



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EVALUACION DEL  $\beta$ -hidroxibutirato Y GLICEMIA EN CORDEROS NACIDOS DE OVEJAS CON TOXEMIA DE LA GESTACIÓN OVINA SUBCLÍNICA INDUCIDA EN LAS TRES ÚLTIMAS SEMANAS DE GESTACIÓN**

**Por**

**LORETO PEREIRA, Álvaro  
DEBEZA MARCHETTI, Maximiliano**

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias.  
Orientación: Producción Animal

MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2020**

## PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

---

Dra. Karina Neimaur

Segundo miembro (Tutor):

---

Dr. Luis Cal Pereyra

Tercer miembro:

---

Dr. Oscar Irabuena

Cuarto miembro

---

Dr. Pablo Rodríguez Gamarra

Fecha:

3 de agosto de 2020

Autor:

---

Br. Álvaro Loreto Pereira

---

Br. Maximiliano Debeza Marchetti

## **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo descubre el final de un camino por demás maravilloso....

Lo aprendido supera con creces nuestras expectativas, pero sobre todo nos hace recordar aquellas personas que siempre estuvieron, las que llegaron y todas las que aun siguen ahí.

Culminar esta etapa es la forma más elocuente de mostrar nuestro agradecimiento, sin ustedes nada de esto tendría sentido.

No alcanzan las páginas para nombrar cada uno de los que formaron parte de este recorrido de una u otra manera, pero sin duda que la familia, los amigos, compañeros de clase y profesores son los que merecen nuestro más profundo reconocimiento.

En las últimas líneas un saludo apretado especialmente para nuestros tutores Luis y Pablo, y compañeros de tesis Federico Feijó, Luis Nicodella, Cecilia Russi, Cecilia Villamarin y Estela Charle.

Y como dijo Gustavo.....GRACIAS TOTALES!!!!!!

<b>TABLA DE CONTENIDO</b>		<b>Pag. N°</b>
1.	<u>PÁGINAS DE APROBACIÓN</u>	<u>2</u>
2.	<u>AGRADECIMIENTOS</u>	<u>3</u>
3.	<u>LISTA DE FIGURAS Y CUADROS</u>	<u>6</u>
4.	<u>RESUMEN</u>	<u>7</u>
5.	<u>SUMMARY</u>	<u>8</u>
6.	<u>INTRODUCCIÓN</u>	<u>9</u>
7.	<u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	<u>11</u>
7.1.	<u>Datos históricos</u>	<u>11</u>
7.2.	<u>Recordatorio fisiológico del metabolismo ovino</u>	<u>11</u>
7.2.1.1.	<u>Requerimientos energéticos de los animales</u>	<u>11</u>
7.2.1.2.	<u>Requerimientos energéticos de la oveja gestante</u>	<u>12</u>
7.2.1.3.	<u>Metabolismo de la glucosa en rumiantes</u>	<u>13</u>
7.2.1.4.	<u>Metabolismo lipídico y cuerpos cetónicos</u>	<u>14</u>
7.3.	<u>Toxemia de la gestación</u>	<u>16</u>
7.3.1.1.	<u>Introducción</u>	<u>16</u>
7.3.1.2.	<u>Etiología</u>	<u>17</u>
7.3.1.3.	<u>Patogenia</u>	<u>18</u>
7.3.1.4.	<u>Signos clínicos</u>	<u>19</u>
7.3.1.5.	<u>Hallazgos de necropsia</u>	<u>21</u>
7.3.1.6.	<u>Diagnóstico</u>	<u>21</u>
7.3.1.7.	<u>Tratamiento</u>	<u>23</u>
7.3.1.8.	<u>Control</u>	<u>24</u>
7.4.	<u>Toxemia de la gestación subclínica</u>	<u>25</u>
7.5.	<u>Placenta y transporte de metabolitos</u>	<u>26</u>

8. <u>HIPOTESIS, OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS</u>	<u>28</u>
8.1. <u>Hipotesis</u>	<u>28</u>
8.2. <u>Objetivo general</u>	<u>28</u>
8.3. <u>Objetivos específicos</u>	<u>28</u>
9. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	<u>28</u>
9.1. <u>Estrategias de investigación y actividades específicas</u>	<u>28</u>
9.2. <u>Animales</u>	<u>28</u>
9.3. <u>Diseño experimental</u>	<u>29</u>
9.4. <u>Determinaciones</u>	<u>29</u>
9.5. <u>Análisis de las muestras de sangre</u>	<u>30</u>
9.6. <u>Análisis estadístico</u>	<u>30</u>
10. <u>RESULTADOS</u>	<u>31</u>
10.1. <u>Glicemia en ovejas</u>	<u>31</u>
10.2. <u>BHOB en ovejas</u>	<u>31</u>
10.3. <u>Glicemia en corderos</u>	<u>32</u>
10.4. <u>BHOB en corderos</u>	<u>32</u>
11. <u>DISCUSIÓN</u>	<u>33</u>
12. <u>CONCLUSIONES</u>	<u>35</u>

## LISTA DE FIGURAS Y CUADROS

	Página
Figura 1: Evolución de la glicemia de las ovejas del Grupo B	31
Cuadro 1. Glicemia y Betahidroxibutirato en corderos	32

## 1- RESUMEN

El objetivo principal de la producción ovina es obtener el mayor número de corderos destetados por oveja encarnerada. Uruguay cuenta con un promedio de señalada en los 10 últimos años del 70%. La pérdida de corderos se produce fundamentalmente durante los primeros tres días de vida, producto de la inanición y la exposición al frío. La toxemia de la gestación subclínica es caracterizada por presencia de hipoglicemia e hipercetonemia en aumento constante, en ausencia de signos clínicos de la enfermedad. El objetivo de esta tesis fue evaluar la relación entre los cambios metabólicos producidos en ovejas con Toxemia de la gestación subclínica inducida en las últimas tres semanas de la gestación, con la concentración sérica de diferentes metabolitos en sangre en sus corderos durante las primeras 72 horas de vida. Veintiséis ovejas Corriedale adultas con fecha de gestación conocida, cargando un sólo feto y alimentadas con pastura natural, al día 125 de gestación se dividieron aleatoriamente en dos grupos. A partir de este momento se aplicó el siguiente protocolo: Grupo A (n=13) (grupo control): las ovejas de este grupo continuaron alimentándose libremente durante todo el ensayo y Grupo B (n=13): las ovejas de este grupo fueron encerradas en corrales techados y con piso de hormigón. Durante el encierro fueron sometidas a una restricción alimentaria, con libre acceso al agua. Se tomaron muestras de sangre a todas las ovejas a los 125 días de gestación y a partir del comienzo del encierro y hasta el parto, las ovejas del grupo B fueron sangradas cada 24 horas para valorar la glicemia y la concentración sérica de  $\beta$ -hidroxibutirato (BOHB). Dentro de la primera hora de vida y a las 24, 48 y 72 horas de vida se obtuvieron muestras de sangre de los corderos de los dos grupos para determinar glicemia y concentración sérica de BOHB. La restricción de alimento a partir del día 125 de la gestación les provocó una disminución de la glicemia y un aumento del BOHB sérico. Estos cambios metabólicos en las ovejas no repercutieron en el BOHB sérico de los corderos. Sin embargo, los corderos nacidos de madres sometidas a restricción de alimento presentaron menor valor de glicemia dentro de la primera hora de producido el parto.

## 2- SUMMARY

The main objective of sheep production is to obtain the largest number of lambs weaned per sheep. Uruguay has an average of 70% in the last 10 years. The loss of lambs occurs mainly during the first three days of life, due to starvation and exposure to cold. Subclinical gestational toxemia is characterized by the presence of constantly increasing hypoglycemia and hyperketonemia, in the absence of clinical signs of the disease. The objective of this thesis was to evaluate the relationship between metabolic changes produced in sheep with Toxemia of subclinical gestation induced in the last three weeks of gestation, with the serum concentration of different metabolites in blood in their lambs during the first 72 hours of lifetime. Twenty-six adult Corriedale sheep with a known gestation date, carrying a single fetus and fed on natural pasture, at day 125 of gestation were randomly divided into two groups. From this moment on, the following protocol was applied: Group A (n = 13) (control group): the sheep in this group continued to feed freely throughout the trial and Group B (n = 13): the sheep in this group were Enclosed in roofed corrals and with a concrete floor. During the closure, they were subjected to a food restriction, with free access to water. Blood samples were taken from all the sheep at 125 days of gestation and from the start of the confinement and until calving, the sheep from group B were bled every 24 hours to assess glycemia and serum concentration of  $\beta$ -hydroxybutyrate (BOHB). Within the first hour of life and at 24, 48 and 72 hours of life, blood samples were obtained from the lambs of the two groups to determine glycemia and serum BOHB concentration. Food restriction from day 125 of gestation caused a decrease in glycemia and an increase in serum BOHB. These metabolic changes in the sheep did not affect the serum BOHB of the lambs. However, lambs born to mothers subjected to food restriction showed a lower glycemic value within the first hour after delivery.



### 3- INTRODUCCIÓN:

La ganadería se ha desarrollado en el país desde sus inicios, favorecida por la gran diversidad ecológica y su importante potencial productivo. En este sentido es que el ovino se ha destacado como uno de los principales actores en el progreso nacional, constituyendo un eslabón importantísimo en la economía uruguaya.

Actualmente Uruguay se impone como uno de los principales exportadores de lana sucia y lavada/peinada (tops), ocupando a nivel mundial el 4to y 6to lugar respectivamente. (Anuario OPYPA; 2019). Así mismo, se posiciona como el tercer exportador de carne ovina (Programa Nacional de Investigación de Carne y Lana. INIA, 2011,)

A pesar de la importancia que posee la producción ovina, no siempre fue acompañada de la misma manera por los esfuerzos humanos para su mejoramiento. Gran parte se debe al hecho de que la especie posee una gran capacidad de adaptación al medio ambiente, siendo capaz de sobrevivir en latitudes extremas, e inclusive cuando las ofertas de alimento son escasas o pobres en nutrientes. Destaca en nuestro país que la mayor parte de la cría ovina se practica en forma extensiva, sobre suelos superficiales de basalto y cristalino, y sobre campos no mejorados (Salgado, 2004).

De otra forma la evolución mundial ha estimulado grandes cambios en la composición del mercado, inclusive en el agro, la producción ovejera ha perdido mucho terreno por la intensificación de la ganadería bovina (más sensible a las variantes ambientales); la agricultura, la cual en el país creció en los últimos años un poco más del 100% de su área (Anuario DIEA, 2019) con un gran impacto de la soja y la forestación, y no menos importante es el crecimiento del mercado de fibras textiles sintéticas con costos de producción más favorables. Todo esto conlleva que la producción sea beneficiosa si tiende al mejoramiento y refuerzo de sus medios, ya que aquella cría extensiva sobre campos naturales está cada vez más lejos de un sistema rentable.

Una consecuencia directa se refleja en los bajos índices reproductivos que se viene obteniendo en los últimos años.

El objetivo principal de nuestra producción ovina comienza basándose en la obtención del mayor número de corderos posible por oveja, que serán los futuros generadores del beneficio económico. Es por esto que instituciones como el Secretariado Uruguayo de la Lana (SUL) y el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) han ido desarrollando tecnologías que acompañen ese necesario crecimiento de la industria ovina, con la meta de producir carne de calidad y lanas más finas.

Uruguay cuenta con un promedio de señalada en los 10 últimos años del 70% (Salgado, 2014)

Este porcentaje es muy bajo para la reposición de las nuevas categorías y para mantener una extracción de cantidades rentable de productos.

La pérdida de corderos se produce fundamentalmente durante el parto, inmediatamente al mismo y sobre todo durante los primeros tres días de vida, producto de la inanición y la exposición al frío. (Azzarini 1974; Mary, 1987).

Para que los corderos puedan sobrellevar de manera exitosa estas primeras 72 hs de vida es necesario, entre otras cosas, que las madres hayan llegado al parto en óptima condición corporal, además de haber podido superar eficientemente el balance energético negativo que produce la gestación en el último trimestre.

Una causa importante de muerte de ovejas en nuestro país es sin dudas la Toxemia de la Gestación (Cal Pereyra y col, 2012; Cal Pereyra, 2007). Esta patología es un trastorno metabólico que afecta a las ovejas preñadas durante el último tercio de la gestación, especialmente en las últimas seis semanas, como consecuencia de la incapacidad del organismo para mantener la homeostasis energética al enfrentarse, en esta etapa, a un balance energético negativo (Harmeyer y Schlumbohm, 2006; West, 1996). Esta patología destaca por la incapacidad para mantener la homeostasis energética y con ello la disminución de la glicemia y el aumento de los cuerpos cetónico en sangre.

El cerebro y los tejidos fetales no son capaces de utilizar los cuerpos cetónicos como fuente de energía (Heitmann y col, 1987) y se ha demostrado en humanos y en rata que tanto la hipoglicemia como los cuerpos cetónicos, en especial el betahidroxibutirato (BOHB) el que es producido en mayor cantidad y atraviesa la barrera placentaria, actúan sinérgicamente para producir retraso del crecimiento e inducir malformaciones, lo cual se acompaña de hipoxia, acidosis metabólica y aumento de las muertes perinatales (Polanco Ponce y col, 2005). Las ovejas que se recuperan paren un solo feto muerto o débil que muere a los pocos días.

Es por esto que el presente trabajo se enfoca en determinar la influencia de las alteraciones metabólicas, tales como la hipoglicemia y la hipercetonemia, de la oveja con Toxemia de la gestación subclínica, en el metabolismo de sus corderos y cómo afectaría esto en la supervivencia inmediata de los mismos.

## 4- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 4.1- DATOS HISTÓRICOS

El Uruguay, desde su comienzo como nación ha sido caracterizado por ser un país que basa su desarrollo económico y social fundamentalmente en la explotación agropecuaria, teniendo como pilar de la producción pecuaria al bovino y al ovino. Particularmente el ovino fue durante décadas el principal generador de divisas del país, siendo además la especie con mayor cantidad de cabezas de ganado.

Fue así, que el siglo XX se caracterizó por un importantísimo desarrollo del sistema productivo ovino, comenzando dicho periodo con un aumento sostenible de la producción particularmente lanera, siendo esta responsable hasta la década del 20 del 37 % de las divisas ingresadas al país como exportaciones. Al mismo tiempo comienza una etapa de evolución donde se apuntaba a mejorar la calidad de la lana, logrando el país, un mejor posicionamiento comercial a nivel mundial. Esto produce que, a mitad del siglo, la venta de lana ocupe el 50% del total de las exportaciones.

No obstante, los altos precios internacionales trajeron aparejado un cambio a nivel global hacia la fabricación de fibras sintéticas, echo que cambiaría la historia de la producción lanera hasta los días de hoy. En las décadas venideras se necesitó un cambio hacia la mayor intensificación en el procesamiento de la lana, es entonces que comienza a desarrollarse un aumento en la producción y venta de lana industrializada, y Uruguay pasa a tener un perfil de exportación de tops, lana lavada y peinada.

A partir de los años 90, con las crisis económicas mundiales, la caída de los sistemas socialistas, y los problemas de países como Australia para sostener el mercado, comienza una drástica caída del negocio mundial, y con ello la disminución del stock ovino global, llegando en la actualidad apenas a la mitad de animales. (FAO, 2014).

### 4.2- RECORDATORIO FISIOLÓGICO DEL METABOLISMO OVINO

#### 4.2.1 *Requerimientos energéticos de los animales*

Los animales necesitan satisfacer sus necesidades energéticas para su supervivencia, desarrollo y producción, así como cubrir sus demandas proteicas, vitamínicas y minerales (Borrelli, 2001).

Según Borrelli, la cantidad de energía que los animales (mamíferos superiores) precisan al día se desprende de contemplar las siguientes actividades: metabolismo de ayuno, termorregulación, actividad física, gestación, lactación, crecimiento y desarrollo del tejido adiposo.

**Metabolismo de ayuno:** Es la cantidad mínima necesaria de energía, en un animal que no está creciendo, para mantener vivos sus tejidos. Si este requerimiento no es satisfecho, dicho animal debe degradar sus propios tejidos, con la consiguiente pérdida de peso (Cal, 2007)

**Termorregulación:** Los ovinos, como mamíferos homeotermos, necesitan mantener su temperatura constante, encontrándose sometidos a la diferencia entre el calor generado y el perdido. En estos animales el calor es producido por las funciones metabólicas, metabolismo en ayuno, la fermentación ruminal, la síntesis o degradación de tejidos, el ejercicio y casi cualquier actividad bioquímica del organismo.

De la misma manera, existe una pérdida constante de calor, favorecida por la diferencia de temperatura con el medio externo, siendo en esta latitud menor a la temperatura corporal gran parte del año.

Cuando se pierde más calor del producido, por dichos procesos, el animal debe acelerar su metabolismo y quemar grasa a fin de mantener la homeostasis térmica (Borreli, 2001)

**Actividad física:** La actividad física diaria está determinada por las actividades que en animal lleva adelante la mayor parte del tiempo como ser; pastar, beber, reproducción, correr, entre otras. Estas actividades dependen de factores como el momento reproductivo, duración del día y las horas de luz, tipo de terreno, cantidad y tipo de forraje, etc. (Borreli, 2001)

**Gestación:** El desarrollo de la placenta, el crecimiento uterino, producción de líquidos amnióticos, y el crecimiento del propio cordero son consumidores de una importante cantidad de energía (Borreli, 2001). El último tercio de gestación coincide con el máximo desarrollo del feto, por lo que el requerimiento aquí es sumamente superior.

**Lactación:** Ya desde el último mes de gestación la glándula mamaria sufre un marcado desarrollo y en la última semana se completa, con la producción de calostro. Efectivamente el manejo nutricional de las madres cumple un rol importantísimo en el futuro desempeño mamario y posterior sobrevivencia de los corderos.

**Crecimiento:** Es la energía necesaria en los animales jóvenes fundamentalmente, utilizada para su crecimiento; conformación ósea y desarrollo de tejido muscular (Borreli, 2001).

**Tejido Adiposo:** El tejido graso conforma el último eslabón de la cadena energética de los animales. Por ser el tejido de mayor reserva del organismo, va a estar formado por la diferencia en los niveles de energía consumido, en tanto que un exceso de energía lleva a la producción de dicho tejido, mientras que le falta del aporte nutricional provoca la degradación del mismo para la obtención de energía extra.

#### *4.2.2 Requerimiento de la oveja gestante.*

Los requerimientos nutritivos de los ovinos hacen referencia a las necesidades diarias de energía, proteína, agua, vitaminas y minerales, para mantener un adecuado crecimiento, desarrollo y reproducción. Sin embargo, dichas necesidades

serán diferentes frente al sistema de producción, situación fisiológica (encarnerada, gestación, lactación, mantenimiento), edad y sexo, entre las más importantes.

Es en este sentido que la gestación, sobre todo en los últimos 45-50 días, conforma un momento crítico en el funcionamiento energético ovino. La mantención de ese equilibrio es de fundamental importancia, ya que los animales se encuentran sumamente propensos a los trastornos metabólicos tal como la toxemia de la gestación.

El requerimiento energético para la unidad feto-placenta puede llegar a representar hasta el 45% de la glucosa materna y el 72% de la oferta de aminoácidos maternos (Bell, 1995).

El aumento en las necesidades energéticas al final de la gestación está debido al hecho de que cerca del 85% del crecimiento fetal sucede durante las últimas seis semanas. (Rook, 2000; Robinson, 1996; Russel, 1984). El incremento de las demandas fetales puede ser tan grande que Rook (2000) estipula que en la gestación avanzada los requerimientos energéticos de las ovejas aumentan sobre los de mantenimiento hasta un 150% en ovejas con gestación simple y hasta un 200% en ovejas con gestaciones dobles. Por ello existe una estrecha relación entre el nivel de nutrición de la oveja durante este período y el peso del cordero al nacimiento (Osgerby y col, 2002).

#### *4.2.3 Metabolismo de la glucosa en rumiantes*

Un poco más intrincado parece ser el sistema por el cual los rumiantes llegan a conseguir y utilizar la glucosa, también como principal fuente de energía.

La adaptación al consumo de vegetales, ha hecho que en determinada manera puedan digerir los azúcares complejos como la celulosa y la hemicelulosa, componentes principales de la pared vegetal. Como se sabe los animales no son, por sí solos, tan eficientes digestores de la materia vegetal. Los alimentos consumidos por los rumiantes como forrajes y alimentos groseros fibrosos están formados principalmente por polisacáridos con enlaces  $\beta$ -glucósidos, que no pueden ser digeridos por las enzimas animales (McDonald; 2002).

El estómago de los rumiantes está adaptado y dividido en 4 cámaras, siendo el rumen el principal en tamaño. Este órgano asemeja una cámara de cultivo, donde viven y se desarrollan millones de microorganismos: bacterias, protozoarios, hongos y levaduras principalmente, capaces de digerir la materia vegetal casi en su totalidad, para posteriormente ser más fácilmente aprovechables para dichos animales (McDonald;2002).

La digestión de los microorganismos, va a producir fundamentalmente ácidos grasos volátiles (AGV), que son la fuente de energía aprovechable.

En los rumiantes gran parte de los carbohidratos consumidos son componentes de la pared celular vegetal: celulosa, hemicelulosa y lignina, esta última no es un carbohidrato propiamente dicho, pero está íntimamente relacionado a las dos anteriores e interfiere en la digestión de dichos azúcares. Un porcentaje menor de carbohidratos son ingeridos como azúcares simples o hidrosolubles, como el almidón. Estos azúcares van a ser aprovechados por los microorganismos para su propio metabolismo, logrando así que la cantidad de hidratos de carbono que atraviesen los pre estómagos lleguen al duodeno para su absorción directa sea realmente escasa. Sin embargo, como se menciona anteriormente, un 70% de los

requerimientos de energía van a ser aportados por los AGV, siendo la absorción intestinal mínima (Cirio y Tebot, 2000)

En los rumiantes entonces la principal ruta de obtención de glucosa no es por absorción directa, sino por neoglucogénesis a partir de los ácidos grasos volátiles, y entre ellos el propionato. La neoglucogénesis se realiza 90% en hígado y 10% en riñón (Cirio y Tebot;2000) y a diferencia de los monogástricos, ésta es constante (Ndi bualonji y Gadeau, 1993).

Los principales precursores de la neoglucogénesis son el ácido propiónico, los aminoácidos neoformadores (alanina y glutamina principalmente), el lactato y el glicerol. En contraposición los otros dos ácidos grasos volátiles formados, el acetato y el butirato, son cetogénicos (precursores de cuerpos cetónicos).

La proporción de ácidos grasos formados y absorbidos dependerá del tipo de alimentación recibida por los animales (McDonald; 2002).

Cuando el contenido de fibra vegetal en la alimentación es alto, la proporción se va a inclinar hacia la formación de acetato, mientras que si en la dieta hay mayor cantidad de concentrados (almidón) habrá más producción de propionato (McDonald; 2002).

El propionato es el ácido neoformador más eficaz y puede abastecer entre el 50 y 70% de las necesidades de la neoglucogénesis (Ndi bualonji y Gadeau, 1993). Menor importancia como glucoformadores tiene el lactato, los aminoácidos y el glicerol, cubriendo el 10-20%, 7-14% y el 6% de las necesidades respectivamente. (Cirio y Tebot, 2000; Huntington y Prior, 1983; Bergman y col, 1966).

El propionato y el lactato se obtienen fundamentalmente de la ración y es por esto que cuando el animal se presenta en ayunas o el nivel de alimentación es bajo los precursores de la neoglucogénesis cambian sus proporciones.

Si el plano nutricional es inferior y se agotan las reservas de propionato y lactato, se utilizan los aminoácidos, aunque estos tienen un límite no tan extenso, motivo por el cual la perpetuación de dicho balance energético negativo supone la utilización de grandes cantidades de glicerol como neoglucogénico, estimulando este estado la lipomovilización (Cirio y Tebot, 2000).

#### *4.2.4 Metabolismo lipídico y cuerpos cetónicos.*

El tejido adiposo del organismo constituye la fuente de energía almacenada. Está formado principalmente por sus células, los adipocitos conteniendo los Triacilglicéridos (TAG) (Cal Pereyra y col., 2012).

Cada molécula de TAG se compone de tres ácidos grasos y su esterificación con una molécula de glicerofosfato ( $\alpha$ -GP) (Cirio y Tebot, 2000).

Para cumplir esa función de reserva, ante un déficit de energía (menor disponibilidad de glucosa), el rumiante utiliza los TAG almacenados, transportándolos y metabolizándolos hasta la obtención de ATP.

Episodios como el último tercio de la gestación, y la lactación, son críticos desde el punto de vista homeostático, debido a que los requerimientos se tornan superiores al consumo, razón por la cual el ovino se ve obligado a movilizar grandes cantidades de reservas grasas pudiendo volverse una situación patológica, desencadenado Toxemia de la Gestación. Así mismo si se considera, que al final de la gestación el volumen de los pre estómagos se encontrará reducido en tamaño por el aumento de volumen del útero (RooK, 2000; Andrews, 1997; Gibbons, 1996)

Ante una necesidad energética aumentada, se produce una importante lipomovilización, con la consiguiente hidrólisis de TAG y liberación a la sangre con un marcado aumento del glicerol y los ácidos grasos no esterificados (AGNE) sanguíneos. El glicerol es captado por el hígado y utilizado para la síntesis de glucosa o para la reesterificación de TAG (Cirio y Tebot, 2000; Chilliard, 1987). Los AGNE liberados por su parte, albúmina mediante, van a ser transportados y captados por los tejidos para su oxidación completa con la consiguiente obtención de energía. Este mecanismo es denominado  $\beta$ -oxidación. Una vez en el interior de la célula, los ácidos grasos, son incapaces de atravesar la barrera mitocondrial por sí solos, es por esto que son activados en el citosol a acil coenzima A (acilCoA), para ser transportados a la mitocondria por el sistema carnitina acil transferasa. Luego en el interior de la mitocondria, la  $\beta$ -oxidación se produce, de tal forma que el acil-CoA es llevado hasta acetil coenzima A (acetilCoA) que va a ingresar al ciclo de Krebs para unirse con el oxalacetato o se va a transformar en cuerpos cetónicos (Contreras, 1998; Chilliard, 1987; Michaux y col, 1981). Nunca la degradación de ácidos grasos va a producir glucosa, sino que produce un metabolito (acetilCoA) capaz de producir energía, para tejidos como el hígado, musculo y tejido adiposo pardo (Cirio y Tebot, 2000).

En los momentos en que la cantidad de grasa movilizada excede la capacidad de oxidación del hígado el acetil-CoA no ingresa al ciclo de Krebs, por insuficiencia de oxalacetato, así la acetil-CoA excedente da origen a los cuerpos cetónicos (Cirio y Tebot, 2000; Contreras, 1998; Michaux y col, 1981).

Los cuerpos cetónicos son considerados metabolitos, como componentes normales, de la sangre de rumiantes y su sola presencia no sugiere enfermedad (Herdt y Emery, 1992; Michaux y col, 1981). Los mismos autores afirman que son intermediarios comunes del metabolismo celular y pueden constituir una importante fuente de energía al producir acetilCoA mediante su degradación.

Los principales cuerpos cetónicos producidos son el acetoacetato, el  $\beta$  hidroxibutirato (BOHB), la acetona y en menor proporción el isopropanol.

En los rumiantes la cetogénesis se realiza en dos lugares, la pared ruminal y el hígado. En el primero, la cetogénesis se produce cuando el ácido butírico es absorbido a partir del alimento a través de las papilas y transformado en BOHB. En el hígado sin embargo la formación de cuerpos cetónicos se produce a partir de la acetilCoA, siendo su magnitud proporcional a la lipomovilización (Cirio y Tebot, 2000; Michaux y col 1981).

Normalmente la acetil-CoA proviene del metabolismo del piruvato, de ciertos aminoácidos como como el triptofano, la lisina, la fenilalanina, la tirosina y la leucina (Michaux y col, 1981), y del catabolismo de los AGNE, siendo éstos los que van a aportar cantidades significativas, cuando se instala un proceso patológico con incapacidad de mantener la homeostasis energética.

En los rumiantes bien alimentados se producen cuerpos cetónicos tanto a nivel ruminal como hepático.

En las ovejas con buen nivel de alimentación, el epitelio ruminal es el principal formador de cuerpos cetónicos, pero esta proporción puede variar significativamente y es por esto que ya sobre el final de la gestación y durante la lactación, los requerimientos de energía son máximos, así como la metabolización de las grasas y por ende la cetogénesis alimentaria es mínima, aumentando desproporcionalmente la producción hepática de cuerpo cetónicos. La cetogénesis se realiza fundamentalmente en la mitocondria. El proceso comienza con dos moléculas de

acetilCoA y su unión mediante la enzima  $\beta$  cetotilasa, formándose acetoacetil-CoA. Posteriormente se incorpora una tercera molécula de acetil-CoA, resultando en  $\beta$ hidroxi-  $\beta$  metilglutaril-CoA, un metabolito intermedio; luego se libera el último acetilCoA añadido y de esta forma se obtiene el acetoacetato. El rumiante puede convertir al acetoacetato en BOHB en el citosol mediante la reducción del acetoacetato, entre tanto la acetona se va a formar a partir de la descarboxilación de este último, y el isopropanol es formado por oxidación de la acetona antes formada. (Diez Prieto y col, 1998; Michaux y col, 1981).

La regulación de cantidades de cuerpos cetónicos formados va a depender de la cantidad de precursores, con el exceso de acetilCoA, proveniente de la  $\beta$ -oxidación (Cirio y Tebot, 2000).

La cantidad de AGNE degradados va a acelerar la formación de cuerpos cetónicos, dependiendo entonces de aquellas hormonas con actividad lipolítica como adenocorticotrofina (ACTH), los glucocorticoides, la somatotrofina (STH) y las catecolaminas. Por otra parte, la insulina va a ser el principal factor anti lipolítico, al estimular la utilización de glucosa por los tejidos y entonces favorecer el uso de acetilCoA en el ciclo de Krebs (Cirio y Tebot, 2000; Michaux y col, 1981).

La alteración patológica de la hipercetonemia en el organismo produce acidosis metabólica, al comportarse como ácidos fuertes ( $pK \cong 4$ ). Al pasar los cuerpos cetónicos a la orina se produce una eliminación de ciertos iones ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{++}$ ), contribuyendo al desequilibrio electrolítico, deshidratación y fomentando la hipocalcemia. Además, el acetoacetato tiene un efecto directo sobre cerebro, provocando una disminución en el consumo cerebral de  $O_2$  (Michaux y col, 1981).

### 4.3 *Toxemia de la gestación.*

#### 4.3.1 *Introducción*

La toxemia de la gestación se define como un trastorno metabólico que ocurre en ovejas en el último tercio de gestación, más exactamente en las últimas 6 semanas, debido a la incapacidad de los ovinos de mantener la homeostasis energética, teniendo que sobrellevar en esta etapa un balance energético negativo (Bonino y col, 1987).

En los últimos 45 días, se desarrolla el 85% del feto y las membranas placentarias (Robinson, 1996; Russel, 1984; East, 1983), además de aumentar el volumen uterino y disminuir la capacidad de expansión del rumen, motivo por el cual los requerimientos de energía van a superar la capacidad de consumo (RooK, 2000; Andrews, 1997; Gibbons, 1996)

Esta patología se caracteriza por hipoglicemia, con el aumento de movilización de las reservas grasas e hipercetonemia, además de incremento de los niveles plasmáticos de cortisol y una alteración funcional hepática importante (Radostits, 2001).

A mediados de siglo XIX, Seaman (1845) describe por primera vez esta patología, asociando una cantidad de muertes de ovinos con esta patología.

Bonino y col (1987) destacan que esta patología conforma uno de los principales procesos patológicos de los ovinos del Uruguay, aunque se necesitan más trabajos



para demostrar las pérdidas reales que ocasiona. Prácticas inadecuadas de manejo, limitaciones en la disponibilidad de alimento tanto cualitativa como cuantitativamente, deficiente condición sanitaria de los animales y una selección inadecuada son las causas predisponentes principales (Bonino y col, 1987). Radostis (2001) sostiene que sin tratamiento la enfermedad alcanza un índice de mortalidad del 100%, aumento del número de muertes neonatales y generalmente menor calidad de lana. La toxemia de la gestación ocurre esencialmente a consecuencia de una subnutrición prolongada, asociada a factores estresantes con disminución de la ingesta (Bonino y col; 1987).

#### 4.3.2 Etiología

Como se ha mencionado en el capítulo anterior, el desarrollo de la enfermedad está asociado a dos o más factores que actúan concomitantemente para predisponer al animal, por ende, Bonino y col (1987) propone clasificar estos factores dentro de tres grandes grupos: nutricionales, estresantes e inherentes al animal.

**Nutricionales:** La disminución del consumo y el ayuno al final de la gestación, así como el aumento de los requerimientos fetales, conducen a los ovinos a un balance energético negativo y los predisponen a la Toxemia de la gestación.

La subnutrición causa una disminución de la glucosa circulante materna y fetal, así como disminución en la circulación de glucosa uterina, umbilical y placentaria (Chandler y col, 1985).

La principal causa de escases de energía se asocia a una ingesta insuficiente de alimento, ya sea por bajos valores nutricionales o por limitantes del consumo. (Rook, 2000; Contreras, 1998; Koenig y Contreras, 1984). También la composición alimentaria juega un rol importante, ya que por ejemplo ensilados mal conservados, dietas ricas en proteína y pobres en energía, carencias de vitamina B12 y exceso de grano, van a contribuir al desarrollo de la enfermedad (González Montaña y Rejas López, 1995; Bonino y col, 1987).

Asimismo, la sobrealimentación en los primeros meses de gestación, producen un aumento de la grasa corporal, sobre todo a nivel intra abdominal, lo que reduce el tamaño del rumen y por lo tanto limita el consumo (Pastor y col, 2001; Forbes y Singleton, 1964). La lipomovilización depende del grado de inanición, si la oveja está muy engrasada, no sería necesario un estímulo estresante para desencadenar la Toxemia (Gonzales Montaña y Rejas Lopez, 1995; Radostis, 2001)

Egen y col (1970), sostienen la posibilidad de desarrollar esta patología es inversamente proporcional a la ganancia de peso en los dos primeros tercios de la gestación, y además influye de manera importante la relación peso oveja/peso cordero, más que el simple peso del cordero.

**Estresantes:** Se consideran factores estresantes todos aquellos acontecimientos que sugieren para el animal un mayor gasto de energía, mayor consumo de sus reservas energéticas y disminución del consumo de alimentos (Pastor y col, 2001; Gonzales Montaña y Rejas López, 1995).

Se destaca el frío, la lluvia, las heladas, los vientos, la nieve, granizos, o una inadecuada protección frente a estos factores climáticos, por lo cual el ovino gestante debe modificar bruscamente sus hábitos alimenticios.

Otras causas comprenden transportes prolongados, competencia por el alimento, esquila, cambios radicales del tipo de alimento, parasitosis severa, enfermedades recurrentes entre otras (Pastor y col, 2001; Rook, 2000; Andrews, 1997; González Montaña y Rejas López, 1995; Bonino y col, 1987; Koenig y Contreras, 1984; Forbes y Singleton, 1964)

**Inherentes al animal:** Estos son factores que afectarían a cada animal en particular, y sobresalen ovejas que gestan más de un cordero o uno muy grande (Harmeyer y Schlumbohm, 2006), sumado a la disminución de los movimientos, menor búsqueda y consumo de alimento.

También inciden la edad, la dentición, enfermedades intercurrentes como las afecciones podales, las parasitosis intestinales que afectan la absorción de nutrientes y los parásitos hepáticos como las fasciolas, que comprometen el metabolismo hepático (González Montaña y Rejas López, 1995; Ortolani y Benesi, 1989; Bonino y col, 1987).

Varios autores, como Andrews (1997) y Wastney y col (1982), proponen que se encuentra una susceptibilidad individual genética, por la cual varía el metabolismo hepático de cada animal, así como la capacidad de la neoglucogénesis.

#### 4.3.3 Patogenia

La toxemia de la gestación es una alteración metabólica energética, y aunque su etiopatogenia no es del todo conocida, es ésta enfermedad una forma severa de cetosis, en donde se distingue una disminución de los valores de la glicemia con aumentos de los cuerpos cetónicos (Rook, 2000; Andrews, 1997; Bonino y col, 1987).

El desarrollo de algunos tejidos fetales, es altamente más costoso en términos energéticos en comparación con los adultos, y por ende requiere de más cantidad de alimento por cada unidad de tejido formado (Gibbons, 1996).

En el último tercio de gestación los requerimientos energéticos aumentan hasta 150 % en ovejas con gestaciones únicas y hasta 200% con gestación mellíceras, con respecto al mantenimiento; por otra parte, las necesidades de la unidad feto-placentaria pueden representar hasta el 45% y el 72% de la glucosa y los aminoácidos maternos respectivamente (Bell, 1995; Marteniuk y Herdt, 1988).)

Payne (1977) expone que el drenaje de glucosa por día dispuesto al mantenimiento de la gestación puede ser de hasta 32 gr de glucosa. Esta cantidad de pérdida de glucosa materna no puede ser del todo compensada en la Toxemia de la gestación, lo que supone un descenso de la glicemia de hasta 20 miligramo de glucosa por

mililitro de sangre, lo que ocasiona una disminución del rendimiento cerebral. (Bonino y col, 1987).

Sumado al gran aumento de los requerimientos se agrega la disminución del volumen digestivo, como consecuencia del aumento del útero grávido, con la resultante disminución del consumo de materia seca (Rook, 2000; Andrews, 1997; Gibbons, 1996).

La resultante hipoglicemia estimula la neoglucogénesis a partir nuevos precursores, debido a la disminución de propionato dietético, como el glicerol y los aminoácidos glucoformadores. Este estímulo supone la liberación de glucocorticoides, vía ACTH hipotalámica, con la ulterior lipolisis y la liberación al torrente sanguíneo de glicerol y AGNE (Bonino y col, 1987).

Estos ácidos grasos liberados son captados en su mayoría por el hígado, donde se pueden re esterificar con una molécula de glicerol, o bien oxidarse y producirse abundante cantidad de acetilCoA.

Al encontrarse disminuida la glucosa, también lo estará el oxalacetato, ya que funciona como precursor, por lo cual el acetilCoA no puede ingresar al ciclo de los ácidos tricarbóxicos, y comienza a acumularse en forma patológica. El acetilCoA es entonces desviado a una ruta alternativa donde se metaboliza y transforma en cuerpos cetónicos. A su vez, si el balance energético se acentúa y sigue aumentando la lipomovilización, la alteración hepática va a producir que se vea alterada la beta oxidación, y por ello los AGNE que llega al hígado van a ser reesterificados y quedarán acumulados en los hepatocitos, predisponiendo a la esteatosis hepática (Herdt, 1988a).

Sumado esto a la incapacidad del hígado de producir las lipoproteínas, encargadas de transportar los ácidos grasos al tejido adiposo (Burt, 2001; Cirio y Tebot, 2000).

Rock (2000) y Radostis (2001) clasifican la aparición de Toxemia de la gestación de acuerdo al momento y situación de ovinos como 1) toxemia primaria de la gestación, 2) toxemia de la gestación de la oveja gorda, 3) toxemia de la gestación por inanición y 4) toxemia secundaria de la gestación.

Toxemia primaria de la gestación: es la forma más común de aparición, y su desencadenante principal es un descenso en el plano nutricional, sumado a un corto periodo de ayuno propiciado generalmente por algún factor estresante, como manejo, clima, entre otros.

El cambio a pasturas nuevas, produce que los animales disminuyan el consumo por desconocimiento; el frío y las inclemencias climáticas producen conjuntamente reducción del consumo, así como un stress térmico, el transporte o encierros para trabajos sanitarios también influyen en la aparición del cuadro.

Toxemia de la gestación de la oveja gorda: Se produce sin una inducción de estrés, ya que el solo hecho de tener demasiada grasa abdominal e intra abdominal, y el aumento del tamaño del útero, producen una merma del consumo y una rápida lipomovilización.

Toxemia de la gestación por inanición: Es poco probable su aparición, y se debe a extensos ayunos o deficiencias nutricionales durante gran parte de la gestación, generalmente en sistemas extensivos, o en sistemas donde se realiza un mal manejo.

Toxemia secundaria de la gestación: Es secundaria a otra enfermedad intercurrente, como suelen ser patologías podales, parasitarias (haemonchosis), piojos y sarna o, cualquier patología que afecte la búsqueda e ingestión de alimento.

#### 4.3.4 Signos clínicos

El comienzo de las manifestaciones clínicas es relativamente repentino, aunque es probable que la enfermedad se venga desarrollando desde tiempo atrás, en forma subclínica (Cal Pereyra y col., 2012).

La mayor parte de los signos clínicos se explican por la intensa hipoglicemia e hipercetonemia que sufre la oveja con Toxemia de la gestación. Cuando los niveles de glucosa en sangre descienden desde 50 a 70 mg/dl, valores considerados fisiológicos para esta especie, hasta los 20 mg/dl se produce una encefalopatía hipoglicémica con lesiones cerebrales irreversibles, la que es causante de la sintomatología nerviosa de esta enfermedad (Cal Pereyra y col., 2012). La disminución del metabolismo cerebral bajo condiciones deficitarias de energía se verá agravado además por el aumento de la concentración sanguínea de cuerpos cetónicos, especialmente el acetoacetato y su efecto nocivo directo sobre las células neuronales. (Radostits y col, 2002; Bonino y col, 1987)

Los síntomas pueden no aparecer en etapas tempranas de la enfermedad, cuando ésta es subclínica y solo se detecta un aumento en los niveles de cuerpos cetónicos en sangre y orina, disminución de la condición corporal y baja en la producción.

A medida que la enfermedad avanza, estos síntomas se hacen cada vez más intensos. Al principio los animales se muestran apáticos, torpes, lentos, alimentándose cerca del rebaño y; a mayor afección se separan del rebaño y se extravían (Rock, 2000).

Al aumentar el estado depresivo de los animales, éstos dejan de reaccionar frente a la presencia del hombre o de perros, pueden mostrar incomodidad, se reusan a moverse, comienzan a perder los reflejos oculares y auditivos, con marcha cada vez más dificultosa chocando contra objetos y tienden a permanecer inmóviles, presionando la cabeza sobre obstáculos. (Radostis 2001; Rook, 2000; Bonino y col, 1987).

Presentan disminución del reflejo pupilar a la luz, con temperatura y pulso normal y frecuencia ruminal al principio, usualmente normal (Marteniuk y Herdt, 1988), produciéndose luego constipación, heces secas y duras.

A medida que aumenta la depresión y se agrava la hipoglicemia los animales afectados comienzan con posturas anormales como son las contracciones musculares tónicas, dorsiflexión cervical y lateral, temblores musculares faciales con rechinar de dientes y movimiento de labios y lengua (González Montaña y Rejas López, 1995; Marteniuk y Herdt, 1988; Bonino y col, 1987; Koenig y Contreras, 1984).

Ya en etapas avanzada de la enfermedad la acidosis metabólica desarrollada produce un aumento de la frecuencia respiratoria, comienzan contracciones mioclónicas, torneo con caminatas compulsivas en círculos y convulsiones, hasta adoptar el animal decúbito esternal con la cabeza hacia unos de sus flanco, progresando al decúbito lateral a los 3 o 4 días de comenzados los síntomas, manteniéndose en esta posición durante unos 3 o 4 días más, desencadenándose la muerte del 80 a 90 % de los animales no tratados. (Rock, 2001).

A menudo se produce la muerte fetal, con incapacidad para su expulsión, producto de debilidad de la musculatura uterina y abdominal, así como poca dilatación cervical. En los casos de que llegan al parto puede existir retención de placenta lo

que puede derivar en metritis y posteriormente muerte de la oveja (Rook, 2000; Andrews, 1997; Marteniuk y Herdt, 1988).

Si se produce el aborto y la oveja es capaz de expulsar el feto muerto, las chances de recuperación son altas, aunque ese animal va a producir menos leche y el reinicio de la actividad cíclica del ovario, y la fertilidad estarán muy deprimidas (Kulcsar y col, 2006).

Por otra parte, el aumento patológico de los cuerpos cetónicos, comportándose como ácidos fuertes, produce una acidosis metabólica con la consecuente disnea compensatoria, agravándose generalmente dicha disnea por el decúbito (Prieto, 1994). Al ser la acetona muy volátil es característica su eliminación pulmonar, provocando un olor ácido del aliento espirado (Ortolani y Benesi, 1989).

Otro signo es la aparición de cuerpos cetónico en orina en concentraciones supra fisiológicas, ya que en condiciones normales la orina de los rumiantes posee cierta cantidad de estos, en valores que oscilan de 10 a 50 mg/dl (Bonino y col, 1987). Como consecuencia directa de la cetonuria se arrastran algunos cationes ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ), lo que puede conducir a deshidratación.

La gravedad de los signos clínicos se ha relacionado tanto con los niveles de glucosa como con los de los cuerpos cetónicos en sangre (Radostits y col, 2002; González Montaña y Rejas López, 1995; Prieto, 1994; Ford, 1988; Forbes y Singleton, 1964).

#### *4.3.5 Hallazgo de necropsia*

El estado de la canal va a variar de acuerdo a la condición corporal de la oveja al inicio de la enfermedad. Es así que se pueden encontrar ovejas muy emaciadas hasta animales con excesiva grasa abdominal y subcutánea (Rook, 2000; Andrews, 1997). Esta grasa puede encontrarse con aspecto gelatinoso debido a la licuefacción de casos más crónicos o en casos agudos delimitarse a áreas bien localizada (Bonino y col, 1987).

Asimismo, es muy orientativa la presencia de uno o más fetos muertos en el útero con determinado grado de autólisis.

El hígado se encuentra generalmente agrandado, friable, pálido de color que va desde rosado al amarillo-naranja, con consistencia grasa, presentándose histológicamente infiltración grasa. Las glándulas adrenales y el corazón también pueden mostrar infiltración grasa y degeneración (Marteniuk y Herdt, 1988). Las glándulas adrenales aparte presentan aumento de tamaño que se corresponde a una estimulación constante por la hormona adenocorticotrofina (ACTH) (Cal Pereyra y col, 2012).

A la histopatología cerebral se encuentran cambio como agrandamiento de del núcleo de los astrocitos e hipertrofia, proliferación y necrosis neuronal cerebro cortical. Se han reportado necrosis de las células de Purkinje y vacuolización de la sustancia blanca cerebral y cerebelar subcortical, todo esto producto del sufrimiento

hipoglucémico del Sistema Nervioso Central (SNC) de ovejas con toxemia (Jeffrey y Higgins, 1992).

A nivel placentario los principales cambios encontrados fueron una extensa degeneración de la zona íntima y de los trofoblastos fetales, así como un menor volumen de las vellosidades fetales (Mitchell y Stratford, 1987).

#### 4.3.6. Diagnóstico

Es fundamental el diagnóstico precoz, con la finalidad de salvar a los animales.

Generalmente el diagnóstico es sencillo, siempre y cuando se disponga de información lo más precisa posible sobre la anamnesis, síntomas clínicos, exámenes colaterales y resultado de lesiones post mortem (Cal y col, 2012).

En la anamnesis es necesario conocer la existencia de situaciones estresantes, como adversidades climatológicas, así como la condición sanitaria. Es de suma importancia saber el manejo nutricional de la majada, conociendo la disponibilidad cuantitativa, así como la composición energética, proteica, fibrosa y de precursores de propionato en dicha ración.

El examen clínico debe basarse en los signos clínicos descritos anteriormente.

González Montaña (2003), propone que la valoración de la glicemia y la cetonemia suelen ser suficientes para confirmar el diagnóstico. La hipoglucemia es una ayuda diagnóstica de la toxemia en las fases iniciales de la enfermedad, encontrándose valores de entre 20 y 40 mg/dl (1.1 y 2.2 mmol/l respectivamente), los cuales pueden descender hasta por debajo de 20 mg/dl (1.1 mmol/l (Cal, 2007).

Bonino y col (1997), proponen valores de glicemia normales para esta especie de 50-70 mg/dl equivalente a 2.77 - 3.85 mmol/l. Andrews (1997) encontró normales valores de 30.63 - 64.86 mg/dl equivalente a 1.7 - 3.6 mmol/l. En tanto que Contreras y col (1990) establece valores como  $61.08 \pm 9.1$  mg/dl siendo  $3.39 \pm 0.59$  mmol/l y de  $55.13 \pm 13.33$  mg/dl en melliceras.

La determinación de la glicemia nos servirá de ayuda diagnóstica en las primeras etapas de la enfermedad, puesto que, hacia el final de la misma, puede encontrarse frecuentemente dentro de los valores normales e incluso aumentada debido a la muerte fetal (Radostis, 2001) así como también al aumento de cortisol sérico (Cal Pereyra y col, 2012).

El betahidroxibutirato (BOHB) y la hipercetonemia son modificaciones bioquímicas más fiables del balance energético negativo. Según Sienna y col (1984), cetonemias superiores a 30 mg/dl (1.66 mmol/l), cetonurias mayores a 80 mg/dl (4.44 mmol/l) y glicemia menor a 30 mg/dl (1.66 mmol/l) son indicadores de una gran alteración metabólica.

Varios autores proponen que el diagnóstico de la toxemia se confirma cuando la concentración de BOHB sérico está por encima de los 3,0 mmol/l (54,05 mg/dl), mientras que Pethic y Lindsay (1982) sugieren que el valor diagnóstico del BOHB es de 2 mmol/l (36,03 mg/dl).

Para determinar la concentración de BOHB se puede medir en orina, con test semicuantitativos colorimétricos como el test de Rothera, teniendo una sensibilidad de 10 mg/dl y se considera positivo cuando la mezcla de reactivo y orina vira a color púrpura violáceo y luego se diluye hasta el color original significando esta dilución la cantidad correspondiente de BOHB. En razón de la cetonuria fisiológica de los ovinos se considera positiva la reacción cuando se ha realizado en orina diluida al octavo (Sienna y col, 1984). También existen tiras reactivas que demuestren valores

semicuantitativos (Gonzales Montaña, 2003; Koenig y Contreras, 1984; Sienna y col, 1984). Charle (2017) demostró similitud en los valores de BOHB menores a 2 mmol/l mediante el uso de dispositivos electroquímicos, comparados con métodos colorimétricos de rutina en laboratorio.

Los niveles post mortem de BOHB en el humor acuoso por encima de 2,5 mmol/l (45,0 mg/dl) y mayores de 0,5 mmol/l (9,0 mg/dl) en el fluido cerebroespinal de ovejas son considerados de valor diagnóstico de Toxemia de la gestación (Scott y col, 1995).

La valoración de la acidosis metabólica se puede realizar mediante la determinación del pH urinario, llegando a valores de 5 (Sienna y col, 1984), siendo según estos autores un indicador temprano de la Toxemia de la gestación.

Se produce un aumento del cortisol plasmático ocasionado como una respuesta ante una situación de estrés debido a una respuesta adrenal a la baja concentración de glucosa, así como a la incapacidad del hígado dañado de metabolizarlo (Andrews, 1997).

Aproximadamente el 20% de las ovejas afectadas presenta hipocalcemia porque el aumento de cortisol y el hígado graso interfieren con la hidroxilación de la vitamina D (Andrews, 1997).

Las pruebas de función hepática son anormales (Radostits, 2001). Se constatan niveles plasmáticos elevados de aspartato aminotrasferasa (ASAT) y glutamato deshidrogenasa (GLDH) (Andrews, 1997). La correlación positiva entre aspartato aminotrasferasa y el grado de vacuolización hepática indica que esta enzima podría ser un indicador precoz del daño hepático (Cal Pereyra, 2012). En las últimas etapas de la enfermedad puede aparecer una disfunción renal con aumento de la urea y creatinina sérica, y deshidratación (Andrews 1997; González Montaña y Rejas López, 1995).

Los niveles post mortem de BOHB en el humor acuoso por encima de 2,5 mmol/l (45,0 mg/dl) y mayores de 0,5 mmol/l (9,0 mg/dl) en el fluido cerebroespinal de ovejas son considerados de valor diagnóstico de Toxemia de la gestación (Scott y col, 1995).

#### *4.3.7 Tratamiento*

Los tratamientos de la enfermedad son tan variados como sus resultados, debido fundamentalmente al momento cuando se apliquen, asimismo pueden ser costosos cuando el número de animales afectados es elevado. Incluso, cuando la enfermedad se encuentra en estado avanzado cualquier tratamiento conocido parece ser casi siempre infructuosos. Según González Montaña y Rejas López (1995), Prieto (1994), Marteniuk y Herdt (1988) y Bonino y col (1987) únicamente será posible obtener una respuesta efectiva cuando el tratamiento se instaura en los primeros estadios de la enfermedad, cuando aún no se han establecido lesiones neurológicas irreversibles y cuando el animal aún no está en decúbito.

El objetivo principal del tratamiento se basa en aumentar el suministro y utilización de glucosa a nivel tisular, así como minimizar la formación de cuerpos cetónicos y por ende la utilización de reservas grasas, restablecer el equilibrio hidroelectrolítico, y combatir la acidosis metabólica. (Cal y col, 2007).

**Glucosa:** El tratamiento de esta patología con soluciones de glucosa o dextrosa es una de las terapias más comunes (Cal y col, 2007).

Bonino y col (1987), sugieren suministrar suero glucosado al 5 % en dosis de 250 a 500 ml aplicados por vía intraperitoneal o intravenosa. González Montaña y Rejas López (1995), Prieto (1994), Ford (1988), Koenig y Contreras (1984), East (1983) y Reid (1968) proponen el uso de suero glucosado isotónico al 5-10 % a dosis de 250-1000 ml aplicados por vía intravenosa o intraperitoneal, al menos dos veces al día.

La infusión de glucosa lleva a una reducción de la neoglucogénesis, a la caída de la concentración sérica de los cuerpos cetónicos y a una disminución de los NEFA plasmáticos (Herdt y Emery, 1992).

El principal efecto de la infusión de glucosa en el metabolismo hepático parece ser el de disminuir la cetogénesis (Herdt y Emery, 1992).

Marteniuk y Herdt (1988) proponen que conjuntamente con la aplicación de glucosa se instale un tratamiento de fluidoterapia agresiva, para mejorar los resultados, pero esto se vuelve algo desventajoso cuando el número de animales a tratar es grande.

Se han empleado otros azúcares distintos a la glucosa como la fructuosa y el sorbitol, teniendo la ventaja de que son utilizados primeramente por el hígado y de esta manera se suprime la cetosis de una forma más efectiva a nivel hepático (Herdt y Emery, 1992).

**Precusores de la glucosa:** Esta posibilidad es la administración de precursores de la glucosa por vía oral, como el glicerol, propilenglicol (PG) y las sales del ácido propiónico.

El propilenglicol constituye uno de los tratamientos más utilizados en Uruguay para la Toxemia de la gestación (Bonino y col, 1987).

El PG al ser administrado oralmente tiene una tasa de absorción de 40% por hora, y una vida media de 3 horas.

Sienra y col (1984) administraron un tratamiento oral a base de glicerol-propilenglicol a una dosis de 100 ml, dos veces por día obteniendo resultados satisfactorios y normalizando la glicemia y los cuerpos cetónicos en plasma y orina.

Rook (2000) sugiere que ante los primeros síntomas administrar 100 a 200 ml de propilenglicol vía oral dos veces por día, y en ovejas más afectadas suministrar hasta 4 veces por día junto con la aplicación de dextrosa intravenosa.

Koenig y Contreras (1984) proponen ante un ayuno relativamente repentino glicerol o propilenglicol 125 ml por vía oral dos veces por día, más una inyección intramuscular de 40 UI de insulina.

**Insulina:** Aunque el principal efecto de la insulina sea reducir los valores de glucosa en sangre, son sus efectos antilipolítico y anticetogénicos los que cobran importancia como parte del tratamiento, por ende, cuando se supera el déficit de glucosa, es un buen agente terapéutico (Herdt y Emery, 1992; Brockman y Laarveld, 1985)

En la terapia contra la cetosis se debe administrar junto con glucosa o glucocorticoides, para inhibir su efecto hipoglicemiante.

Según Marteniuk y Herdt (1988) es recomendable administrarla por vía subcutánea o intramuscular a dosis de 20 a 40 UI, una vez al día durante tres días.

**Glucocorticoides:** En los rumiantes normales, como en los monogástricos los glucocorticoides son hormonas hiperglucemiantes y cetósicas, pero a diferencia de estos últimos, en los rumiantes no parece producir directamente un aumento neto de la cantidad de glucosa, sino más bien una redistribución sistémica de la misma, sin aumentar la neoglucogénesis.



Esto último parece ser importante a la hora de la terapia con glucocorticoides puesto que disminuye la NG, y por ende tiene a disminuir la formación de cuerpos cetónicos (Herdt y Emery, 1992).

**Rehidratación oral:** Como se mencionó anteriormente el déficit hídrico y electrolítico también juegan un papel fundamental en el desarrollo de los síntomas clínicos y por eso es acertado siempre que se pueda la realización de fluidoterapia. Buswell y col (1986) señalaron que en la toxemia puede ser muy importante la falta de agua y sodio, y proponen el uso de sustancias hidratantes concentradas vía oral, para activar el proceso de absorción intestinal con rápido pasaje de agua, glucosa y sodio.

**Interrupción de la gestación:** Mediante la interrupción de la gestación se busca detener el pasaje de glucosa al feto, con la consiguiente regularización del metabolismo materno. Se puede realizar por métodos químicos o mediante cesárea (Rook, 2000; Adrews, 1997; Marteniuk y Herdt, 1988; Bonino y col, 1987). Es importante conocer la fecha aproximada de parto si se va a realizar cesárea, puesto que difícilmente sobreviva un cordero con más de una semana entre la cirugía y el parto probable. Asimismo, la inducción debe realizarse cuando los signos todavía no son tan marcados o irreversibles, y obviamente no se produzca la muerte fetal ni su descomposición. Se recomiendan para la inducción del parto la inyección intramuscular de 10 mg de dexametasona durante 4-6 días entre los 133-135 días de la gestación, o una dosis única a partir del día 144 de la gestación, ocurriendo el parto a las 48-72 horas posteriores al tratamiento (Bonino y col, 1987; Hunt, 1976)

#### 4.3.8 Control

Como se describe en el apartado anterior, aunque existan tratamientos satisfactorios, estos se pueden tornar impracticables y poco rentables desde el punto de vista productivo sobre todo cuando la enfermedad se presenta en forma de brote.

Resalta entonces la importancia de la prevención antes de tener que tratar a los animales aumentando la rentabilidad del sistema y trabajando en pos del bienestar animal, siendo el manejo y la alimentación los principales pilares sobre los que se debe trabajar (Martin, 2015).

La ecografía gestacional es de suma importancia, ya que permite clasificar los animales, para un mejor racionamiento. Será necesario confirmar primero aquellas ovejas vacías y gestadas, y éstas últimas en grupos, si portan un solo feto o más de uno. Las borregas, ovejas con más de un feto o aquellas con menor condición corporal serán asignadas a un régimen de alimentación superior tanto cuali como cuantitativamente.

En cuanto a la condición corporal esta debe ser evaluada varias veces durante la gestación, donde aquellas con condición corporal baja deben tener mayor disponibilidad de alimento en tanto que si se presentan ovejas demasiado engrasadas será necesario controlar su ganancia de peso, puesto que el exceso de grasa corporal facilita la aparición de la enfermedad. Las ovejas tienen que encontrarse con una condición corporal de 2.5 a 3 al momento del parto (Radostis, 2001)

Un ovino en buen estado es capaz de desarrollar el comienzo de la gestación incluso con alimento de pobre calidad, pero a medida que avanza la gestación, estos requerimientos son cada vez más difíciles de satisfacer, sumado a esto hay que tener en cuenta la disminución del tamaño de los pre estómagos por la presión del

útero, lo que deprime el consumo; por todo esto a medida que avanza la preñez será necesario disponer de alimento con mayores niveles de energía, como los concentrados, aumentando la relación de materia seca para disminuir el volumen de la ingesta.

Los cambios cualitativos sobre todo deben ser siempre paulatinos, teniendo en cuenta que el desconocimiento del alimento por parte del animal, produce una merma del consumo, lo que podría desencadenar la enfermedad.

Una forma sencilla y quizás más objetiva de medir la situación metabólica del rebaño es mediante la medición de BOHB mediante test electrónicos. Se recomienda la utilización de propilenglicol para la normalización de la glucosa sanguínea de forma profiláctica administrado en la ración a una dosis de 80 a 160 g/día, disminuyendo los niveles de ácidos grasos no esterificados (AGNE) y  $\beta$ OHB e incrementando la glicemia (Martin, 2015).

Otro punto de vital importancia es disminuir los factores estresantes, sobre todos aquellos que podemos controlar como es el manejo de los animales, y en caso de realizar maniobras, hacerlas con la mayor serenidad posible.

Estas maniobras suelen ser esquila preparto, desparasitaciones, vacunaciones, clasificación por condición corporal, entre otras (Pastor y col, 2001; RooK, 2000, González Montaña y Rejas López, 1995; Marteniuk y Herdt, 1988, Bonino y col, 1987; Koenig y Contreras, 1984).

#### *4.4 -Toxemia de la gestación subclínica:*

Según Duffield (2000), se define a la cetosis subclínica como una condición marcada por niveles elevados de cuerpos cetónicos circulantes sin la presencia de signos clínicos de cetosis.

La toxemia subclínica se puede desarrollar desde tiempo atrás antes de presentar manifestaciones clínicas de forma brusca (Cal Pereyra y col., 2012). Esto explica el porqué de instaurar rápidamente un tratamiento antes de que las lesiones neuronales se hagan irreversibles (Bonino y col, 1987; González Montaña y col,). La enfermedad subclínica es la que mayores pérdidas económicas produce porque, al carecer de síntomas clínicos, es subestimada por el productor.

Las ovejas gestantes en ayuno entran rápidamente en hipoglucemia. El drenaje fetal de glucosa aumenta en las ovejas durante la última etapa de la gestación, alrededor de 32 g/día de glucosa (Payne, 1997) por lo que los requerimientos de glucosa no pueden ser compensado por la gluconeogénesis disminuyendo los valores sanguíneos de glucosa hasta 20 mg/dl, lo que ocasiona una depresión del metabolismo cerebral que pueden ocasionar lesiones cerebrales irreversibles. La hipoglucemia estimula la gluconeogénesis a partir del catabolismo del tejido adiposo y proteínas, en base a la liberación de glucocorticoides, vía ACTH, dada la respuesta hipotalámica. Ocurre un aumento persistente en los niveles sanguíneos de glucocorticoides y posterior hidrolisis de los triglicéridos liberando glicerol (glucogénico) y ácidos grasos libres (cetogénicos). Estos AG son movilizados hacia el hígado y catabolizados mediante beta oxidación, con abundante producción de acetil-CoA.

Al estar disminuida la glucosa, también lo estará el oxalacetato, por lo cual el acetil-CoA no puede ser consumido por el ciclo de Krebs. De donde, lo que es una vía

alternativa y de poca importancia en condiciones normales, se torna fundamental en el caso de la cetosis como consumo de acetil-CoA (formación de cuerpos cetónicos). Las consecuencias del aumento de los cuerpos cetónicos son:

- 1) Acidosis metabólica, los cuerpos cetónicos se comportan como ácidos fuertes, disminuyendo el pH sanguíneo.
- 2) Cetonuria por pasaje de los cuerpos cetónicos a la orina, lo que a su vez ocasiona pérdidas de cationes (sodio, potasio, calcio).
- 3) Disminución del consumo cerebral de oxígeno, por efecto nocivo directo del acetoacetato.

A su vez el beta-hidroxibutirato juega un papel predominante en la génesis de la toxemia, mientras que la acetona, deriva del acetoacetato, se elimina por los pulmones, dando el característico olor fuerte al aliento y la orina. (Bonino y col 1997)

La glucemia se puede emplear como ayuda diagnóstica en las etapas iniciales de la enfermedad, los niveles de glucosa en sangre son inferiores a los normales, de aproximadamente 50 mg/dl (Bonino y col, 1997) puede disminuir a 20-40 mg/dl siendo el límite para la toxemia subclínica de  $28,62 \pm 4,33$  mg/dl (Cal Pereyra y col, 2015). La cetonemia con niveles de  $\beta$  hidroxibutirato superiores a 3 mmol/L y la cetonuria con niveles mayores a 80 mg/dl son constantes.

Como recomendación general se debe garantizar que el plano de nutrición se eleve en la segunda mitad de la gestación, incluso si ello significa restringir la dieta en las etapas iniciales. La monitorización durante las últimas 6 semanas de la gestación empleando el BHBA sanguíneo como indicador, con concentraciones de 0,8 mmol/L que indican una ingesta energética adecuada, de 0,8-1,6 mmol/L indicativos de una ingesta energética inadecuada, y niveles superiores de 1,6 mmol/L son indicativos de un desequilibrio nutricional grave (Radostis 2001)

#### *4.5 – Placenta y transporte de metabolitos*

El término placenta se aplica a todo tipo de órgano formado por tejidos maternos y fetales que estén relacionados con la transferencia de sustancias desde la madre al embrión. La placenta presenta un acelerado metabolismo, alta capacidad endocrina y una enorme superficie de intercambio (barrera placentaria), con un selectivo control de la transferencia de sustancias entre la madre y el feto (Palacin y col, 1984). La transferencia placentaria entre sangre materna y fetales debe realizarse a través de cuatro capas celulares además de la gruesa lamina basal. De acuerdo a la naturaleza bioquímica de las sustancias, éstas van a atravesar la barrera feto placentaria de diferentes maneras como son: arrastre por solvente, difusión pasiva; difusión facilitada; transporte activo y pinocitosis (Palacin y col, 1984)

#### **Transferencia de metabolitos:**

**Glucosa:** La glucosa se considera el principal sustrato del metabolismo fetal. Según Widdas (1952) la transferencia placentaria de glucosa se da por difusión facilitada,

en tanto, al poseer la oveja una placenta epiteliochorial, el gradiente de concentración de glucosa a ambos lados de la barrera feto placentaria será mayor debido a un mayor número de capas celulares que ofrecen mayor resistencia al paso de sustancias.

En la oveja la estimación de transferencia de glucosa de madre a feto oscila, según los autores, entre 0,017 y 0,020 mmol/minuto/kg de feto (99 a 115 mmol/día/feto) y la relación consumo de glucosa / oxígeno es solo de 0.49 lo que significa que la glucosa contribuye únicamente con el 50% al metabolismo oxidativo del feto (Palacin y col, 1984)

En definitiva, los factores que afecten el consumo de glucosa del feto o la glicemia de la madre tienen incidencia sobre el gradiente de transferencia de glucosa (Palacin y col, 1984)

**Aminoácidos:** las tasas de recambio de proteínas totales como la de distintos aminoácidos en las proteínas de los tejidos placentarios o fetales son superiores a la de los tejidos maternos. Este transporte se realiza en contra del gradiente siendo un transporte activo que requiere energía (Palacin y col, 1984)

**Ácidos Grasos:** la concentración materna en el plasma es superior a la fetal y el pasaje transplacentario es muy limitado (Palacin y col, 1984)

En la oveja la concentración sanguínea arterial materna de B hidroxibutirato es muy superior a la del feto y también la de acetoacetato.

En situaciones de ayuno donde aumenta mucho los cuerpos cetónicos maternos, Morris y Cols (1974) calcularon que estos solo contribuyen entre un 2% y un 3% del consumo de oxígeno para el metabolismo oxidativo fetal.

En la oveja la transferencia del número de aminoácidos totales es cuatro veces superior al de la glucosa, y son canalizados hacia la síntesis de proteínas debido a su remarcable velocidad de esta vía metabólica. El feto utiliza la glucosa fundamentalmente para la obtención de energía, mediante su oxidación, aunque también sirve como precursor de diferentes vías biosintéticas como por ejemplo lipogénesis (Palacin y col, 1984).

## **5- HIPÓTESIS, OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS**

### **5.1 Hipótesis:**

La toxemia de la gestación subclínica inducida por restricción de alimentos en las últimas tres semanas de gestación provocará hipoglicemia e hipercetonemia en las madres, lo cual se verá reflejado en la sangre de sus corderos en sus primeras 72 horas de vida.

### **5.2 Objetivo general:**

Estudiar la relación entre los cambios metabólicos producidos en ovejas con Toxemia de la gestación subclínica inducida en las tres últimas semanas de la gestación, con la concentración sérica de diferentes metabolitos en sangre en sus corderos durante las primeras 72 horas de vida.

### **5.3 Objetivos específicos:**

- 1) Determinar la relación entre el aumento del BOHB en las ovejas sometidas a restricción de alimento durante las tres últimas semanas de gestación, con la concentración sérica de este cuerpo cetónico en sus corderos durante las primeras 72 horas de vida.
- 2) Determinar la relación entre la disminución de la glucemia en las ovejas sometidas a restricción de alimento durante las últimas tres semanas de gestación, con la concentración sérica de la glucosa de sus corderos durante las primeras 72 horas de vida.

## **6- MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1 Estrategia de investigación y actividades específicas**

Los protocolos de investigación se llevaron a cabo en el Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria, Libertad, Departamento de San José (34° 38'S; 56° 39'W).

### **6.2 Animales**

En el experimento fueron utilizadas 60 ovejas Corriedale adultas, entre 4 y 6 años, identificadas por medio de caravanas numeradas y dos carneros de la misma raza de 4 años. Estas se seleccionaron de un total de 90 ovejas, de acuerdo a su condición corporal, al estado de la dentadura y de las pezuñas de manera de homogenizar la muestra. Se seleccionaron animales con un peso homogéneo y una

condición corporal por encima de 2,5, valorados en un rango de 1 a 5 (Manazza, 2006).

Se sincronizaron los celos de las 60 ovejas con esponjas intravaginales conteniendo 160 mg de progesterona (Cronipres® CO, Biogénesis-Bagó) durante 12 días (Romano y col, 1993). Una vez retiradas las esponjas se realizó el servicio por monta natural usando 2 carneros provistos con arneses marcadores. El control de las montas se realizó durante cuatro días, registrándose el día de la monta como el día cero (0) de la gestación. A los 35 días tras retirar los carneros, se realizó el diagnóstico de gestación por ultrasonografía transrectal (Buckrell, 1988), descartándose del protocolo las ovejas vacías y las portadoras de dos o más fetos, seleccionando de esta forma 26 ovejas gestando un solo feto.

### 6.3 Diseño experimental

Posteriormente a la cubrición, las 26 ovejas seleccionadas pasaron a alimentarse en un potrero con pastura natural. En el día 125 de gestación se dividieron aleatoriamente en dos grupos de 13 ovejas cada uno (A y B). Teniendo en cuenta que la duración de la gestación de las ovejas Corriedale es de  $147.9 \pm 1.9$  (Benech, 2007), se aplicó el siguiente protocolo:

**Grupo A** (n=13) (grupo control): las ovejas de este grupo continuaron alimentándose libremente durante todo el ensayo

**Grupo B** (n=13): a partir del día 125 de la gestación, las ovejas de este grupo fueron encerradas en corrales techados y con piso de hormigón. Durante el encierro fueron sometidas a una restricción alimentaria, con libre acceso al agua. Cada oveja se alimentó con 0,8 Kg / día de heno de alfalfa (equivalente al 50 % de las necesidades diarias, 1.79 Mcal de EM) (AFRC, 1993).

A partir del día 146 de la gestación y por un plazo de 10 días, se controlaron los partos de todas las ovejas durante las 24 horas en un corral destinado a tal fin. Las medidas del mismo son: 80 mts X 50 mts. Este corral cuenta con 2 bebederos y 4 comederos grandes en los cuales se les adicionó fardo de alfalfa *ad libitum* a la alimentación y luz artificial.

### 6.4 Determinaciones

#### Determinaciones en sangre de las ovejas

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena yugular con jeringas de 10 ml y agujas 18G. Todas las ovejas fueron sangradas a los 125 días de gestación para valorar la glicemia y la concentración sérica de  $\beta$ -hidroxibutirato (BOHB). A partir del comienzo del encierro (comienzo de la restricción alimenticia) y hasta el parto, las ovejas del grupo B fueron sangradas cada 24 horas para determinar la glicemia y cada 48 horas para determinar BOHB. En el momento en que las ovejas del grupo B alcanzaron valores de glicemia definidos por Cal Pereyra

y col (2015), los cuales permiten diagnosticar la Toxemia de la gestación subclínica ( $28,62 \pm 4,33$  mg/dl), se tomó una muestra de sangre a las ovejas del Grupo A para valorar glicemia y BOHB.

La sangre para determinación de glicemia se colectó en tubos con fluoruro de sodio y EDTA, mientras que para determinar BOHB se colectó en tubos secos. Se centrifugaron inmediatamente y almacenaron congeladas a  $-20^{\circ}$  C en tubos Eppendorf debidamente rotulados

#### Determinaciones en sangre en los corderos

Dentro de la primera hora de vida (inmediatamente luego que se alimentó) y a las 24, 48 y 72 horas de vida se obtuvieron muestras de sangre de los corderos de los dos grupos. Estas se obtuvieron por punción de la vena yugular con jeringas de 5 ml y agujas 21G. De la muestra de sangre obtenida se determinó glicemia y concentración sérica de  $\beta$ -hidroxibutirato (BOHB). Las muestras para glicemia y BOHB se procesaron de manera similar a las muestras de sangre de las ovejas.

#### 6.5 Análisis de las muestras de sangre

Las muestras de glicemia y BOHB se analizaron en el Laboratorio de Fisiopatología del Departamento de Patología de la Facultad de Veterinaria. La glicemia se determinó por un método enzimático colorimétrico, utilizando para ello los Kits comerciales Glucose Liquicolor® (Human). Se midió la absorbancia a 500 nm, a una temperatura de  $37^{\circ}$  C, en un colorímetro digital HUMALYSER Junior. El BOHB se determinó por un método enzimático colorimétrico, utilizando para ello los Kits comerciales Ranbut® (Randox Laboratories Ltd.). La lectura se realizó a 330 nm, a una temperatura de  $37^{\circ}$  C, en un colorímetro digital HUMALYSER Junior.

#### 6.6 Análisis estadístico

La significación de las diferencias entre los grupos en los niveles séricos de glicemia y BHOB (tanto para las ovejas como para los corderos), fueron evaluadas mediante un ANOVA de una vía seguido de Tukey. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa STATISTICA 6.0. Se consideraron diferencias significativas cuando  $\alpha < 0.05$ .

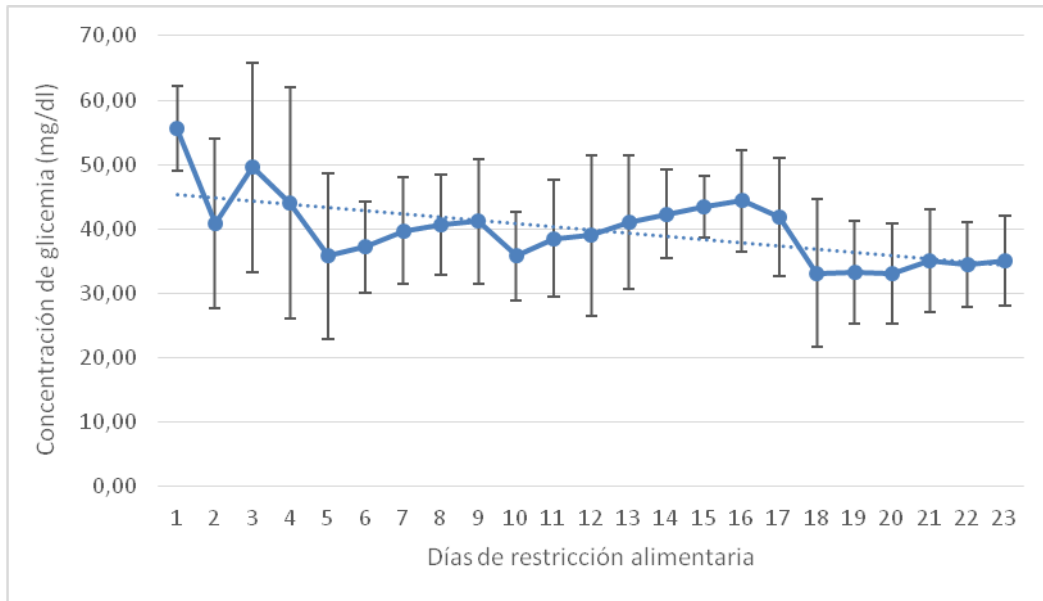
## 7 RESULTADOS

### 7.1 Glicemia en ovejas

En el momento de comenzar la restricción de alimentos en las ovejas del Grupo B, al día 125 de la gestación, no se encontró diferencia significativa en los valores de glicemia entre los dos grupos experimentales. En este momento los grupos A y B presentaron valores medios de  $52,5 \pm 10,2$  y  $55,71 \pm 6,58$  mg/dl respectivamente.

En la Figura 1, se muestra la evolución de los valores de glucosa sérica en las ovejas del grupo B. A partir del día 125 de la gestación se observa una disminución de este metabolito, alcanzando los valores considerados de riesgo, los cuales definen la toxemia de la gestación subclínica, a partir de los 18 días de comenzada la restricción de alimentos. En este momento, las ovejas del Grupo B, presentaron un valor medio de glicemia de  $33,14 \pm 6,64$  mg/dl, presentando diferencia estadísticamente con las ovejas del Grupo que continuó alimentándose (Grupo A:  $49,88 \pm 1,09$  mg/dl) ( $p < 0,001$ )





**Figura 1. Evolución de la glicemia de las ovejas del Grupo B**

Valores medios y sus respectivos desvíos estándar de la evolución de la glicemia de las ovejas del Grupo B durante la restricción alimenticia. Día 1 en la gráfica, corresponde al día 125 de la gestación. La línea punteada representa una línea de tendencia.

## 7.2 BOHB en ovejas

Al día 125 de la gestación, momento en que comenzó la restricción de alimentos en el Grupo B, no se observó diferencia significativa en los niveles de BOHB entre ambos grupos experimentales. Los valores medios de este cuerpo cetónico, registrados en las ovejas de los Grupos A y B en este momento, fueron de  $0,70 \pm 0,23$  y  $0,85 \pm 0,43$  mmol/l respectivamente. A partir de este momento y hasta el parto, las ovejas del grupo B mostraron un aumento de este cuerpo cetónico. A los 18 días de comenzada la restricción de alimentos, momento en que fueron retirados los animales de la restricción, las ovejas del Grupo B alcanzaron los  $2,08 \pm 0,36$  mmol/l, presentando diferencia estadísticamente significativa con las ovejas del Grupo A ( $0,84 \pm 0,15$  mmol/l) ( $p < 0,005$ ).

## 7.3 Glicemia en corderos

En los corderos, el valor de la glicemia dentro de la primera hora de nacidos, presentó una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos experimentales ( $p < 0,001$ ). En este momento, los valores medios para este metabolito fueron de  $71,9 \pm 24,3$  mg/dl y de  $45,92 \pm 8,86$  mg/dl. para los grupos A y B respectivamente.

A partir de las 24 horas y hasta las 72 horas de nacidos, la glicemia ascendió en los corderos de los dos grupos experimentales, no presentándose diferencias estadísticamente significativas en los valores de este metabolito entre ambos grupos (Cuadro 1).

#### 7.4 BOHB en corderos

Dentro de la primera hora de vida de los corderos, se observó una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) en los valores de BOHB entre los grupos experimentales. En este momento, los valores medios fueron de  $0,12 \pm 0,10$  y de  $0,06 \pm 0,04$  mmol/l para los grupos A y B respectivamente.

Como se puede observar en el Cuadro N° 1, a las 24 y 72 horas de nacidos, no se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales. Sin embargo, a las 48 horas, los corderos nacidos de madres sometidas a restricción de alimentos (Grupo B) presentaron, valores menores de este cuerpo cetónico, con diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,01$ ). En este momento, los valores medios fueron de  $0,33 \pm 0,17$  mmol/l y  $0,18 \pm 0,09$  mmol/l, para los grupos A y B respectivamente.

**Cuadro 1. Glicemia y Betahidroxibutirato en corderos**

	<b>Glicemia</b>		<b>BOHB</b>	
	A	B	A	B
<b>1 hora</b>	71,9 ± 24,3 <sup>a</sup>	45,92 ± 8,86 <sup>b</sup>	0,12 ± 0,10 <sup>c</sup>	0,06 ± 0,04 <sup>d</sup>
<b>24 horas</b>	105,4 ± 29,2	107,25 ± 33,90	0,33 ± 0,14	0,28 ± 0,14
<b>48 horas</b>	114,8 ± 19,2	108,0 ± 17,71	0,33 ± 0,17 <sup>e</sup>	0,18 ± 0,09 <sup>f</sup>
<b>72 horas</b>	120,4 ± 13,4	116,38 ± 20,69	0,35 ± 0,14	0,31 ± 0,38

<sup>a-b</sup>  $p < 0,001$ ; <sup>c-d</sup>  $p < 0,05$ ; <sup>e-f</sup>  $p < 0,01$

Valores medios con sus desvíos estándar de glicemia y BOHB en corderos, expresados en mg/dl y mmol/l, respectivamente, para los grupos A (grupo control) y grupo B (restricción alimentaria); registrados 1 hora, 24 horas, 48 horas y 72 horas posparto.

## 8 DISCUSIÓN

Los valores de glucosa en sangre de las ovejas de los dos grupos experimentales al día 125 de la gestación (momento previo a que las ovejas del grupo B fueran sometidas a una restricción alimenticia) se encontraron entre los valores admitidos

como normales para ovejas alimentadas al final de la gestación ( $A= 52,5 \pm 10,2$  y  $B=55,71 \pm 6,58$  mg/dl).

Contreras y col (1990) encontraron que la glicemia de ovejas gestando un solo feto fue de  $61,08 \pm 9,1$  mg/d, Sigurdsson (1988) reportó un valor promedio de glicemia de  $51,82 \pm 10,14$  mg/dl en ovejas gestando uno o dos corderos al día 130 de la gestación, De Oliveira Feijó y col (2016) encontraron que la glicemia de ovejas gestando un solo feto fue de  $57,18 \pm 1,79$  mg/dl al día 131 de la gestación, en tanto que Cal Pereyra y col (2015) y Da Silva y col (2016) reportaron valores de  $54,77 \pm 9,6$  mg/dl y  $53,26 \pm 5,45$  mg/dl respectivamente, en ovejas Corriedale gestando un solo cordero al día 130 de la gestación.

La disminución de la concentración de glicemia una vez comenzada la restricción alimentaria en el grupo B, es explicada por varios autores. Cal y col. (2006) sugieren que las ovejas gestantes sometidas a restricción de alimentos manifiestan rápidamente hipoglicemia, evento asociado no solo a la disminución en la tasa de producción de glucosa por falta de precursores, sino también, al incremento de la eliminación de este metabolito causado por el consumo fetal excesivo de glucosa, produciendo un desregulación en la homeostasis materna, lo cual las conduciría a un balance energético negativo.

Este balance negativo entre la ingesta de energía y el consumo sería el factor clave para una caída importante de la glucosa en la sangre de las madres. El incremento de las demandas de nutrientes de la unidad materno-fetal, especialmente de glucosa, en las últimas semanas de la gestación, tal como proponen Marteniuk y Herdt (1988), Herdt y Hemery (1992), Gibbons (1996), Rook (2000), Montossi y col (2005), explicaría además la disminución de los valores de glicemia en las ovejas sometidas a ayuno o restricción de alimento. Este incremento de los requerimientos al final de la gestación está causado por el hecho de que cerca del 85 % del crecimiento fetal ocurre durante las últimas 6 semanas de la gestación, lo que aumenta el drenaje fetal de glucosa (East, 1983; Russel, 1984; Robinson, 1996; Rook, 2000). Cal-Pereyra y col (2012) y Rook (2000) reportan que los requerimientos de las madres al final de la gestación en las ovejas que portan corderos únicos aumentan 150% sobre sus necesidades de mantenimiento

Una vez sometidas las ovejas del grupo B a una restricción alimenticia se observó un incremento en la concentración sanguínea del BOHB. Esto se explica debido a que, la falta de precursores alimentarios para la neoglucogénesis, produce un balance energético negativo, lo cual provoca la movilización de las reservas corporales. Schlumbohm y Harmeyer (2004) y Santos (2011) proponen que la reducción en la producción de glucosa como consecuencia de la restricción de alimentos, genera una señal lipolítica, la cual estimula la liberación de AGNE desde el tejido adiposo. Esto genera el aumento de cuerpos cetónicos a nivel hepático.

El aumento de cuerpos cetónicos refleja la magnitud de la lipomovilización (Cal-Pereyra y col 2015; Cal-Pereyra y col 2012; chandle; Schlumbohm y Harmer, 2004; Rook, 2000).

Considerando los valores de glucemia y BOHB en el momento de retirar las ovejas de la restricción de alimentos y el hecho de que no hubo signos clínicos, es razonable suponer que estos animales fueron afectados por toxemia de la gestación subclínica. Esta se considera una alteración del metabolismo energético donde se produce una disminución importante de la glicemia con altos valores de cuerpos cetónicos circulantes, especialmente de BOHB, pero sin manifestaciones de signos

clínicos de la enfermedad. Esta presentación de la enfermedad es importante, ya que se ha reportado que, si en una majada existe una oveja con signos clínicos de Toxemia de la Gestación, veinte de ellas presentan la enfermedad en forma subclínica. Feijó y col (2016) sugieren que la toxemia de la gestación subclínica tiene una incidencia mayor al 20% en rebaños criados en forma intensiva.

La Toxemia de la Gestación Subclínica producida en el grupo con restricción de alimentos (grupo B), se puede asociar a un parto más prolongado como consecuencia de una pobre actividad de la musculatura abdominal y uterina, así como a una menor dilatación cervical como proponen Rook (2000), Andrews (1997) y Marteniuk y Herdt (1988). Este hecho puede relacionarse con los bajos niveles de glucosa en sangre en la primera hora de vida, de los corderos hijos de madres de dicho grupo experimental. Según Osgerby (2002), la disminución de la glucosa y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) en el plasma materno, debido a la desnutrición durante las fases tardías de la gestación pueden alterar la llegada de glucosa al feto. En nuestro trabajo las ovejas del grupo B presentaron una disminución de la glicemia, en los últimos 20 días de la gestación.

Palacín y col (1984) observaron que, en la oveja, la concentración sanguínea arterial de BOHB, es muy superior a la del feto. Estos autores sugieren que en situaciones en las que aumenta la concentración materna de cuerpos cetónicos, las concentraciones de este metabolito en el feto, fueron de menor importancia. La contribución de los cuerpos cetónicos al metabolismo oxidativo del feto es muy baja en la oveja, pero, probablemente sea más significativa en especies no rumiantes, en las que la permeabilidad placentaria a estos metabolitos es mayor.

El tipo de placenta de los rumiantes se clasifica como epiteliocorial (Roa y col, 2012), lo que determina su permeabilidad a ciertos sustratos. Se ha demostrado en humanos y en ratas que tanto la glucosa como los cuerpos cetónicos (en especial el BOHB, que es el producido en mayor cantidad y atraviesa la barrera placentaria) actúan sinérgicamente para producir retraso del crecimiento e inducir malformaciones, lo cual se acompaña de hipoxia, acidosis metabólica y aumento de las muertes perinatales (Polanco Pone y col, 2005).

La placenta epiteliocorial de los rumiantes, la cual está formada por 6 capas, es menos permeable que la placenta hemocorial de los primates y roedores. La placenta de las ovejas, por lo tanto, condiciona que los niveles de cuerpos cetónicos en la sangre fetal sean menores y no estén correlacionados con los niveles maternos (Pérez, 2003). Esto explicaría los bajos valores de BOHB en los corderos luego del parto, incluso en los corderos cuyas madres tenían altos niveles de dicho cuerpo cetónico al momento del mismo (grupo B).

## **9 CONCLUSIONES**

La restricción de alimento a partir del día 125 de la gestación en ovejas gestando un solo cordero, les provocó una Toxemia de la gestación subclínica, ya que en las mismas se produjo una disminución de la glicemia y un aumento del BOHB sérico en ausencia de signos clínicos.

Estos cambios metabólicos en las ovejas no repercutieron en el BOHB sérico de los corderos. Sin embargo, los corderos nacidos de madres sometidas a restricción de alimento presentaron menor valor de glicemia dentro de la primera hora de producido el parto.

## Referencias bibliográficas

AFRC. Agricultural and Food Research Council (1993). Energy and Protein Requirements of Ruminants. An Advisory manual prepared by the Technical Committee on Responses to Nutrients. Wallingford, CAB, p 1-8.

Andrews A (1997). Pregnancy toxemia in the ewe. In Practice, 19 6): 306-312.

Azzarini, M. (2000) Una propuesta para mejorar los procreos ovinos. Boletín de Difusión Técnico SUL N° 76, p. 3-35.

Bell A W (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. J Anim Sci, 73: 2804-2819.

Benech Gulla, A (2007). Evaluación del ayuno como posible método de inducción del parto en el ganado ovino. Tesis Universidad de León, p 155.

Bergman N E, Roe W E, Kon W (1966). Quantitative aspects of propionate metabolism and gluconeogenesis in sheep. Am. J. Physiol, 211: 793-799.

Bonino J, Sienra R, Sorondo L (1987). Enfermedades causadas por trastornos metabólicos: toxemia de la preñez. En: Bonino J, Duran del Campo A, Mari J. Enfermedades de los lanares. Montevideo, Hemisferio Sur, V. 2, p 239-265.

Borreli P, (2001). Producción Animal sobre pastizales naturales. En: Borreli P, Oliva, G. Ganadería Sustentable en la Patagonia Austral. Buenos Aires, INTA, p.126-160.

Brockman R P, Laarveld B (1985). Effects of insulin on net hepatic metabolism of acetate and  $\beta$ -hidroxybutyrate in sheep (ovis aries). Comp Biochem Physiol, 81 (A2):255-257.

Buckrell B C (1988). Application of ultrasonography in reproduction in sheep and goats. Theriogenology, 29 :11-20.

Burt A D (2001). Steatosis and Steatohepatitis. Curr Diag Pathol, 7: 141-147.

Buswell, J.F.; Haddy, J.P.; Bywater, R.J. (1986) Treatment of pregnancy toxemia in sheep using a concentrated oral rehydration solution. *Vet. Rec.*118:208-209.

Cal Pereyra L, Benech A, González-Montaña JR, Acosta J, Da Silva S, Martín A. (2015). Changes detection in the metabolic profile of pregnant ewes to an acute feed restriction in the late gestation. *New Zealand Vet J* 63(3):141–146.

Cal Pereyra L, Acosta Dibarrat J, Benech A, Da Silva S, Martín A, González Montaña JR (2012). Ewe pregnancy toxemia. Review. *Rev Mex Cienc Pecu*, 3(2): 247-264.

Cal Pereyra L, Benech A, Da Silva S, Martín A, González Montaña JR (2011). Metabolismo energético en ovejas gestantes esquiladas y no esquiladas sometidas a dos planos nutricionales. Efecto sobre las reservas energéticas de sus corderos. Arch Med Vet 43: 277-285

Cal Pereyra L (2007). Inducción experimental de Toxemia de la Gestación Ovina. Aplicación a la explotación ovina en Uruguay. Tesis Doctoral. Universidad de León, León, España, p 131.

Cardelino, R (2004). La situación y perspectivas del mercado internacional de lana: desafíos para Uruguay. Seminario de Producción Ovina, Propuestas para el negocio ovino, Paysandú, Uruguay, p. 95-100.

Chandler K D, Leury B J, Bird, A R, Bell A W (1985). Effects of udernutrition and exercise during late pregnancy on uterine, fetal and uteroplacental metabolism in the ewe. British J Nutr, 53: 625-635.

Charle E (2017) Evaluación de um dispositivo electroquímico para la determinación de  $\beta$ - hidroxibutirato em sangre de ovinos. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria, UDELAR, 40 p.

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

Cirio A, Tebot I. (2000) Fisiología Metabólica de los Rumiantes. Montevideo, Facultad de Veterinaria, 146 p.

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

Contreras P A (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(2):1-7.

Da Silva S, Cal Pereyra L, Benech A, Acosta-Dibarrat J, Martin M J, Abreu M, Perini S, Gonzalez Montaña JR (2016). Evaluation of a fibrate, specific stimulant of PPAR $\alpha$ , as a therapeutic alternative to the clinic ovine pregnancy toxemia. J. Vet. Pharmacol. Ther.39(5) Doi: 10.1111/jvp.12304.

Díez Prieto I, Cano Rábano M J, Castillo Rodríguez C, Pérez García C C (1998). Metabolismo energético de los rumiantes: aspectos de interés Fisiopatológico. Bovis N 80: 13-29.

Dirección Estadística Agropecuaria (DIEA) (2013). Anuario Estadístico Agropecuario 2013, MGAO, DIEA, Uruguay. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy>. Fecha de consulta : 15/01/2020.

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

East N (1983). Pregnancy toxemia, abortions, and periparturient disease. *Vet Clin North Am: Food Anim. Pract* 5 (3): 601-617.

Egan D A, Cuill T O, Murrin M P (1970). Experimental pregnancy toxemia of ewes. *Irish Vet. J.*, 27(6):111-115.

Feijó, J; Oliveira, A; Pereira, R; Martins, C; Del Pino, F; Ferreira, M; Rabassa, V; Corrêa, M (2016). Protocolo de indução de cetose subclínica e seu efeito sobre parâmetros bioquímicos em ovelhas gestantes. En: *Science and Animal Health*, Univeridad Federal de Pelotas p.21-34.

Forbes T J, Singleton A G (1964). Ovine pregnancy toxemia: A review. *Brit Vet J.*120 (2): 56-68.

Gibbons A (1996). Efecto de la esquila sobre el peso al nacimiento de los corderos merino en el sistema extensivo patagónico. Curso Superior de producción animal, producción y alimentación. Zaragoza, Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza, p 1-13.

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

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

Heitmann R N, Dawes J D, Sensenig, S C (1987). Hepatic ketogenesis and peripheral ketones body utilization in ruminant. *J Nutr*, 117:1174-1180.

Henze P, Bickhardt K, Fuhrmann H (1998). The contributions of the hormones insulin, cortisol, somatotropin and total estrogen to the pathogenesis of sheep ketosis. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 101 (2): 61-65.

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

Herdt, T H (1988). Fatty liver in dairy cows. *Vet Clin North Am: Food Anim Pract*, 4: 269-287.



Hunt E R (1976). Treatment of pregnancy toxemia in ewes by induction of parturition. *Australian Veterinary Journal*, 52:338-339.

Huntington G B, Prior R L (1983). Digestion and absorption of nutrients by beef heifers fed a high concentrate diet. *J Nutr*, 117: 2280-2288.

INIA (2011) Programa Nacional de Investigación Producción de Carne y Lana. Disponible en: <http://www.inia.org.uy/online/site/31583811> Fecha de consulta: 20/01/2020

Jeffrey, M.; Higgins, R.J. (1992) Brain lesions of naturally occurring pregnancy/toxaemia of sheep. *Vet. Pathol.*, 29:301-307.

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

Kulcsár M, Dankó G, Delavaud C, Mircu C, Nikolic A J, Gáspárdy A, Cernescu H, Chilliard Y, Cseh S, Rudas P, Huszenisza G (2006). Endocrine characteristics of late pregnant hyperketonaemic ewes and their reproductive performance following the induction of ovarian cyclicity out of breeding season. *Acta Vet Hung*, 54(2): 235-249.

McDonald P, Edward RA, Greenhalgh JFD, Morgan CA (2006). *Nutricion Animal*. 6a ed, Zaragoza,. Acribia, p 148-163

Manazza, J (2006). Manejo de carneros y ovejas en servicio "a campo". Balcarce, INTA EEA, p 1-3.

Mari JJ (1987). Enfermedades que afectan la supervivencia del cordero. En: Bonino J, Durán del Campo A, Mari JJ. *Enfermedades de los lanares*. Montevideo, Ed Hemisferio Sur, p. 73-99.

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

MGAP. OPYPA 2019. Anuario estadístico. Disponible en: <https://descargas.mgap.gub.uy/OPYPA/Anuarios/Anuario%202019/ORIGINAL%2019%20OPYPA%20INTERACTIVO%20agregado%2018-12-2019.pdf> Fecha de consulta 15/01/2020

MGAP. DIEA 2019. Anuario estadístico. Disponible en: <https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2019/Anuario2019.pdf> Fecha de consulta 16/01/2020

Michaux J M, Fondeur S, Romdane M N, Mouthon G (1981). Les troubles du Métabolisme des corps cétoniques chez les mammifères Domestiques. *Rec Méd Vét*, 157, 6, 471-478.

Mitchell, G.M.; Stratford, B.F. (1987) The morphology of the ovine placenta in pregnancy toxemia. *Aust. Vet. J.*, .64:221-223.

Morris, FH, Jr; Boyd, RDH; Makowsky, EL; Meschia, G; Batallia, FC (1974). Umbilical V-A difference of acetoacetate and B-hydroxybutyrate in fed and starved ewes. Proc. Soc. Expt. Biol. Med. 155:879-883.

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

Ortolani E L, Benesi F J (1989). Ocorrência de toxemia de prenhez em cabras e ovelhas criadas no estado de São Paulo, Brasil. Rev Fac Med Zootec Univ S Paulo, 26(2): 229-234.

Osgerby, JC; Wathes, DC; Howard, D; Gadd, TS (2002). The effect on maternal undernutrition on ovine fetal growth. J Endocrinology, 173:131-141.

Palacín, M; Lasunción, M; Herrera E (1984). Transporte de metabolites a través de la placenta. Rev. Española Pediatría, 40(3):163-198.

Pastor J.; Loste A., Sáez T., (2001). La toxemia de gestación en la oveja. Pequeños Ruminantes 2(3):18-24.

Payne J M (1977). Metabolic diseases in farm animals. London, Ed. Heinemann Medical Books, p 206.

Pére MC (2003). Materno foetal exchanges and utilisation of nutrients by the foetus: comparision between species. Reprod Nutr Dev 43: 1-15.

Pethick D W, Lindsay D B (1982). Metabolism of ketone bodies in pregnant sheep. Br J Nutr, 48: 549-563.

Polanco Ponce AC, Revilla MC, Palomino MA, Islas S (2005). Efecto de la diabetes maternal en el desarrollo fetal de humanos y ratas. Ginecol Obstet Mex, p 73:544-552.

Prieto F (1994). Toxemia de la gestación. En: López Sebastián A. Ovis, Tratado de Patología y Producción ovina. Madrid, Ed. Luzán, p, 63-72.

Radostits O M, Gay C C, Blood D C, Hinchcliff K W (2002). Medicina Veterinaria. 9ª ed. Ciudad, Ed. McGraw-Hill – Interamericana, v. 2, p. 1724-1736.

Reid, R.L (1968) The physiopathology of undernourishment in pregnant sheep, with particular reference to pregnancy toxaemia. En: Brandly, C.A.; Cornelius, C.E. (Eds). *Advances in veterinary science*. New York, Academic Press, v.12, p.163-238.

Roa, I; Smok C; Prieto R (2012). Placenta: Anatomía e histología Comparada. International J Morphology, Vol 30, nº 4. 1490-1496 p. Temuco, Chile.

Robinson J J (1996). Nutrition and reproduction. Am Reprod Sci, 42: 25-34.

Romano J E, Rodas E, Lago I, Benech A, Ferreira A, Fernández F (1993). Efecto del progestágeno, PMSG y momento de la inseminación artificial a tiempo fijo en ovejas Corriedale durante la estación de cría. En: I Jornada Uruguaya y II Latinoamericana de Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Salto, Uruguay.

Rook J S (2000). Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 16, 2, 293-317.

Russel A J F. (1984) Means of assessing the adequacy of nutrition of pregnant ewes. *Livestock Prod Sci*; 11:429-436.

Salgado C (2004). Producción Ovina: Situación actual y perspectivas. En: Seminario de Producción Ovina, Propuestas para el negocio ovino, Paysandú, 29 y 30 de julio de 2004, p 7-13.

Santos F, Mendonça C, Silva A, Carvalho C, Soares P, Afonso J (2011). Indicadores bioquímicos e hormonais de casos naturais de toxemia da prenhez em ovelhas. En: *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Vol 31, n° 11. p 974-980

Schlumbohm C, Harmeyer J (2004). Hyperketonemia impairs glucose metabolism in pregnant and nonpregnant ewes. *J Dairy Sci*, 87, 350-358

Scott, P. (1995). Differential diagnosis of common metabolic disorders of sheep. In *Practice*, 266 – 269.

Sienra R, Bonino J, Larregui V, Echeguía M (1984). Toxemia de la preñez II. Inducción experimental y respuesta a la terapia con glicerol – propilenglicol. *Veterinaria*, 20 (88 – 89): 78-83.

Sigurdsson H (1988). The effects of flock, number of fetuses and age on some biochemical blood constituents in ewes in late pregnancy under field conditions. *J Vet Med A*, 35, 417-423.

Sigurdsson H (1988b). Susceptibility to pregnancy disease in ewes and its relation to gestational diabetes. *Acta Vet Scand*, 1988, 29, 407-414.

Sorondo ML, Cirio A (2011). Evaluation of the serum fructosamine test to monitor plasma glucose concentration in the late-pregnant sheep. *Animal Production Science*, 51, 662-666.

SUL (2016). Inicios de la producción ovina en Uruguay. Disponible en: <https://www.sul.org.uy/noticias/416>. Fecha de consulta 19/01/2020

Wastney M E, Wolff J E, Bickerstaffe R (1983). Glucose turnover and hepatocyte glucose production of starved and Toxaemic Pregnant sheep. *Aust Jour Biol. Sci*, 36, 271-284.

West H J (1996). Maternal undernutrition during late pregnancy in sheep. Its relationship to maternal condition, pregnancy length, hepatic physiology and glucose metabolism. *Br J Nutr*, 75, 593-605.