by Academic Press Copyright 1997. Cap 3: 45-81.
55. **Kaneko JJ, Kawamoto M, Heusner AA, Feldman EC, Koizumi I.** (1992) Evaluation of serum fructosamine concentration as an index of blood glucose control in cats with diabetes mellitus. *Am J Vet Res* 53: 1797-1801.
56. **Kawamoto M, Kaneko JJ, Heusner AA, Feldman EC, Koizumi I.** (1992) Relation of fructosamine to serum protein, albumin, and glucose concentrations in healthy and diabetic dogs. *Am J Vet Res* 53: 851-855.
57. **Kennedy L, Mehl TD, Riley W, Merimee TJ.** (1981) Non-enzymatically glycosylated serum protein in diabetes mellitus: An index of short-term glycaemia. *Diab* 21: 94-98.
58. **Khan HA, Sobki SH, Alhomida AS, Khan SA.** (2007) Paired values of serum fructosamine and blood glucose for the screening of gestational diabetes mellitus: a retrospective study of 165 saudi pregnant women. *Indian J Clin Biochem* 22: 65-70.
59. **Kida K.** (2002) Use of every ten-day criteria for metabolic profile test after calving and dry off in dairy herds. *J Vet Med Sci* 64: 1003-1010.
60. **Landeira AO.** (2001) Metas a lograr en los establecimientos lecheros.1^a Jornada Romage de Lechería. 30 marzo, Florida, Uruguay.
61. **Lee AJ, Twardock AR, Bubar RH, Hall JE, Davis CL.** (1978) Blood metabolic profiles: their use and relation to nutritional status of dairy cows. *J Dairy Sci* 61: 1652-1670.
62. **Leng RA, West CE.** (1969) Contribution of acetate, butyrate, palmitate, stearate and oleate to ketone body syntesis in sheep. *Res Vet Sci* 10: 57-61.
63. **Li K, Yang HX.** (2006) Value of fructosamine measurement in pregnant women with abnormal glucose tolerance. *Chin Med J* 119: 1861-1865.
64. **Loste A, Marca MC.** (1999) Study of the effect of total serum protein and albumin concentrations on canine fructosamine concentration. *Can J Vet Res* 63: 138-141.
65. **Loste A, Marca MC.** (2001a) Fructosamine and glycated hemoglobin in the assessment of glycaemic control in dogs. *Vet Res* 32: 55-62.
66. **Loste A, Marca MC.** (2001b) Utilidad clínica de la fructosamina y hemoglobina glicosilada en el diagnóstico de diabetes mellitus e insulinoma en el perro. *Med Vet* 18: 522-526
67. **Lubert Stryer** (1995) Hidratos de carbono. En: *Bioquímica* 4^a Ed. TII. Universidad de Stanford. Ed Reverté. Barcelona. Cap.18, p 463-481.

68. **Lutz TA, Rand JS, and Ryan E.** (1995) Fructosamine concentrations in hyperglycemic cats. *Can Vet J* 36: 155–159.
69. **Maillard LC.** (1912) Condensation des acides aminés sur les sucres; formation de melanoidines par voie méthodique. *Compt Rend Acad Sci Paris* 154: 66-68.
70. **Marca MC, Loste A, Ramos JJ.** (2000) Effect of acute hyperglycaemia on the serum Fructosamine and blood glycated haemoglobin concentrations in canine samples. *Vet Res Com* 24: 11-16.
71. **Marteniuk J, Herdt T.** (1988) Pregnancy toxemia and ketosis of ewes and does. *Vet Clin North Am* 4: 307-315.
72. **Matamoros R, Gomez C, Andaur M.** (2002) Hormones of diagnostic value in Veterinary Medicine. *Arch Med Vet* 34: 167-182.
73. **Misciagna G, Logroscino G, De Michele G, Cisternino A, Guerra V, Freudenheim J.** (2004) Fructosamine, glycated hemoglobin, and dietary carbohydrates. *Clin Chim Acta* 340: 139-147.
74. **Monnier VM.** (1989) Toward a Maillard reaction Theory of Aging. En: *Maillard Reaction in aging, diabetes, and nutrition* . Ed. Baynes & Monnier, New York, pp. 1–22.
75. **Mosca A, Carenini A, Zoppi F, Carpinelli A, Banfi G, Ceriotti F, Bonini P, Pozza G.** (1987) Plasma protein glycation as measured by fructosamine assay. *Clin Chem* 33: 1141-1146.
76. **Mula-Abed WA, Al-Naemi AH.** (2003) Performance indicators and validity of serum fructosamine assays as diagnostic test in a screening program for diabetes mellitus. *Saudi Med J* 24: 477-484.
77. **Ndibualonji BB, Godeau J-M.** (1993) La néoglucogénèse et les acides aminés chez les ruminants: revue. *Ann Méd Vét* 137: 537-554.
78. **Payne JM, Dew SM, Manston R, Faulks M.** (1970) Use of a metabolic profile test in dairy herds. *Vet Rec* 87: 150-158.
79. **Post E, Moore J, Ihrke J, Aisenberg J.** (2000) Fructosamine levels demonstrate improved glycemic control for some children attending a diabetes summer camp. *Ped Diab* 1: 204-208.
80. **Radostits OM, Gay CC, Blood D, Hinchcliff KW.** (2002) *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino.* Ed. McGraw-Hill Interamericana, 9ª ed, España.
81. **Reusch CE, Haberer B.** (2001) Evaluation of fructosamine in dogs and cats with hypo- or hyperproteinaemia, azotaemia, hyperlipidaemia and hyperbilirrubinaemia. *Vet Rec* 148: 370-376.
82. **Reusch CE, Lihes MR, Hoyer M, Vochezer R.** (1993) Fructosamine: A new parameter for diagnosis and metabolic control in diabetic dogs and cats. *Vet Intern Med* 7: 177-182.
83. **Reusch CE, Tomsa K.** (1999) Serum fructosamine concentration in cats with overt hyperthyroidism. *J Am Vet Med Assoc* 215: 1297-1300.
84. **Rivas JH, Rossini M, Salvador A.** (2006) Indicadores clínicos como respuesta a la suplementación parenteral en vacas Brahman primíparas durante la pretemporada de monta. *Rev Fac CiecVet Maracay* 47: 14-28.
85. **Roberts AB Baker JR.** (1986) Serum fructosamine: a screening test for diabetes in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 154: 1027-1030.
86. **Rook JS.** (2000) Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. *Vet Clin North. Am: Food animal practice* 16: 293-317.

87. **Ropstad E.** (1991) Constituents of blood and milk in relation to fertility, nutrition and metabolic status in dairy cows. *Vet Bull* 61: 120-124.
88. **Rosediani M, Azidah AK, Mafauzy M.** (2006) Correlation between fasting plasma glucosa, post prandial glucosa and glycated haemoglobin and fructosamine. *Med J Malaysia* 61: 67-71.
89. **Ruiz Moreno MJ, Silva JH.** (1997) Toxemia de la Preñez en la oveja. Estado actual de conocimiento sobre el tema. *Rev Med Vet* 78: 58-64.
90. **Russel AFJ.** (1977) Relationship between energy intake, nutritional state and lamb birth weight in Greyface ewes. *J Agr Sci* 9: 667-673.
91. **Russel AFJ.** (1979) The nutrition of pregnant ewe. En: *The British Council. The management and diseases of sheep*, Edimburg.
92. **Russel AFJ, Doney JM, Reid RL.** (1967) 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.
93. **Sako Y, Umeda F, Hashimoto T, Haji M, Nawata H.** (1989) Serum fructosamine in assessment of diabetic control and relation to thyroid function. *Horm Met Res* 21: 669-672.
94. **Sierra R, Bonino J, Larregui V, Echeguía M.** (1984) Toxemia de la preñez II. Inducción experimental y respuesta a la terapia con glicerol-propilenglicol. *Veterinaria* 20: 78-83.
95. **Sigurdsson H.** (1988) Susceptibility to pregnancy disease in ewes and its relation to gestational diabetes. *Acta Vet Scand* 29: 407-414.
96. **The Merck Veterinary Manual.** (1986) 6th Edition. Merck & CO, Inc. USA.
97. **Thorensen SI, Aleksandersen M, Lonaas L, Bredal WP, Grondalen J, Berthelsen K.** (1995) Pancreatic insulin-secreting carcinoma in a dog: Fructosamine for determining persistent hipoglycaemia. *J Small Anim Pract* 36: 282-286.
98. **Thorensen SI, Lorenzen FH.** (1997) Treatment of diabetes mellitus in dogs using isophane insulin penfills and the use of serum fructosamine assays to diagnose and monitor the disease. *Acta Vet Scand* 38: 137-146.
99. **Triana Mantilla ME.** (2001) La hiperglicemia y sus efectos tóxicos. Un concepto patogénico para la micro y macroangiopatía diabética. *Rev Cubana Angiol y Cir Vasc* 2: 131-141.
100. **Vacaro M, Gasparini V, Feijoó P.** (2003) Diabetes mellitus en felinos. Anuario de la Asociación Argentina de Medicina Felina. B.Aires.
101. **West HJ.** (1996) Maternal undernutrition during late pregnancy in sheep. Its relationship to maternal condition, gestation length, hepatic physiology and glucose metabolism. *Br J Nutr* 75: 593-605.
102. **Whitaker DA, Smith EJ, Kelly JM.** (1983) Subclinical ketosis and serum beta- hydroxybutyrate levels in dairy cattle. *Br Vet Rec* 133: 61-64.
103. **Willensen JL, Jensen AL, Kristensen-Hansen M, Jessen R, Koch J.** (2006) Serum fructosamine concentrations in 59 dogs naturally infected with *Angiostrongylus vasorum*. *Vet Med Physiol Clin Med* 53: 266-269.
104. **Willms B, Lehamann P.** (1990) A new fructosamine-test as a routine parameter in diabetes monitoring. *Wiener Klin Wochensuppl* 180: 5-10.
105. **Wittwer F.** (2000) Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. En: *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Ed. FH Gonzáles *et al.* UFRGS. P. Alegre 2000. p 9-22.