### TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS











# CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS MAESTRÍA INTERINSTITUCIONAL EN PRODUCCIÓN PECUARIA (MIPPE)

#### **Tesis**

### CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DEL GANADO LECHERO EN EL PERIODO DE TRANSICIÓN

Presenta

MVZ SALVAD<mark>OR CORTÉS</mark> GARIBAY

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS PECUARIAS

**Tutor** 

DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN

Co-Tutor

DR. CARLOS URBAN HAUBI SEGURA

Comité Tutoral

DR. DAVID SÁNCHEZ CHIPRÉS DR. ABNER JOSUÉ GUTIÉRREZ CHÁVEZ

Aguascalientes, Ags., noviembre del 2019











#### CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

### MAESTRÍA INTERINSTITUCIONAL EN PRODUCCIÓN PECUARIA (MIPPE)

#### **Tesis**

### CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DEL GANADO LECHERO EN EL PERIODO DE TRANSICIÓN

#### Presenta

#### MVZ SALVADOR CORTÉS GARIBAY

Para obtener el grado de

#### MAESTRO EN CIENCIAS PECUARIAS

EL PRESENTE DOCUMENTO FUE REVISADO, PRSENTADO, DEFENDIDO Y APROBADO EN EL SEMINARIO (EXAMEN DE GRADO) CORRESPONDIENTE

Tutor	
DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN	
Co-Tutor	
DR. CARLOS URBAN HAUBI SEGURA.	
Comité Tutoral	
DR. DAVID SÁNCHEZ CHIPRÉS.	
DR. ABNER JOSUÉ GUTIÉRREZ CHÁVEZ	

Aguascalientes, Ags., noviembre del 2019



OF. NO. CCA-D-11-15-156-19

DRA. EN ADMÓN, MARÍA DEL CARMEN MARTÍNEZ SERNA DIRECTORA GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO PRESENTE.

Por medio de la presente me permito comunicarle a usted que la tesis titulada "CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DEL GANADO LECHERO EN EL PERIODO DE TRANSICIÓN", del alumno SALVADOR CORTES GARIBAY, egresado de la Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria, respeta las normas y lineamientos establecidos institucionalmente para su elaboración y su autor cuenta con el voto aprobatorio de su tutor y comité tutorial.

Sin más por el momento aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

> ATENTAMENTE Jesús María, Ags., 29 de octubre del 2019 "SE LUMEN PROFERRE"

> > Dr. Raul Ortiz Martinez Decano del Centro



c.c.p. Jefa del Departamento de Control Escolar c.c.p. Sección de Certificados y Títulos c.c.p. Secretario Técnico c.c.p. Estudiante

c.c.p. Archivo



### DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS P R E S E N T E

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutoral designado del egresado de la Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria, MVZ SALVADOR CORTES GARIBAY quien realizó la tesis titulada CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DEL GANADO LECHERO EN EL PERIODO DE TRANSICIÓN, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente VOTO APROBATORIO, para que el pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 25 de septiembre de 2019



### DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN

Integrante del Comité Tutoral de tesis

c.c.p.- Interesado

c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado

c.c.p.- Jefatura del Departamento de Ciencias Veterinarias

c.c.p.- Consejero Académico

c.c.p.- Secretario Técnico



#### DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS P R E S E N T E

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutoral designado del egresado de la Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria, MVZ SALVADOR CORTES GARIBAY quien realizó la tesis titulada CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DEL GANADO LECHERO EN EL PERIODO DE TRANSICIÓN, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente VOTO APROBATORIO, para que el pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 24 de octubre de 2019

**Dr. Carlos Urban Haubi Segura** Integrante del Comité Tutoral de tesis

c.c.p.- Interesado

c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado

c.c.p.- Jefatura del Departamento de Ciencias Veterinarias

c.c.p.- Consejero Académico c.c.p.- Secretario Técnico



DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS P R E S E N T E

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutoral designado del egresado de la Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria, MVZ SALVADOR CORTES GARIBAY quien realizó la tesis titulada CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DEL GANADO LECHERO EN EL PERIODO DE TRANSICIÓN, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente VOTO APROBATORIO, para que él pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y le envío un cordial saludo.

ATENTA MENTE

"La Verdad Os Hará Libres"

Aguascalientes, Ags., a 25 de septiembre de 2019

DR. ABNER JOSUÉ GUTIÉRREZ CHÁVEZ Integrante del Comité Tutoral de tesis

c.c.p.- Interesado

c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado

c.c.p.- Jefatura del Departamento de Ciencias Veterinarias

c.c.p.- Consejero Académico

c.c.p.- Secretario Técnico

Dirección de Comunicación y Enlace Lascuráín de Retana No. 5, Centro C.P 36000 Tel. 473 73 2 00 06 ext. 2752 www.ugto.mx

#### MAESTRÍA INTERINSTITUCIONAL EN PRODUCCIÓN FECUARIA











# DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS P R E S E N T E

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutoral designado del egresado de la Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria, MVZ SALVADOR CORTES GARIBAY quien realizó la tesis titulada CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DEL GANADO LECHERO EN EL PERIODO DE TRANSICIÓN, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente VOTO APROBATORIO, para que el pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Zapopan, Jalisco a 9 de octubre de 2019

Oscillat.

Dr. David Román Sánchez Chiprés
Integrante del Comité Tutoral de tesis

### TESIS TESIS TESIS TESIS



### DICTAMEN DE LIBERACION ACADEMICA PARA INICIAR LOS TRAMITES DEL EXAMEN DE GRADO



							Fecha de	dictaminación dd/mm/aa:	11-nov	-19
NOMBRE:	SALVADO	R COR	TES (	GARIBAY			LGAC (del		ID	140851
PROGRAMA:	MAEST	RÍA INTE	RINST	TUCIONAL EN PR	ODUCCIÓN PE	CUARIA	posgrado):	PRODUCCIÓN Y SALL	JD ANIMAL	
TIPO DE TRA	BAJO:	(	x )	Tesis		1	) Trabajo práctico			
TTULO:					NTES BIOQU	ÍMICOS SA	ANGUÍNEOS DEL GAI ADES METABOLICAS	NADO LECHERO EN EL PERIO EN EL COMPORTAMIENTO	DDO DE TRA	NSICIÓN O DE LOS
MPACTO SO	CIAL (señal	ar el im	pacto	logrado):				ETAPA DE TRANSICIÓN	W.S. Warring	
NDICAR SI/	NO SEGÚN	CORRES	PONE	DA:						
elementos para	a la revisión a	académic	a del t	rabajo de tesis o	trabajo práctic	co:				
				as LGAC del progra						
SI	La problemáti	ica fue ab	ordada	desde un enfoque	multidisciplina	rio				
SI	Existe coherei	ncia, conti	inuidad	d y orden lógico del	tema central c	on cada apa	artado			
	Los resultados	s dei traba	ajo dan	respuesta a las pre	eguntas de inve	stigación o	a la problemática que ab ecnologíca o profesional	orda		
	El trabajo den	nuestra m	ás de u	ina aportación orig	inal al conocim	iento de su	área	segun el area		
				los problemas prio			area			
				imiento o tecnológ						
egresado cui	mple con lo s	iquiente:								
		Acres of the second		Reglamento Gene	ral de Docessia					
							farer optations activides	des complementarias, estancia, pr	And the same	
										).
					oral, en caso de	a los posgra	dos profesionales si tiene	e solo tutorpodrá liberar solo el t	utor	
1000				ción del Usuario						
	Coincide con e	el título y o	objetiv	o registrado						
	Tiene congrue	ncia con c	uerpo	s académicos						
	Tiene el CVU d									
NO APLICA	Tiene el articul	lo aceptad	do o pu	iblicado y cumple c	on los requisito	s institucio	nales (en caso que proce	da)		
caso de Tesi	is por artículo	s cientifie	cos pu	blicados:						
				s articulos según el	nivel del progr	rama				
NO APLICA						2006				
				el Tutor del Núcle	n Aradémico B	ásico				
							to de este trabao de inve	-61		
NO APLICA	os artículos in	tegran lo	s canit	ulos de la teris y ce	presentan en	al idiama an	que fueron publicados	stigacion.		
NO APLICA	a aceptación o	o publicac	ión de	los artículos en re	vistas indexada	s de alto im	nacto			
									-0.0	
n base a esto:	s criterios, se	autoriza	se cor	ntinúen con los tr	ámites de titu	lación y pro	ogramación del examer	de grado	Si CO	NTINUA
									No	
						FIRMA	5/1/1	/ /		
aboró:				and the second		6	wells Au	nls		
NOMBRE Y FIRM	MA DEL CONSE	JERO SEG	UN LA	LGAC DE ADSCRIPC	ION:	DR.	CARLOS URBAN H	AUBI SEGURA		
MBRE Y FIRMA	DE1 0000000	nun minus					1/1	1 1		
MBKE Y FIRMA	DEL SECRETA	RIO TECNI	ICO:				Culls An	uls		
					4-	DR.	CARLOS URBAN H	AUBI SEGURA		
caso de conflicto	de intereses, firm	ará un revis	or miem	bro del NAB de la LGAC	correspondiente	distinto al tuto	r o miembro del comité tytoral,	Missade and al Parison		
visó:					- THE STATE A		A	wegnedo por el Decaño:		
							Minning			
MBRE Y FIRMA	DEL SECRETA	RIO DE IN	VESTIG	ACIÓN Y POSGRAD	0: _	DR. AN	ITONIO DE JESUS	MERAZ JIMÉNEZ		
torizó:							1			
	10.110.20							J/		
MBRE Y FIRMA	DEL DECANO:				_		DR RAULORTIZ N	JARTINEZ		
							/ \\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\			
	land to			action and account			/ //			
				Apoyo al Posgrad		/	X U	200000000000000000000000000000000000000		
	Art. 105C del Re	glamento Ge	eneral de	e Docencia que a la letr		unciones de C	Consejo Académico Chidar Iz	eficiencia terminal del programa de pos	grado y el Art. 105	Flas

Elaborado por: D. Apoyo al Posg. Revisado por: D. Control Escolar/D. Gestión de Calidad. Aprobado por: D. Control Escolar/D. Apoyo al Posg.

Código: DO-SEE-FO-15 Actualización: 01 Emisión: 20/06/19

PESIS TESIS TESIS TESIS

#### RECONOCIMIENTOS

Esta tesis de maestría se desarrollo gracias a la participación e involucramiento del Dr. Teódulo Quezada Tristán quien formuló la idea central de este proyecto y su acompañamiento se mantuvo durante todo el estudio, desde la ejecución, el análisis y hasta la redacción del presente documento. Quiero agradecer su interes, su apoyo, sus consejos y su conocimiento, así como la confianza que deposito en mi persona para el desarrollo y la finalización de este proyecto, que influyeron directamente en mi desarrollo personal y profesional.

Agradezco tambien al Dr. Carlos Urban Haubi Segura por su apoyo, su conocimiento, y acompañamiento durante todo el periodo de estudio y durante mi formación como estudiante de maestría, así como al interes que mostró para influir enérgicamente en mi desarrollo personal y profesional.

Quiero agradecer al comité tutoral conformado por el Dr. Abner Josué Gutiérrez Chávez y por el Dr. David Sánchez Chiprés quienes con sus aportaciones, cuestionamientos, correcciones y sus conocimientos, contribuyeron directamente en el mejoramiento de este proyecto y en mi tesis de maestría.

Tambien quiero reconocer y agradecer el esfuerzo y apoyo de mis maestros Dra. Leticia Medina Esparza, Dra. Angélica Hernández Quintero y M. en C. Lizbeth Martínez Martínez quienes desde sus áreas de conocimiento ayudaron al desarrollo de este proyecto.

Por último quiero reconoce<mark>r el apoyo financi</mark>ero por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y de la <mark>Universid</mark>ad Autónoma de Aguascalientes, quienes fueron parte primordial para mi formación como estudiante de maestría, así como en el desarrollo de este proyecto de estudio.

#### **DEDICATORIA**

Quiero expresar toda mi gratitud a Dios, por bendecirme día a día, por ser mi guía hacía la sabiduría y ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad, por darme el conocimiento que ha hecho posible la obtención de este logro.

A mis padres Salvador Cortés de la Cruz y María Mirna Garibay González por su apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida, gracias a ustedes soy la persona que ahora soy.

A mi novia María Teresa Hernández Herrera por su amor y apoyo incondicional, por su sensibilidad a la vida, por ser mi impulso a seguir creciendo personal y profesionalmente, por estar siempre a mi lado ayudandome a alcanzar y realizar todas mis metas, por siempre estar ahí.

A mis hermanas Miriam Elizabeth Cortés Garibay y María Mirna Cortés Garibay por todo su apoyo y su creencia en mi.

A mis sobrinos Emiliano, Martín y Mateo qu<mark>ienes</mark> son un impulso para ser de cada día una mejor persona



#### ÍNDICE GENERAL

RECONOCIMIENTOS	9
DEDICATORIA	10
ÍNDICE GENERAL	1
ÍNDICE DE CUADROS	4
ÍNDICE DE FIGURAS	5
ACRÓNIMOS	6
RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
1. ANTECEDENTES	10
1.1. Importancia del ganado lechero en el Mundo y en México	10
1.2. Periodo de transición en la vaca lechera moderna	
1.3. Fisiología de la vaca moderna alta produ <mark>ctora d</mark> urante el periodo de transición	13
1.4. Nutrición de la vaca lechera	14
1.4.1. Requerimientos energéticos y proteicos de la vaca lechera moderna	14
1.4.2. Estrategia de alimentación c <mark>on Carbo</mark> hid <mark>ratos</mark>	15
1.5. Herramientas diagnosticas para el monitoreo de los analitos: Perfil metabólico	15
1.6. Transcurso hacia la aparición de <mark>las enfermedades m</mark> etabólicas	16
1.6.1. La vaca lechera y sus trastornos m <mark>etabólico</mark> s.	16
1.6.2. Consumo de materia seca en el peri <mark>odo d</mark> e transición	17
1.7. Principales enfermedades metabólicas en la vaca lechera moderna	19
1.7.1. Hipocalcemia	19
1.7.2. Cetosis	22
1.7.3. Hígado graso.	23
1.7.4. Retención de placenta	24
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	25
2.1 HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	25
2.2 OBJETIVOS	25
2.2.1 Objetivo general	25
2.2.2 Objetivos específicos	25
3. MATERIALES Y MÉTODOS	26

	5.1. Ubicación del estudio	26
	3.2. Descripción de la unidad de explotación	26
	3.3. Animales en el estudio	27
	3.4. Manejo y medición de las vacas	27
	3.5. Descripción de los métodos espectrofotométricos	29
	3.5.1 Determinación de Aspartato aminotransferasa (AST).	29
	3.5.2. Determinación de Alanino aminotransferasa (ALT).	29
	3.5.3. Determinación de G-Glutamil transferasa (GGT)	30
	3.5.4. Determinación de Lípidos totales	30
	3.5.5. Determinación de Fosfatasa alcalina (ALP)	30
	3.5.6. Determinación de Nitrógeno ureico (BUN).	31
	3.5.7. Determinación de Creatinina.	31
	3.5.8. Determinación de Proteínas totales.	
	3.5.9. Determinación de Albúmina.	32
	3.5.10. Determinación de Glucosa oxidasa.	32
	3.5.11. Determinación de Colesterol.	32
	3.5.12. Determinación cuantitativa de Calcio.	33
	3.5.13. Determinación de Triglicé <mark>ridos</mark>	33
	3.5.14. Determinación de Beta hi <mark>droxi-b</mark> ut <mark>irato</mark>	34
	3.5.15. Determinación de Ácidos g <mark>ras</mark> os <mark>no esterific</mark> ados	34
	3.6. Diseño de la investigación	34
	3.7. Análisis estadístico	35
4	RESULTADOS	36
	4.1. Perfil energético	37
	4.1.1. Determinación de la concentración de glucosa.	37
	4.1.2. Determinación de la concentración de BHB.	38
	4.1.3. Determinación de la concentración de AGNE.	40
	4.1.4. Determinación de la concentración de colesterol.	41
	4.1.5. Determinación de la concentración de lípidos totales.	42
	4.1.6. Determinación de la concentración de triglicéridos.	43
	4.2. Perfil mineral	44
	4.2.1. Determinación de la concentración de calcio	44
	4.3. Perfil hepático	45

4.3.1. Evaluación de la actividad enzimática de la AST	45
4.3.2. Evaluación de la actividad enzimática de la ALP.	46
4.3.3. Evaluación de la actividad enzimática de la GGT	47
4.3.4. Evaluación de la actividad enzimática de la ALT.	48
4.4. Perfil proteico	49
4.4.1. Determinación de la concentración de proteínas totales.	49
4.4.2. Determinación de la concentración de albúmina	50
4.4.3. Determinación de la concentración de urea	51
4.4.4. Determinación de la concentración de creatinina	52
5. DISCUSIÓN	54
6. CONCLUSIONES	61
BIBLIOGRAFÍA	63
ANEXOS	
Determinación de AST	72
Determinación de ALT	72
Determinación de GGT.	
Determinación de Lípidos Totales.	73
Determinación de Fosfatasa Alcal <mark>ina</mark>	73
Determinación de BUN	74
Determinación de Creatinina	74
Determinación de Proteínas Totales	74
Determinación de Albúmina.	75
Determinación de Glucosa.	75
Determinación de Colesterol.	75
Determinación de Calcio.	76
Determinación de Triglicéridos.	76
Determinación de AGNE.	76
Resultados de los analitos evaluados durante el periodo de transición (-21 d antes del parto	
+21 d después del parto). Valores expresados con su media ± error estándar	
Formato de hoja de trabajo nivel hato.	79

#### ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Comportamiento del consumo de materia seca (CMS) comprendido desde el	18
periodo preparto y hasta las nueve semanas de lactancia con respecto al nivel de DCAD en	
la dieta	
Cuadro 2. Ingredientes y composición química de las dietas utilizadas en el periodo de	28
transición durante el estudio (preparto y postparto)	
Cuadro 3. Estandarización de las técnicas de laboratorio por el método	36
espectrofotométrico.	
Cuadro 4. Calibración de analitos	37



#### ÍNDICE DE FIGURAS

### TESIS TESIS TESIS TESIS

### **ACRÓNIMOS**

AGL	Ácidos grasos libres	NRC	National Research Council
AGNE	Ácidos grasos no esterificados	pН	Potencial de hidrógeno
AGV	Ácidos grasos volátiles	PI3	Parainfluenza 3
ADN	Ácido desoxirribonucleico	PTH	Parathormona
ANDEVA	Análisis de varianza	RTM	Ración totalmente mezclada
ALT	Alanina aminotransferasa	UI	Unidades internacionales
ALP	Fosfatasa alcalina	VLDL	Lipoproteínas de muy baja
			densidad
AST	Aspartato aminotransferasa	VRSB	Virus respiratorio sincitial
			bovino
ATP	Adenosina trifosfato		
BEN	Balance energético negativo		
ВНВ	Beta hidroxibutirato		
BUN	Nitrógeno ureico en sangre	<b>L</b>	
CGH	Concentración de grasa hepática		
CMS	Consumo de materia seca		
CNF	Carbohidratos no fibrosos		
DCAD	Diferencia de c <mark>ationes y</mark> aniones	7	
	en la dieta	/	
DEL	Días en leche		
DVB	Diarrea viral bovina		
EM	Energía metabólica		
ENL	Energía neta de lactancia		
GGT	Gama glutamil transferasa		
HC	Hormona de crecimiento		
HMGCS1	Hidroximetilglutaril CoA sintasa		
	citosólica		
IBR	Rinotraqueítis infecciosa bovina		
IR	Intervalo de referencia		
LDH	Lactato deshidrogenasa		
LDL	Lipoproteínas de baja densidad		
MS	Materia seca		

TESIS TESIS TESIS TESIS

## TESIS TESIS TESIS TESIS

#### RESUMEN

El objetivo de este estudio fue caracterizar el comportamiento bioquímico sanguíneo durante el periodo de transición del ganado lechero y su relación con las enfermedades metabólicas. El estudio se realizó en una explotación de sistema intensivo y se seleccionaron 64 vacas Holstein Friesian. La sangre fue obtenida a los -21, -10, 0, +10 y +21 días (d) en relación con el parto para medir las concentraciones séricas de ácidos grasos no esterificados (AGNE), beta-hidroxibutirato (BHB), glucosa, calcio (Ca), colesterol, triglicéridos, lípidos totales, albúmina, proteínas totales, creatinina, nitrógeno ureico (BUN), fosfatasa alcalina (ALP), aspartato aminotransferasa (AST), alanin aminotransferasa (ALT) y g-glutamil transferasa (GGT) utilizando un espectrofotómetro de química húmeda de la marca Bio Systems BTS-350. La concentración de glucosa  $(2.9256 \pm 0.0837 \text{ mmol/L})$  presentó una fuerte disminución al +10 d correlacionándose negativamente con un incremento de BHB (0.9161 ± 0.1108 mmol/L) y AGNE (0.3776 ± 0.0391 mmol/L) (P>0.05). La concentración de colesterol y lípidos totales aumento después del parto, presentando los valores más altos al +21 d (2.5756  $\pm$  0.0960 mmol/L y 308.9175  $\pm$  15.5517 mg/dL, respectivemente). Por su parte, la concentración de calcio registró una disminución progresiva desde -10 días  $(2.8019 \pm 0.0801)$ mmol/L) para alcanzar los valores más bajos en la lactancia temprana (P>0.05) y reportar al +10 d la concentración más baja (2.3161  $\pm$  0.0779 mmol/L). La AST presentó los valores más bajos en el preparto, registrando un incremento hasta alcanzar al +10 d el valor más alto (123.2419 ± 7.1857 UI/L) (P>0.05). En el caso de la GGT (P<0.05), ésta aumentó después del parto, presentando su valor más alto al +21 d (20.3500  $\pm$  1.2666 UI/L). La concentración de proteínas totales registró un incremento a partir del +10 d para alcanzar el valor más alto al +21 d (66.2333  $\pm$  1.0768 g/L) (P>0.05). Los valores de Urea fueron obtenidos por los resultados del valor de nitrógeno ureico y fueron transformados por el factor 0.357 para obtener las concentraciones de Urea. Los valores de urea si mostraron diferencia significativa (P<0.05) siendo mayor en el postparto y alcanzando su valor más alto al +10 d (5.3191 ± 0.2737 mmol/L). Los primeros 10 días postparto son la etapa donde se refleja la mayor exigencia metabólica de los componentes bioquímicos energéticos y proteicos en la vaca lechera, poniendo en evidencia la complicación para combatir la demanda de energía en el postparto temprano en la vaca lechera.

Palabras clave: Periodo de transición, vaca lechera, metabolismo energético, glucosa.

TESIS TESIS TESIS TESIS

# INTRODUCCIÓN

En México, la importancia del sector primario dedicado a la producción de leche radica en que ocupa la cuarta parte en la producción pecuaria y dentro de la industrialización de los alimentos ocupa el tercer lugar de importancia en el país (FIRA, 2001). Existen cuatro sistemas de producción que se diferencian por el grado de tecnificación y condiciones agroecológicas en especializado, semiespecializado, doble propósito y familiar o traspatio. El uso de tecnologías y la implementación de manejos cada vez más eficientes ha tenido efecto en un incremento de la producción de leche; durante la década del 2000 al 2010 la producción de leche ha tenido un crecimiento anual del 1.74% (SAGARPA, 2010).

En Aguascalientes, la producción de leche se encuentra en una de las cuencas de producción con mayor importancia del país (Cervantes *y col.*, 2001) y el sistema de producción intensivo con el que se cuenta, así como la eficiencia en el manejo de los animales con alto mérito genético ha hecho posible que se haya registrado un incremento anual del 9.0% en el periodo de 1980 a 2003 (Rodrigo *y col.*, 2007). En términos generales el número de vacas se ha mantenido, pero la producción de leche ha incrementado debido a la eficiencia de producción en cada lactancia (SIAP, 2018).

A pesar de la investigación científica con la que se cuenta en áreas de nutrición y manejo de la vaca lechera moderna, el periodo de transición continúa siendo un área de oportunidad para los investigadores y un problema en diversas explotaciones lecheras (Overton y Waldron, 2004).

El periodo de transición comprende las últimas 3 semanas antes y las 3 semanas después del parto (Samanc *y col.*, 2015) y representa el periodo de mayor exigencia metabólica y el más crítico en todo el ciclo de su lactancia debido a una mayor incidencia de enfermedades de origen metabólico (Alvarenga *y col.*, 2015). Durante este periodo, ocurren diversos cambios en el metabolismo lipídico impactados por la demanda energética del feto y la lactogénesis correlacionándose con el riesgo de enfermedades en el postparto (Newman *y col.*, 2016). Las principales enfermedades con mayor incidencia en el postparto temprano son la hipocalcemia, retención de placenta, cetosis e hígado graso y son las responsables de grandes pérdidas económicas al empresario ganadero, McArt *y col.* (2015), mencionan un costo

8

TESIS TESIS TESIS TE

promedio por caso de cetosis en 289 dólares. El hígado graso es conocido como el mayor desorden metabólico en vacas lecheras (Beitz, 2014) y se asocia con problemas de salud en la lactancia temprana (Tharwat *y col.*, 2012) debido a que experimentan un estado metabólico de alta intensidad energética, teniendo la concentración de BHB una correlación positiva con estrés oxidativo y apoptosis hepática lo cual lleva a la oxidación y al desequilibrio antioxidante y lesiones hepáticas (Song *y col.*, 2016).

Es por eso que se vio la necesidad de realizar este estudio para caracterizar el comportamiento de los parámetros bioquímicos en el periodo de transición y cómo éstos interactúan para hacer susceptible la salud de la vaca a sufrir trastornos de origen metabólico en la lactancia temprana.

Aunque existe información acerca de las alteraciones producidas en las vacas lecheras en el periodo de transición, es importante tomar en cuenta que la caracterización de los parámetros bioquímicos es esencial para el control del estado de salud de los hatos lecheros y es por eso que este estudio se realizó para evaluar la condición interna del cuerpo, la función hepática en vacas en sistemas intensivos y el curso de los cambios metabólicos. Así mismo algunos trastornos metabólicos se presentan de forma subclínica y son desapercibidos para la mayoría de los ganaderos, generando grandes pérdidas económicas al disminuir la producción de leche, predisponer la salud de la vaca a sufrir alteraciones y afectar el comportamiento reproductivo.

#### 1. ANTECEDENTES

#### 1.1. Importancia del ganado lechero en el Mundo y en México

La producción de leche como actividad primaria, su industrialización y comercialización de cada uno de los productos lácteos constituyen un tema de relevancia económica nacional (Loera y Banda, 2017). La producción de leche ocupa la cuarta parte en la producción primaria, además de que dentro de la industrialización de los alimentos ocupa el tercer lugar de importancia económica en el país (FIRA, 2001). A través de los años, la producción de leche se ha visto afectada por la crisis económica mundial, teniendo efectos en los precios de este alimento y perjudicando el precio a nivel nacional (SAGARPA, 2010). Por lo anterior, la eficiencia dentro de cada una de las unidades ganaderas y por ende el incremento en su producción es uno de los desafíos dentro de un mundo globalizado y con mercados cada vez más competitivos (Loera y Banda, 2017).

En México, existen cuatro sistemas de producción que se diferencian por el grado de tecnificación y condiciones agroecológicas, reflejando diferentes niveles de productividad, estos son: especializado, semiespecializado, doble propósito y familiar o traspatio. La deficiencia en la producción nacional y la demanda en el consumo de leche, es una de las principales razones por las que México ocupa el primer lugar como importador de leche en polvo y como medida para compensar la insuficiencia en la producción, se importan 2,000 millones de litros anuales lo que representa el 20% de la producción nacional (Loera y Banda, 2017).

## ESIS TESIS TESIS TESIS



Figura 1. Producción nacional de leche de bovino 1991-2018 (Fuente: SIAP, 2018).

Específicamente, la producción de leche en el estado de Aguascalientes representa el 4.1% de la producción nacional (INEGI, 2005), además de que Aguascalientes está posicionado en una de las cuencas lecheras con mayor importancia en el país (Cervantes *y col.*, 2001). El sistema de producción intensivo con el que se cuenta y la eficiencia en el manejo de los animales con alto mérito genético ha hecho posible que se haya registrado un incremento anual del 9.0% en el periodo de 1980 a 2003 (Rodrigo *y col.*, 2007).

A pesar de que en general el número de vacas se ha mantenido, la producción de leche ha incrementado debido a la eficiencia en cada lactancia (SIAP, 2018). Sin embargo, en los últimos años la eficiencia de conversión de energía a leche a tenido un aumento en la incidencia de problemas de salud que originan pérdidas en la producción de leche y una ineficiencia en la reproducción (Hayirli y col., 2002).

La nutrición del ganado lechero continúa siendo un área importante para el logro de estos índices de producción, orientando las estrategias nutricionales a la disminución y prevención de los problemas de salud. Para poder entender las estrategias nutricionales y los diferentes manejos aplicados en el periodo de transición, es fundamental el conocimiento de la fisiología de la vaca moderna alta productora para poder brindar confort, bienestar y salud y que esto se vea reflejado en un impacto económico positivo para el ganadero.

#### 1.2. Periodo de transición en la vaca lechera moderna

A pesar de que se cuenta con mucha información científica sobre la fisiología y nutrición de vacas en transición, ésta etapa de producción continua generando mucha incertidumbre debido a que sigue siendo un problema en diversas explotaciones lecheras, abriendo la puerta a constantes investigaciones (Overton y Waldron, 2004). De acuerdo a una investigación de la Universidad de Minnesota, los mismos autores mencionan que aproximadamente el 25% de las vacas de desecho en el periodo comprendido de 1996 al 2001 ocurrió durante los primeros 60 días de lactancia, con una proporción adicional pero incierta que abandonó al final de la lactancia y relacionado a problemas durante el periodo de transición.

El sistema nacional de monitoreo en salud animal del ganado lechero (National Animal Health Monitoring System) en el 2008 menciona que las principales causas de desecho en ganado lechero son mastitis clínica, infertilidad, laminitis, retención de placenta, problemas reproductivos, fiebre de leche y desplazamiento de abomaso y el 16.2% de las vacas lecheras son desechadas del hato antes de los 50 días en producción, relacionándose con desordenes directamente asociados con el exceso de la condición corporal (Beitz, 2014). El exceso en la condición corporal al parto o aquellas vacas que pierden peso excesivamente, se relacionan con una disminución en la capacidad reproductiva y con un incremento en la incidencia de problemas metabólicos como cetosis e hígado graso, así como de distocias, retención de placenta, metritis, fiebre de leche, laminitis, ovarios quísticos y mastitis (Beitz, 2014).

Es por ello que la importancia del periodo seco (parte del periodo de transición) radica en que interviene en la producción, equilibrio energético y la salud de la vaca en su siguiente lactancia (van Knegsel y col., 2013) además de que su duración influye en el metabolismo de la vaca lechera. Para ello, Weber y col. (2015) mencionan que la duración del periodo seco tiene impacto en la condición corporal y movilización de grasa antes del parto que ocasionan una mayor incidencia de desórdenes metabólicos en la transición.

El periodo de transición comprende las últimas 3 semanas antes y las 3 semanas después del parto (Samanc *y col.*, 2015) y representa el periodo de mayor exigencia metabólica y por lo tanto, el más crítico en todo el ciclo de su lactancia debido a una mayor incidencia de enfermedades de origen metabólico (Alvarenga *y col.*, 2015). Durante este periodo, ocurren diversos cambios en el metabolismo lipídico impactados por la demanda energética del feto y la lactogénesis correlacionándose con el riesgo de enfermedades en el postparto (Newman

y col., 2016) como mastitis, desplazamiento de abomaso, metritis y cetosis, enfermedades que son consideradas con mayor impacto económico en el hato lechero (Sordillo, 2016). En este periodo, la salud y la productividad se deben mantener y son uno de los retos más complicados dentro de la producción de leche (Zarate y col., 2016). Una de las consecuencias de los desórdenes metabólicos es el sacrificio de vacas con alto valor genético que repercute en la economía del hato, por lo tanto, entender la fisiología del periodo de transición es necesario para poder implementar esquemas de manejo que resulten en la optimización y rentabilidad de los hatos lecheros (Overton y Waldron, 2004).

#### 1.3. Fisiología de la vaca moderna alta productora durante el periodo de transición

Para que las vacas inicien su lactancia con éxito, éstas se deben de adaptar a los cambios metabólicos asegurando el incremento de la síntesis de glucosa y movilización de reservas de grasa corporal y con esto cumplir la demanda energética, así como la movilización de calcio para garantizar la homeostasis al inicio de la lactancia. Considerando el metabolismo energético, la necesidad de glucosa para la síntesis de lactosa en la glándula mamaria se convierte en la demanda metabólica principal durante las primeras semanas de la lactancia (Overton y Waldron, 2004).

Los mejores sustratos para la gluconeogénesis hepática en rumiantes son el propionato con su origen en la fermentación ruminal, ácido láctico desde el ciclo de Cori, los aminoácidos gluconeogénicos, el glicerol y ácidos grasos libres (AGL) liberados durante la lipolisis del tejido adiposo. Específicamente, la alanina es el principal aminoácido gluconeogénico pues su concentración incrementa de 2.3% al día nueve preparto a 5.5% al día 11 postparto (Overton y Waldron, 2004). A pesar de que los aminoácidos no son importantes en términos para la cantidad de leche, éstos si servirán de soporte como sustratos para la gluconeogénesis inmediatamente después del parto (Overton y Waldron, 2004).

El mismo autor explica que una de las adaptaciones metabólicas clave es la movilización de reservas corporales y básicamente de tejido adiposo (lipolisis), mecanismo que aporta energía cuando el insumo de la misma es insuficiente por parte de la dieta. Esta movilización ocasiona la liberación de ácidos grasos no esterificados (AGNE) al torrente sanguíneo que serán usados como fuente de energía, sin embargo, el hígado no tiene la suficiente capacidad para metabolizar una alta liberación de AGNE y es así como las vacas en transición están predispuestas a la acumulación de triglicéridos en el tejido hepático.

Los avances en nutrición y manejo en ganado lechero han tenido un gran impacto en la salud y han minimizado los desequilibrios internos en la vaca lechera que pueden originar el desarrollo de enfermedades clínicas (Neves *y col.*, 2017).

#### 1.4. Nutrición de la vaca lechera

En la actualidad, las altas producciones de leche han ocasionado un incremento en los requerimientos energéticos para mantenimiento y la síntesis de leche, y estos se ven influidos por el consumo de materia seca (CMS) que en la lactancia temprana se encuentra disminuido (Zarrin *y col.*, 2017). La importancia del estado nutricional de las vacas lecheras radica en el sentido de que es el encargado del funcionamiento y mantenimiento del sistema inmune (Sordillo, 2016) por lo que las estrategias nutricionales deben ser encaminadas a mantener el estado de salud, minimizando la lipomovilización y acelerando la eliminación de AGNE para reducir los efectos adversos que estos ocasionan (Yu *y col.*, 2016).

Estudios realizados en el periodo de transición muestran que la composición energética de la dieta en preparto tiene efectos sobre el metabolismo lipídico, funcionamiento hepático y en la salud de la vaca en la lactancia temprana (Davis *y col.*, 2013).

#### 1.4.1. Requerimientos energéticos y proteicos de la vaca lechera moderna.

Los esquemas nutricionales implementados por la industria lechera en Estados Unidos para vacas lecheras durante el periodo seco son dos. El primero empleado para el grupo de vacas recién secas que va desde el momento del secado hasta los 21 días antes del parto y el segundo enfocado en vacas en periodo preparto comprendido por los últimos 21 días antes del parto. El NRC (2001) recomienda para la dieta del grupo de vacas recién secas que la dieta contenga 1.25 Mcal de energía neta de lactancia (ENL)/kg de materia seca (MS) (8.2 MJ de energía metabolizable (EM)/kg MS) y para el grupo de vacas en preparto 1.54 a 1.62 Mcal ENL/kg MS (10.3 MJ de EM/kg de MS). La razón por la que se maneja una dieta baja en energía en el secado temprano, es con la finalidad de evitar, o en su caso minimizar, la ganancia de condición corporal. Caso contrario sucede en el periodo preparto, donde se busca incrementar la densidad energética para la preparación de la vaca al parto e inicio de la lactancia (Overton y Waldron, 2004). Así mismo, los mismos autores mencionan que al alimentar las vacas durante todo el periodo seco con dietas altas en energía o con un promedio de 37 días de estancia en preparto, se relaciona con efectos negativos de salud y producción.

#### 1.4.2. Estrategia de alimentación con Carbohidratos.

Diversas investigaciones han relacionado el contenido energético con la presencia de carbohidratos no fibrosos (CNF) en la dieta. Overton y Waldron y col. (2004) refiere la importancia de dietas altas en CNF en el periodo seco para un adecuado desarrollo de papilas ruminales y así favorecer la absorción de AGV. Independientemente del efecto sobre el epitelio ruminal, es importante que las dietas contengan altas proporciones de CNF para proveer una exitosa adaptación de los microbios ruminales a las dietas de lactación y un aumento en la producción de propionato que sirva de apoyo a la gluconeogénesis hepática (Ingvartsen y Andersen, 2000).

En estudios hechos por Overton y Waldron *y col.* (2004) reportan que al incrementar la fermentación de los CNF durante el periodo preparto con ayuda de maíz rolado (390 g/kg contenido total de CNF) se vio un aumento en el consumo de materia seca y disminución de AGNE en preparto debido al aumento en el consumo de carbohidratos fermentables, así como un aumento de la producción de leche y de la concentración de insulina en el postparto. Con esto, Hayirli *y col.* (2002) y Overton y Waldron *y col.* (2004) reportan que el consumo de materia seca (CMS) esta positivamente correlacionado con el contenido de CNF en la dieta de preparto.

#### 1.5. Herramientas diagnosticas para el monitoreo de los analitos: Perfil metabólico

Existen herramientas diagnosticas que nos ayudan a monitorear el estado de salud de los animales de una manera temprana y poder incidir de forma precoz en la toma de decisiones. Una de ellas es el análisis de los metabolitos séricos debido a que proporcionan realmente el estado de salud a corto plazo (Chapinal *y col.*, 2012). El análisis del perfil metabólico nos muestra la situación proteica, energética y mineral, para poder hacer ajustes o en su caso cambios que nos permitan evitar o minimizar la incidencia de problemas en el periodo de transición (Zarate *y col.*, 2016).

Zarate y col. (2016) define al perfil metabólico como "una serie de pruebas analíticas específicas, ejecutadas en combinación y utilizadas como una herramienta diagnóstica orientada a evaluar la salud del rebaño; es un examen complementario utilizado en la evaluación y diagnostico de las enfermedades de la producción" (Zarate, 2016, p.36).

#### 1.6. Transcurso hacia la aparición de las enfermedades metabólicas

#### 1.6.1. La vaca lechera y sus trastornos metabólicos.

Las diferentes variaciones metabólicas que se presentan en el ganado lechero durante el periodo de transición se encuentran coordinados por cambios en las concentraciones plasmáticas de hormonas y metabolitos, de tal forma que buscan asegurar los requerimientos nutricionales durante ese periodo (Rhoads *y col.*, 2004).

Al inicio de la lactancia, la vaca se encuentra inmunodeprimida y con una disminución severa en el CMS aunado a los efectos de origen hormonal que son influenciados en el transcurso del parto y que son contrastados con la alta producción de leche de las vacas modernas (Roberts *y col.*, 1981). Por otra parte, los autores Goff y Horst (1997) mencionan que la disminución en el consumo de alimento es debido a los péptidos opioides endógenos que se encuentran presentes durante toda la gestación a muy bajas concentraciones, por lo que acercándose al parto, la B-endorfina y la encefalina se incrementan y debido a que son agonistas de los receptores opioides actúan aminorando la motilidad gastrointestinal afectando el CMS.

La disminución en el CMS antes del parto y debido a que los requerimientos energéticos actuales para la síntesis de leche no son cubiertos, la vaca se ve afectada por un estado de balance energético negativo (BEN) que se ve influenciado por la alta producción de leche (Zarrin y col., 2017). Este BEN es caracterizado por diversos cambios en los metabolitos sanguíneos y en el perfil hormonal (Piccione y col., 2012) y es asociado con efectos negativos sobre la producción y la salud animal (Hammon y col., 2006). El BEN que se produce en la lactancia temprana es relativamente normal, sin embargo, un exceso de BEN resulta en un detrimento de la salud y producción de leche en su lactancia y su duración y severidad está dada por la disminución en la concentración de glucosa y el incremento en la concentración de AGNE y Beta Hidroxi-Butirato (BHB) en el plasma sanguíneo (Barberio y col., 2017).

Parte del incremento de la concentración de AGNE es debido a la alta concentración de la hormona del crecimiento (HC) que se encuentra presente en la lactancia temprana, ocasionando lipolisis para inducir la movilización de AGNE hacía el hígado para obtener energía (Rhoads *y col.*, 2004). En el hígado los AGNE cuentan con tres rutas metabólicas que son, la generación de moléculas de adenosin trifosfato (ATP) en las mitocondrias

hepáticas a través de su completa oxidación, la producción de cuerpos cetónicos (principalmente BHB) por su incompleta oxidación y la re-esterificación a triglicéridos (Yu y col., 2016) que pueden ser acumulados en el hígado o ser transportados al torrente sanguíneo como lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Gross y col., 2013). Durante el periodo de transición se han reportado bajas concentraciones de lipoproteínas y se ha relacionado con un incremento de esteatosis hepática que provoca una incapacidad de transportar triglicéridos y colesterol en forma de VLDL (Mazur y col., 1992). Yu y col. (2016) reportan que la colina y metionina son nutrientes que están involucrados en el transporte de lípidos hepáticos debido a que son necesarios para la síntesis de fosfatidilcolina lo que facilita el transporte de los VLDL fuera del hígado. En el estudio realizado por Yu y col. (2016) reportan que la suplementación con Colina protegida, Metionina protegida o con ambas suplementaciones (Colina y Metionina en la misma dieta) disminuyó la concentración de colesterol y LDL, pero incremento la concentración de VLDL y Apo B. En otros estudios, han demostrado que la deficiencia de colina y metionina ocasionan un incremento en la incidencia de infiltración de grasa en el hígado (Ardalan y col., 2011) por lo que estos nutrientes son considerados esenciales en la alimentación del ganado lechero (Yu y col., 2016) disminuyendo el acúmulo de triglicéridos, de producción de BHB y AGNE, lo que mejora el balance energético y la salud hepática de las vacas en periodo de transición (Cooke y col., 2007).

Por otro lado, la incapacidad en el metabolismo de la glucosa y el calcio en el periodo preparto, tiene como consecuencia en un incremento en la incidencia de enfermedades metabólicas, que puede ser debido a una disminución en el aporte de glucosa y calcio para un correcto funcionamiento del sistema inmune (Martinez y col., 2012) debido a que la glucosa es la principal fuente de energía para todos los leucocitos y su disponibilidad es esencial para la activación y funcionamiento del sistema inmune (Sordillo, 2016). Con lo anterior se hace referencia a una etapa decisiva y de vital importancia para la vaca en su siguiente lactación con efectos directos sobre la salud, producción de leche y reproducción.

#### 1.6.2. Consumo de materia seca en el periodo de transición.

La disminución en el CMS y el incremento del BEN hace susceptible a la vaca a enfermedades debido al detrimento de la capacidad funcional del sistema inmune (Sordillo, 2016). Hayirli *y col.* (2002) reportan que en el periodo preparto el CMS disminuye alrededor

del 32.2% y de ese porcentaje el 88.9% ocurrió en la última semana de gestación, siendo más notorio en las vacas primíparas que en las multíparas, caso contrario a lo que reportaron Megahed y col. (2017) donde fue más bajo en multíparas. Huzzey y col. (2005) mencionan que el tiempo invertido en la alimentación es variable en el periodo de transición, reportando mayor tiempo de alimentación en preparto con un promedio de  $86.8 \pm 2.95$  min/día en comparación con el postparto con un promedio de  $61.7 \pm 2.95$  min/día, aunque en este último hubo un incremento diariamente de 3.3 min/día.

En el trabajo realizado por Zarrin *y col.* (2017) refieren que el CMS fue más bajo en preparto con 15.7 ± 0.9 kg MS/día en comparación con el postparto temprano con un consumo de 18.6 ± 0.4 kg MS/día. En otro estudio, con la adición de dietas acidogénicas, Megahed *y col.* (2017) reportaron un CMS promedio en preparto de 10.7 ± 2.9 y de 7.9 ± 1.5 kg/día en vacas multíparas y primíparas respectivamente, con una disminución en vacas multíparas de 9.8 ± 4 kg un día antes del parto. En el estudio realizado por Leno *y col.* (2017) reportaron una correlación negativa entre la diferencia de aniones y cationes en la dieta (DCAD) y el CMS, mencionan que a pesar de que no hubo una gran diferencia entre tratamientos, si fue estadísticamente significativo (P=0.01), registrando un CMS en preparto de 14.0 y 13.2 kg/d para los grupos de mediano y bajo nivel DCAD respectivamente, sin embargo, el CMS en el postparto incremento linealmente con la disminución del DCAD, siendo para el grupo mediano de 20.2 y para el grupo bajo de 21.3 kg/d (Cuadro 1).

Cuadro 1. Comportamiento del consumo de materia seca (CMS) comprendido desde el preparto y hasta las nueve semanas de lactancia, influenciados por el nivel de DCAD en la dieta.

		Mediano	Bajo
	Control	DCAD	DCAD
CMS preparto (kg/d)	13.60	14.00	13.20
CMS postparto (1-3 semana	20.20	20.90	21.30
postparto) (kg/d)			
CMS postparto (1-9 semana	23.50	24.40	24.00
postparto) (kg/d)			

Recuperado de Leno y col. (2017).

Por todo lo anterior se pone en evidencia la disminución del CMS que se presenta en preparto con respecto al postparto relacionándose con diferentes factores, entre ellos la densidad energética (Newman *y col.*, 2016) y el manejo de la diferencia de aniones y cationes de la dieta (Leno *y col.*, 2017).

#### 1.7. Principales enfermedades metabólicas en la vaca lechera moderna

#### 1.7.1. Hipocalcemia.

Las adaptaciones hormonales y metabólicas que se involucran en el periodo seco y al inicio de la lactancia pueden predisponer a la vaca a desbalances en la homeostasis macromineral que ocasionan trastornos subclínicos con impacto en la salud y en el rendimiento del ganado lechero (Neves *y col.*, 2017). En la vaca lechera, ocurren adaptaciones fisiológicas que mantienen el estado de calcio normal, sin embargo, la vaca esta predispuesta a que fallen las adaptaciones debido a la alta demanda de Ca al inicio de la lactancia por la síntesis de calostro e incremento en la producción de leche que contrasta con la baja demanda por el feto en el preparto y comprometiendo sistémicamente la calcemia y predisponiendo a la vaca a la presencia de hipocalcemia clínica o subclínica (Leno *y col.*, 2018).

La hipocalcemia subclínica es definida como una disminución en la concentración de Ca sanguíneo ≤2.1 mmol/L (8.4 mg/dL) (Chapinal y col., 2012; Neves y col., 2017) donde no hay evidencia de signos asociados con paresia postparto y es asociado con problemas de salud en las vacas parturientas, disminución de la producción láctea, desordenes reproductivos (Neves y col., 2018), disminución de la motilidad intestinal y CMS (Martinez y col., 2014), concentraciones elevadas de marcadores del BEN y comprometiendo al sistema inmune (Martinez y col., 2012). Por lo anterior, es considerada como una de las principales enfermedades que afectan a las vacas lecheras en el postparto temprano (Neves y col., 2018) que afectan el bienestar, debido al aumento en la incidencia de enfermedades metabólicas e infecciosas y el riesgo de desecho en la lactancia temprana (Chapinal y col., 2012; Martínez y col., 2012).

Días antes del parto e inicio de la lactancia, la vaca está expuesta a un incremento en la demanda de calcio debido a la síntesis y secreción del calostro, siendo más notable en vacas multíparas (Megahed *y col.*, 2017). La homeostasis del calcio se mantiene debido a la acción de la hormona paratiroidea (PTH) y del calcitriol (Vit. D3) (Ramberg *y col.*, 2017)

produciendo resorción ósea y absorción gastrointestinal de calcio (Martín-Tereso y Verstegen, 2011) y disminución en la excreción urinaria (Grünberg y col., 2011). La hipocalcemia subclínica es una condición común en el ganado lechero especialmente en los primeros días postparto (Reinhardt y col., 2011) y es debido a un desorden metabólico en la movilización de calcio óseo para mantener la concentración adecuada en sangre (Jesse P. Goff, 2008). Sin embargo, Megahed y col. (2017) mencionan que desde el preparto la concentración tiende a disminuir en vacas multíparas, pero no en primíparas.

Martinez y col. (2012) en su estudio reportaron un punto de corte (<8.59 mg/dL) con respecto a la concentración de calcio en el organismo observado entre el día uno y tres postparto, relacionándose con la disminución de neutrófilos y de la capacidad fagocitaria, predisponiendo a la vaca a enfermedades uterinas, así como al incremento de la lipomovilización debido al aumento de la concentración de AGNE y BHB que se ve reflejada en los primeros 12 días postparto. La intensa lipomovilización que se presenta en el posparto temprano y un aumento en la concentración de AGNE comprometen la disponibilidad de nutrientes y la capacidad funcional del sistema inmune (Sordillo, 2016).

La disminución en la concentración de calcio está relacionada con disminución en el CMS, situación que se presenta en vacas que pierden condición corporal en el periodo de transición (Sheehy *y col.*, 2017) y que está fuertemente asociado con la edad (Megahed *y col.*, 2017). En el mismo estudio, Megahed *y col.* (2017) mencionan que la concentración de calcio plasmático a las 24 h después del parto no presenta asociación lineal con el CMS, con la producción de leche al primer ordeño y con la proyección de leche a 305 días (Megahed *y col.*, 2017) debido al tiempo en que es analizada la sangre respecto al parto, siendo este un factor a tomar en cuenta cuando se determinará la asociación entre la hipocalcemia subclínica y sus efectos posteriores (Neves *y col.*, 2017). Respecto al mismo estudio clasificaron como concentración normal de calcio, cuando la concentración a una semana antes del parto, dentro de las primeras cuatro horas y dos días postparto fue >2.1 mmol/L (Neves *y col.*, 2017).

La incidencia de hipocalcemia subclínica en Estados Unidos al momento del parto en vacas de primera, segunda y más de tres lactancias fue del 25%, 41% y >54% (Reinhardt y col., 2011; Martinez y col., 2016a) y la utilización de dietas acidogénicas durante las últimas tres semanas antes del parto es una de las alternativas para disminuir la incidencia de este trastorno (Megahed y col., 2017) así como la suplementación con bolos de Ca debido a que

proporcionan una moderada pero sostenible concentración de calcio en sangre (Blanc *y col.*, 2014).

La prevención de la hipocalcemia se basa principalmente por medio de la alimentación, en donde se restringen los cationes, principalmente sodio y potasio (NRC, 2001). La alimentación con DCAD negativo disminuye la severidad y duración de bajos niveles de Ca sanguíneos alrededor del parto debido a la acidosis metabólica que se genera (Leno y col., 2017). La fisiología de las dietas con bajo DCAD es reestablecer la sensibilidad de los tejidos a la hormona paratiroidea (PTH) que en estados alcalinos se encuentra deprimida, activándose a un pH urinario menor a 6 (Goff y col., 2014) y ocasionando un incremento en la reabsorción ósea o en la eficiencia de absorción de Ca intestinal o ambos alrededor del parto (Leno y col., 2017). Sin embargo, en estudios reportan que al disminuir el DCAD el CMS disminuyó linealmente (Charbonneau y col., 2010), por lo que Weiss y col. (2016) reportaron que la reducción del pH urinario menor a 6.5 no afectó el CMS.

En el estudio realizado por Leno *y col.* (2017) reportaron con el uso de dietas bajas en DCAD una disminución en la prevalencia de hipocalcemia subclínica en vacas adultas tomando en cuenta el punto de corte (≤2.125 mmol/L) a 1 DEL, así como un incremento en la producción de leche a la primera y tercera semana de lactación (P=0.03) pero sin ninguna diferencia significativa en la producción de leche acumulada hasta la semana nueve (P=0.18) y afectando la calidad de leche en cuanto al porcentaje de proteína. A pesar del número de lactancias, vacas con concentraciones de Ca en preparto de ≤2.4 mmol/L fueron 40% más propensos a presentar hipocalcemia subclínica, que los animales con mayor concentración (Neves *y col.*, 2017) y consideran como factor de riesgo de presentar hipocalcemia subclínica a los 2 DEL la presencia de cojeras (Neves *y col.*, 2017).

En otro estudio, Neves *y col.* (2018) encontraron que la concentración de Ca a 1 DEL en primíparas y multíparas se asoció con la producción de leche durante las primeras 15 semanas de lactación (P= 0.01), pero no a los 2, 3 y 4 DEL (P= 0.32, 0.65 y 0.94 respectivamente), incrementando 2.9 kg ± 0.8 kg con concentración de Ca ≤2.15 mmol/L (40% de la población, 55/137) en contraste con las que tuvieron concentración >2.15 mmol y mencionan como variable con efecto estadístico a la semana de lactancia (P<0.001) y sin ningún efecto a la presencia de enfermedades clínicas (P=0.20), pero si en multíparas (P<0.001). En el mismo

estudio, la concentración de Ca desde el día 1 en multíparas se asoció con la producción de leche durante las primeras 15 semanas de lactancia.

#### 1.7.2. Cetosis.

Después del parto la glucosa es utilizada por la glándula mamaria para la síntesis de leche por lo que su concentración disminuye después del parto independientemente de la duración del periodo seco (Weber *y col.*, 2015). Esto es debido a que en la lactancia temprana existe resistencia a la insulina y el uso de glucosa por parte de los tejidos que son dependientes de insulina no son provistos adecuadamente de glucosa por lo que ésta se dirige hacía tejidos no dependientes de insulina como lo es la glándula mamaria (Barberio *y col.*, 2017). Durante los primeros cuatro días postparto la demanda de glucosa incrementa hasta 5 veces sus requerimientos más en comparación con los requerimientos en el periodo preparto (Bell, 1995).

El incremento en la producción de leche demanda grandes cantidades de energía obligando a la vaca a entrar en BEN, situación que activa la lipolisis del tejido adiposo y liberación de AGNE al torrente sanguíneo; por lo que su concentración refleja la magnitud de movilización de lípidos hacia el hígado (Zarate y col., 2016), con consecuencias a nivel de producción de leche, reproducción y de salud, misma que puede estar influida por la pérdida de condición corporal en el periodo de transición (Sheehy y col., 2017). Los AGNE pueden ser utilizados por la glándula mamaria para la síntesis de grasa o ser transportados al hígado para su metabolismo.

Estudios reportan que existe una correlación negativa entre el incremento en la concentración de AGNE y la disminución de la capacidad funcional de los neutrófilos en el periodo postparto (Cai y col., 1994) y de BHB sobre la producción de leche a los 3 DEL en vacas primíparas ( $P \le 0.001$ ) (Neves y col., 2018).

La incompleta oxidación de los AGNE por el hígado resulta en un incremento en la concentración de BHB siendo esta un marcador de respuesta rápida de la síntesis de cuerpos cetónicos y que es asociada con la movilización de lípidos, producto del BEN (Zarate *y col.*, 2016). La habilidad para usar BHB es limitada por el hígado lo que resulta en una acumulación excesiva de BHB en hígado y sangre (Grummer, 2008), pudiendo causar daño

hepático y estar relacionado con el estrés oxidativo en vacas en periodo de transición (Song *y col.*, 2016).

Algunos desórdenes metabólicos como cetosis e hígado graso tienen como consecuencia la producción excesiva de BHB en vacas lecheras con balance energético negativo (BEN) (Song *y col.*, 2016). Leblanc (2010), menciona que existen dos tipos de cetosis clínica, la cetosis tipo 1 que ocurre de la tercera a sexta semana postparto y es asociada con baja concentración de glucosa sanguínea y no con hígado graso, mientras que la cetosis tipo 2 ocurre en las primeras dos semanas de lactancia y es acompañada con hígado graso antes del parto.

En preparto, especialmente las vacas con cetosis, experimentan un estado metabólico de alta intensidad energética, y la concentración de BHB tiene una correlación positiva con estrés oxidativo y apoptosis hepática lo cual lleva a la oxidación y al desequilibrio antioxidante y lesiones hepáticas, mostrando altas concentraciones de AST, ALT y fosfatasa alcalina (ALP) en contraste con vacas sanas (Song y col., 2016). La cetosis subclínica se presenta cuando la concentración de BHB es entre  $1.0 \text{ y} \le 1.4 \text{ mmol/L}$  (Overton y col., 2010) o >1.2 mmol/L con efectos adversos en la saluda del animal (Ospina y col., 2010). Por su parte, Chapinal y col. (2012) refieren en su estudio que una concentración de 1.4 mmol en la primer semana y 1.2 en la segunda semana de lactación está asociado con una pérdida en la producción de leche de 1.5-2.4 kg/día, respectivamente, así mismo, McArt y col. (2015), reportaron en su investigación un costo promedio por caso de cetosis en 289 dólares, siendo en primíparas 50% mayor los costos debido al aumento en la pérdida por muerte, producción de leche futura y fallas reproductivas.

#### 1.7.3. Hígado graso.

El hígado graso es conocido como el mayor desorden metabólico en vacas lecheras (Beitz, 2014) y se presenta por el exceso de triglicéridos en el hígado a consecuencia de un incremento en la movilización de AGNE del tejido adiposo que sobrepasa la capacidad del hígado para oxidar y secretar los lípidos (Gross *y col.*, 2013). En seres humanos las enfermedades de hígado graso no alcohólico se caracterizan por la resistencia a la insulina y el aumento de AGNE que es acompañado de apoptosis a causa de los AGNE (Tharwat *y col.*, 2012). En el estudio realizado por Tharwat *y col.* (2012) reportaron hígados agrandados, neutrofilia, hipocloremia, disminución de la concentración de bilirrubina total y concentraciones elevadas de BHBA, AGNE, triglicéridos e insulina, así como incremento de

las actividades enzimáticas de AST, GGT, ALP y LDH (Lactato deshidrogenasa) y daño en el ADN de los hepatocitos en vacas con hígado graso. Sin embargo, los demás valores hematológicos y séricos con respecto a las sanas no mostraron diferencias significativas.

#### 1.7.4. Retención de placenta.

Otro de los problemas que se presentan con mayor frecuencia en el periodo de transición es la retención de placenta y es asociado con la incidencia de metritis. La retención de placenta es definida como la ausencia de la expulsión de las membranas fetales después de las 12 horas posteriores al parto y metritis como la descarga uterina fétida y oscura, seguida de signos sistémicos de enfermedad como fiebre, temperatura rectal ≥39.5°C dentro de los primeros 14 DEL (Neves y col., 2018). En el estudio realizado por Moretti y col. (2015) donde comparan vacas sanas con vacas con retención de placenta, reportaron un incremento en la actividad enzimática de la AST, disminución de Zinc y un impacto negativo en la producción de leche de 307 kg por lactancia en este ultimo grupo, sin embargo, no reportaron diferencia significativa en AGNE, BHB y calcio. Por su parte, Leno y col. (2017) mencionan que la incidencia de retención de placenta se relaciona con la concentración de los valores de DCAD en la dieta. En el estudio realizado por Neves y col. (2018) reportan que la concentración de calcio a dos, tres y cuatro días en leche (DEL) es asociado con el riesgo de metritis en vacas primíparas, pero no en multíparas y reportan un punto de corte para el riesgo de metritis y desplazamiento de abomaso a los cuatro DEL siendo de ≤2.20 mmol/L de calcio.

### TESIS TESIS TESIS

#### 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

#### 2.1 HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

Las variaciones en los componentes bioquímicos sanguíneos durante el periodo de transición están relacionadas con las enfermedades metabólicas del ganado lechero.

#### 2.2 OBJETIVOS

#### 2.2.1 Objetivo general

2.2.1.1 Caracterizar el comportamiento bioquímico sanguíneo durante el periodo de transición del ganado lechero y su relación con las enfermedades metabólicas.

#### 2.2.2 Objetivos específicos.

- **2.2.2.1** Analizar en diferentes tiempos del periodo de transición del ganado lechero el comportamiento de los componentes bioquímicos sanguíneos.
- 2.2.2.2 Correlacionar las variaciones de los analitos bioquímicos sanguíneos y que sean factores de riesgo para la presencia de las enfermedades metabólicas en el periodo de transición del ganado lechero.

## TESIS TESIS TESIS

#### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación del estudio

La unidad de estudio se localizó en la delegación Betulia con coordenadas geográficas 21° 47′17 latitud Norte y 102°0′13 longitud Oeste perteneciente al municipio de Lagos de Moreno estado de Jalisco con una altitud de 1995 metros sobre el nivel del mar (msnm). Las condiciones climatológicas son de carácter semiárido templado con un promedio de precipitación anual de 665 mm y de temperatura de 15°C, teniendo como máximo 28.5°C y mínimo de 5.4°C (Instituto de Información Estadística y Geográfica, 2018).



Figura 2. Ubicación del lugar de estudio, localizado en la delegación Betulia, Lagos de Moreno, Jalisco (Fuente: Google Earth, 2018).

#### 3.2. Descripción de la unidad de explotación

El estudio se realizó en una explotación de sistema intensivo y que fue seleccionado en base al método de conveniencia de Thrusfield (2007) con los siguientes criterios de inclusión; que sea un establo de más de 500 vacas en producción, con dos ordeños al día y promedio de producción de  $33.00 \pm 5.00$  L, historia clínica negativa en lactancias anteriores, vacas clínicamente sanas al inicio del periodo de estudio y alimentadas con raciones totalmente mezcladas (RTM).

#### 3.3. Animales en el estudio

Se utilizaron vacas de la raza Holstein Friesian que se encontraron en periodo de transición (-21 antes del parto a +21 días después del parto), con un peso promedio de  $600.00 \pm 50.00$  kg y con una condición corporal de 3.25-4 (escala del 1: delgada y 5: gorda; Ferguson y col., 1994), con más de dos lactancias (3-4 años de edad) y altas productoras de leche a 305 días superior a los 10,000 kg de leche.

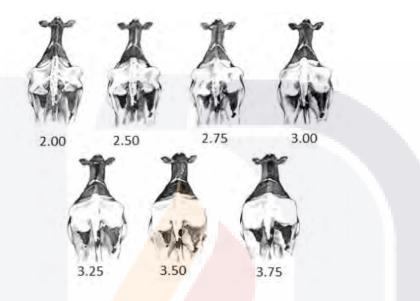


Figura 3. Evaluación de la condición corporal en bovinos en una escala de 1 (delgada) a 5 (gorda).

## 3.4. Manejo y medición de las vacas

El estudio se realizó de marzo a julio del 2018, las vacas fueron mantenidas en corrales abiertos y fueron analizadas en cinco periodos (-21 días (d), -10 d antes del parto, 0 d (parto), +10 d y +21 d después del parto).

Las dietas utilizadas en el periodo de estudio son de preparto y frescas y las vacas fueron alimentadas *ad libitum* a las 0600 y 1700 horas procurando mantener un 5% de sobrante en ambos corrales. Las vacas fueron cambiadas inmediatamente después del parto al corral de vacas frescas para recibir su nueva alimentación. La dieta de preparto está integrada por vacas con 258±5 días de gestación y compuesta por ensilado y rastrojo de maíz, concentrado preparto y suplementada con Bioenergy (propilenglicol y ácido propiónico). El programa de vacunación en este periodo se inicia a momento del secado y está integrado por Virashield 6 + L 5 HB (Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR), Diarrea Viral Bovina tipos 1 y 2 (DVB), Parainfluenza 3 (PI3), Virus Respiratorio Sincitial Bovino (VRSB) y Leptospiras (Canicola,

Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Pomona)), Scour guard (Rotavirus, Coronavirus, E. coli enterotoxigénica, Clostridium perfringens tipo C), Clostri 10 (Clostridium chauvoei, septicum, sordelli, novyi serotipo B, tetani, haemolyticum, perfringens tipo A, B, C y D) y Star vac (E. coli cepa J5, Staphylococcus aureus cepa SP 140) y aplicando un refuerzo al momento de ingresar a preparto.

El grupo de vacas frescas está formado por vacas desde el momento del parto hasta los 21±5 días en leche (DEL) y la dieta está integrada por ensilado de maíz, alfalfa henificada, concentrado para vacas en producción y suplementada con Bioenergy.

Cuadro 2. Ingredientes y composición química de las dietas utilizadas en el periodo de transición durante el estudio (preparto y postparto).

Ingredientes	Preparto	Postparto						
Ensilado de maíz (kg)	35.00	26.00						
Alfalfa henificada (kg)	0.00	4.00						
Maíz rolado (kg)	0.00	3.20						
Núcleo proteico (kg)	0.00	4.20						
Rastrojo de maíz (kg)	2.20	0.00						
Concentrado preparto (kg)	3.50	0.00						
Composición química								
Materia seca (MS) (%)	36.64	43.7						
Proteína cruda (PC) (%)	11.87	16.7						
Fibra detergente ácido (FDA) (%)	19.86	21.6						
Fibra detergente neutro (FDN) (%)	32.94	27.8						
Carbohidratos no fibrosos (CNF) (%)	44.01	45						
Energía neta de lactancia (ENI) (Mcal/kg)	1.64	1.66						

Nota. Fuente: Elaboración propia.

Los manejos implementados inmediatamente después del parto son la administración vía intravenosa de 500 mL de calcio al 13% de nombre comercial Caltonic (130 g de Gluconato de calcio) y 500 mL de suero glucosado al 50%, por vía oral durante tres días 200 gr de probióticos de nombre comercial Bio-Mos (Saccharomyces cerevisiae) y 500 gr de Mipro-Energizer. Todos los animales fueron clínicamente sanos y su estado de salud fue evaluado

continuamente por el médico veterinario verificando diariamente durante los primeros 10 días postparto la temperatura rectal, apetito y consistencia fecal.

Las muestras correspondientes al día del parto se obtuvieron justo antes de la administración de los tratamientos mencionados, con la finalidad de evitar interferencias por los medicamentos.

## 3.5. Descripción de los métodos espectrofotométricos

### 3.5.1 Determinación de Aspartato aminotransferasa (AST).

Para la medición de AST se realizó con un método espectrofotométrico con el kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC. El método utilizado en este kit es el expuesto por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) pero con una modificación ya que no contiene piridoxal-5-fosfato (P-5-P) (IFCC, 1978). Este analito es estable en suero por cuatro días a 15-30°C, por diez días a 2-8°C o por dos semanas en congelación. El resultado está dado con la disminución de la absorbancia en correspondencia a la actividad de la AST.

Las reacciones que se efectúan para la cuantificación de este analito se visualizan en el siguiente cuadro.

L-aspartato + 
$$\alpha$$
-Cetoglutarato  $\longrightarrow$  Oxalacetato + L-Glutamato  $\longrightarrow$  MDH Oxalacetato + NADH + H +  $\longrightarrow$  L-Malato + NAD+ + H<sub>2</sub>O

## 3.5.2. Determinación de Alanino aminotransferasa (ALT).

La determinación de ALT se realizó con un método espectrofotométrico con el kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC. El método empleado para determinar ALT en este procedimiento fue el utilizado por la IFCC (IFCC, 1980). Para la estabilidad de ALT en suero, se debe de mantener la muestra a 15-30°C por tres días, a 2-8°C por siete días o a -20°C por treinta días. El resultado está dado con la disminución de la absorbancia en correspondencia a la actividad de la ALT.

Las reacciones que se efectúan para la cuantificación de este analito se visualizan en el siguiente cuadro.

L-alanina + 
$$\alpha$$
-Cetoglutarato  $\longrightarrow$  Piruvato + L-glutamato

LDH

Piruvato + NADH + H<sup>+</sup>  $\longrightarrow$  L-lactato + NAD<sup>+</sup> + H<sub>2</sub>O

## 3.5.3. Determinación de G-Glutamil transferasa (GGT).

Para la medición de GGT se realizó con un método espectrofotométrico con el kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC. El método en el que se basa este procedimiento cinético fue el propuesto por Szasz (1969). Para que la GGT en suero sea estable y esté en condiciones óptimas para su medición, se puede mantener en congelación por un periodo de dos meses.

## 3.5.4. Determinación de Lípidos totales.

Los lípidos totales se determinaron con el kit SPINREACT por el método Sulfo-fosfo vainilla (Cottet y col., 1965). El fundamento de este método colorimétrico se basa en la reacción de los lípidos insaturados con el ácido sulfúrico originando la formación de iones carbonio. De este modo hay una relación directa entre la concentración de lípidos y el color. La estabilidad de los lípidos se mantiene cuando la muestra se mantiene a 15-25°C durante 24 horas y a 2-8°C durante 3 días.

## 3.5.5. Determinación de Fosfatasa alcalina (ALP).

La estimación de fosfatasa alcalina en suero por el método espectrofotométrico se realizó con el kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC. El cual se basa en la velocidad de hidrolisis de distintos ésteres de fosfato. El método que se utiliza en este procedimiento está respaldado por la American Association for Clinical Chemistry (AACC) (Tietz, 1983). Para la determinación de este analito las muestras se deben de mantener a 2-8°C y se deben analizar las primeras 48 horas.

## 3.5.6. Determinación de Nitrógeno ureico (BUN).

La determinación de urea se realizó con un método espectrofotométrico con el kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC. El método utilizado en este procedimiento es el que introdujeron Talke y Schubert en 1965 pero con una modificación (POINT SCIENTIFIC). Dicho analito es estable en suero a 2-8°C por setenta y dos horas. El resultado está dado con la disminución de la absorbancia en correspondencia a la concentración de nitrógeno de urea. Las reacciones que se efectúan para la cuantificación de este analito se visualizan en el siguiente cuadro.

Ureasa
Urea + 
$$H_2O$$
  $\longrightarrow$  2  $NH_3$  +  $CO_2$ 
 $NH_3$  +  $\alpha$ -Cetoglutarato +  $NADH$  +  $H^+$   $\longrightarrow$  L-glutamato +  $NAD^+$  +  $H_2O$ 

## 3.5.7. Determinación de Creatinina.

La medición de creatinina se realizó con un método espectrofotométrico con el Kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC. El método utilizado en este procedimiento es el descrito por Jaffe en 1986 pero con una modificación (POINT SCIENTIFIC, INC). Esta reacción se da por la reacción de creatinina con el ácido pícrico y su concentración es proporcional a la velocidad de constitución de color. La creatinina es estable a 2-8°C por 24 horas y por mucho tiempo en congelamiento

#### 3.5.8. Determinación de Proteínas totales.

Para la cuantificación de proteínas totales en suero se utilizó el kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC. por el método de Biuret el cual se basa en una reacción colorimétrica entre el Cu² y los grupos NH de los enlaces peptídicos generando una coloración azul. El método empleado en este procedimiento es el mencionado anteriormente, pero con una modificación (Kingsley, 1942). La concentración de proteínas es proporcional a la intensidad de color. Dicho analito es estable por una semana a 18-25°C y por un mes a 2-8°C.

#### 3.5.9. Determinación de Albúmina.

La determinación de albúmina se efectuó con el método espectrofotométrico con el Kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC. Se empleó el método Verde de Bromocresol (BCG) el cual se basa en el enlace que se forma de la albúmina con el BCG, así mismo esto encuentra su concentración en el color. El método que se menciona en el inserto y utilizado por el Kit presenta algunas modificaciones con respecto al original (POINTE SCIENTIFIC, INC). La albúmina en suero es estable a 18-30°C por una semana y a 2-8°C por un mes.

#### 3.5.10. Determinación de Glucosa oxidasa.

La determinación de glucosa se efectuó con el método espectrofotométrico con el Kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC. El método de nombre hexoquinasa utilizado en este procedimiento es el referido por Slein (1963). Dicho analito es estable a 15-30°C por 8 horas y a 2-8°C por 24 horas y su concentración tiene correspondencia con la absorbancia. Las reacciones que se efectúan para la cuantificación de este analito se visualizan en el siguiente cuadro.

Glucosa oxidasa

D-Glucosa + 
$$H_2O + O_2$$
  $\longrightarrow$   $H_2O_2 + D$ -Gluconato

POD

 $H_2O_2 + 4$ -AAP + Fenol  $\longrightarrow$  Quinoneimina +  $H_2O$ 

#### 3.5.11. Determinación de Colesterol.

La determinación de Colesterol se realizó con el método espectrofotométrico con el kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC (Trinder, 1969). Dicho analito es estable a 18-25°C por siete días y a -20°C por seis meses y su concentración tiene correspondencia a la fuerza del color. Las reacciones que se efectúan para la cuantificación de este analito se visualizan en el siguiente cuadro.

POD

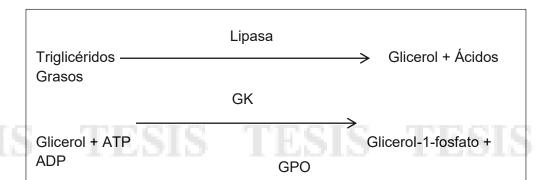
#### 3.5.12. Determinación cuantitativa de Calcio.

La determinación de Calcio se realizó con método espectrofotométrico con el kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC. El método implementado en este kit es el de la ocresolftaleína complexona desarrollado por Connerly y Biggs en 1966 pero con ciertas modificaciones (POINT SCIENTIFIC, INC). El principio de este método se basa en la reacción que se efectúa entre el calcio y el Arsenazo III para generar un aspecto púrpura. La colorimetría de la reacción depende de la concentración de este analito en la muestra.

## 3.5.13. Determinación de Triglicéridos.

La determinación de Triglicéridos se efectúo con el método espectrofotométrico con el kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC establecido por Fossati (1982). Dicho analito es estable a 2-8°C por una semana y a -20°C por tres meses. La reacción colorimétrica es correspondiente a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra.

Las reacciones que se efectúan para la cuantificación de este analito se visualizan en el siguiente cuadro.



#### 3.5.14. Determinación de Beta hidroxi-butirato.

La determinación de BHB se realizó mediante tiras reactivas utilizando un dispositivo de mano de la marca Free Style midiendose inmediatamente a la llegada al laboratorio.

## 3.5.15. Determinación de Ácidos grasos no esterificados.

La determinación de AGNE se realizó con el kit comercial de POINTE SCIENTIFIC, INC (kit RX MONZA FA 115) mediante el método colorimétrico establecido por Matsubara y col., (1983).

## 3.6. Diseño de la investigación

El presente estudio es de tipo descriptivo no experimental longitudinal. Se seleccionaron 64 vacas con ayuda del software de manejo para ganado lechero con nombre DairyFlex. Este programa incluye datos acerca de la reproducción, producción y el estado de salud. El periodo de estudio fue de 21 días antes de la fecha esperada de parto y hasta 21 días después del parto y todo el manejo fue igual para todas las vacas. Se sometieron a una evaluación de la condición corporal y se registró la información pertinente en formatos previamente diseñados. Las muestras fueron colectadas entre las 0900 y 1000 horas y de cada vaca se obtuvieron muestras de sangre de 5 mL de la vena coccígea media en tubos Vacutainer con activador de coagulación y gel separador (BD Vacutainer® SST<sup>TM</sup>), con agujas de calibre 21G x 1.5" (BD Vacutainer®). A cada uno de los tubos se les colocó una etiqueta de identificación de la muestra de cada uno de los animales y se colocó en una gradilla. Las muestras se dejaron a temperatura ambiente en un lugar fresco durante una hora para su coagulación y posteriormente fueron colocadas en una hielera a 4°C para ser transportadas

al laboratorio de patología diagnostica del centro de ciencias agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Todas las muestras obtenidas se centrifugaron a 3,000 revoluciones por minuto (rpm), durante 15 minutos para separar el suero inmediatamente al llegar al laboratorio en una centrifuga (LW-Científica, modelo ultra-8D). Para retirar el suero se utilizó una micro pipeta de la marca eco-pipette el cual se depositó en tubos Eppendorf (1 mL) previamente identificados. Posteriormente los tubos Eppendorf se conservaron a -20°C hasta su análisis. Como criterios de selección y calidad de las muestras se excluyeron aquellas que se mostraron lipémicas y hemolizadas. La estandarización de cada una de las técnicas de todos y cada uno de los analitos que se determinaron en este estudio, se realizaron de acuerdo a cada uno de los insertos y recomendaciones de los proveedores de los kits respectivos. Para el análisis de los diferentes analitos se utilizó un método espectrofotométrico donde se utilizó un espectrofotómetro de química húmeda de la marca Bio Systems modelo BTS-350.

#### 3.7. Análisis estadístico

Los resultados y la información obtenida en los muestreos, se capturó y ordenó en una hoja electrónica de Microsoft Excel<sup>®</sup> para facilitar su análisis.

Los diferentes analitos se analizaron por medio de estadística descriptiva, evaluando desviación estándar, media, rango y algunos otros parámetros a cada uno de los grupos. Los datos obtenidos se sometieron a una prueba de normalidad bajo el modelo estadístico de Shapiro Wilk, así como de homogeneidad de varianzas con el método de Levene y Bartlett. Debido a que algunos de los datos no cumplieron con normalidad, se utilizó una transformación de potencia Box Cox. Posteriormente los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) mediante el procedimiento para modelos lineales generales (GLM). Se realizó una comparación de medias de cada grupo mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de P<0.05 utilizando el paquete estadístico Statistical Analisys System versión 9 (SAS, 1999) con un nivel de confianza del 95%.

Los valores de los analitos medidos en el estudio están expresados por las medias  $\pm$  el error estándar y fueron utilizados como variables dependientes

### 4. RESULTADOS

La importancia de la estandarización de las técnicas y la calibración de los analitos radica en obtener la mayor confiabilidad de los resultados de cada una de las técnicas que se implementaron. Con la estandarización se permitió la creación de un patrón según las características con las que deben de cumplir los *kits*, introduciendo cada una las especificaciones que en el inserto de cada uno viene adjunto. La calibración nos permitió en base a la estandarización que los calibradores de cada uno de los analitos o en su caso el uso de los multicalibradores estuvieran dentro del rango permitido según los intervalos establecidos por el laboratorio.

Cuadro 3. Estandarización de las técnicas de laboratorio por el método espectrofotométrico.

Analito	Método	Kit	Unidades de medición	Longitud de onda	Temperatura
AST	Espectrofotométrico	Point	U/L	340 nm	37°C
1101	- IFCC	Scientific		0.0.1111	0, 0
ALT	Espectrofotométrico	Point	U/L	340 nm	37°C
	– IFCC	Scientific			
GGT	Espectrofotométrico-	Point	U/L	405 nm	37°C
	Point Scientific	Scientific			
Bilirrubina	Espectrofotométrico-	Point	mg/dL	555 nm	37°C
Total	Point Scientific	Scientific	S		
Bilirrubina	Espectrofotométrico-	Point	mg/dL	555 nm	37°C
Directa	DMSO	Scientific	C		
ALP	Espectrofotométrico	Point	U/L	405 nm	37°C
		Scientific			
BUN	Espectrofotométrico-	Point	mg/dL	340 nm	37°C
	Point Scientific	Scientific			
Creatinina	Espectrofotométrico-	Point	mg/dL	510 nm	37°C
	Point Scientific	Scientific			
Proteínas	Espectrofotométrico-	Point	g/dL	540 nm	37°C
Totales	Biuret	Scientific			
Albúmina	Espectrofotométrico-	Point	g/dL	630 nm	15-25°C
	Verde de	Scientific			
	Bromocresol				
Glucosa	Espectrofotométrico-	Point	mg/dL	505 nm	37°C
	Hexoquinasa	Scientific			
Colesterol	Espectrofotométrico	Point	mg/dL	500 nm	37°C
		Scientific			
Triglicéridos	Espectrofotométrico-	Point	mg/dL	500 nm	-
		Scientific			

#### Lípidos Espectrofotométrico-**Point** mg/dL 520 nm 37°C **Totales** Sulfo-fosfo vainillina Scientific **BHB** FreesTyle mmol/L Calcio Espectrofotométria-Point mg/dL 650 nm 37°C

Scientific

Nota. Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 4. Descripción de la calibración de algunos analitos.

o-cresolftaleína

Analito	Límite Control	Límite Control	Factor	C1	Duplicado C1	C2	Duplicado C2
	1	2					
Glucosa	76-94	254-307	349.4	85	89	268	274
Colesterol	130-160	274-366	3110	147	147	301	314
Calcio	8.2-10.2	11.7- 13.7	17.4	9.16	8.62	12.07	12.94
Albúmina	2.1-2.5	4.0-5.0	13.03	2.2	2.1	4.4	4.3
Creatinina	0.83- 1.43	4.6-6.22	121.3	1.16	1.15	5.26	5.29

Nota. Fuente: Elaboración propia.

## 4.1. Perfil energético

En este perfil están englobados los principales metabolitos energéticos dentro del periodo de transición de la vaca lechera, los cuales son: glucosa, BHB, AGNE, colesterol, triglicéridos y lípidos totales.

## 4.1.1. Determinación de la concentración de glucosa.

La concentración de glucosa mostró diferencia significativa (P<0.05), presentó los valores más bajos del periodo preparto a los -21 días (d) antes del parto  $(3.4655 \pm 0.0796 \text{ mmol/L})$  para posteriormente mostrarse un incremento progresivo hasta el día del parto  $(0 \text{ d}; 3.8660 \pm 0.1244 \text{ mmol/L})$ . Inmediatamente después del parto se observó una disminución en su concentración, registrándose los valores más bajos en el postparto a los +10 d  $(2.9256 \pm 0.0837 \text{ mmol/L})$  e incrementando ligeramente en el siguiente muestreo  $(2.9790 \pm 0.0735 \text{ mmol/L})$ , como se puede observar en la figura 4.

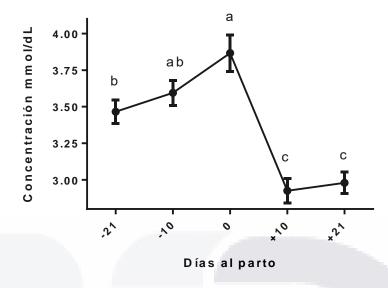


Figura 4. Caracterización de la concentración de Glucosa (mmol/L) durante el periodo de transición (-21 d antes del parto a +21 d después del parto). Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

#### 4.1.2. Determinación de la concentración de BHB.

En la figura 5 se muestran las concentraciones de BHB, los resultados si fueron estadísticamente significativos (P<0.05) por efecto de tiempo (preparto y postparto), donde se puede observar que a los -21 d antes del parto se encontró el valor más bajo (0.4759  $\pm$  0.0205 mmol/L) para luego mostrar un incremento notorio a partir de los -10 d preparto y prolongándose hasta los +10 d postparto en donde registro el valor más alto 0.9161  $\pm$  0.1108 mmol/L).

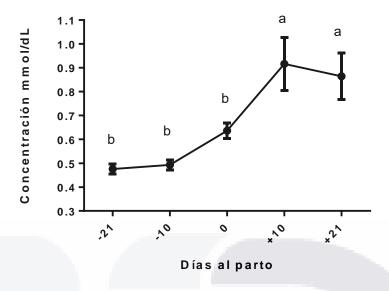


Figura 5. Caracterización de la concentración de BHB (mmol/L) durante el periodo de transición (-21 d antes del parto a +21 d después del parto). Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

En la figura 6 se presenta la correlación entre Glucosa y Beta Hidroxibutirato con respecto al total de moléculas energéticas (sumatoria entre Glucosa y BHB= 5.5-6.0 mmol/L). Las vacas cetósicas presentaron valores en mmol/L >1.2 arrojando un punto de corte como factor de riesgo para la presencia de cetósis >30% del total de energía aportada por parte de BHB. Esto explica que Glucosa y BHB no son moléculas excluyentes, sino que son complementarias.

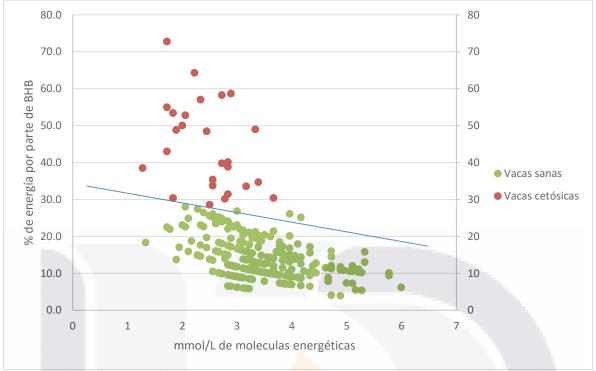


Figura 6. Correlación de Glucosa con Beta Hidroxi-Butirato respecto al total de moléculas energéticas (mmol/L).

## 4.1.3. Determinación de la concentración de AGNE.

Las concentraciones de AGNE resultaron estadísticamente significativos (P<0.05), mostraron un comportamiento similar a la que evidenciaron los valores de BHB. Mostraron el valor más bajo a los -21 d preparto  $(0.0966 \pm 0.0133 \text{ mmol/L})$  y fue aumentando conforme se acercaba el momento del parto para alcanzar el valor más alto de AGNE (0 d; 0.4006  $\pm$  0.0391 mmol/L), posteriormente se mostró una disminución que se continuo hasta los +21 d postparto  $(0.2832 \pm 0.0428 \text{ mmol/L})$ , como se puede observar en la figura 7.

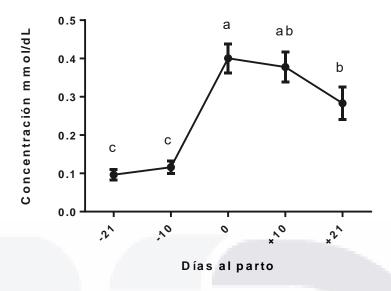


Figura 7. Caracterización de la concentración de AGNE (mmol/L) durante el periodo de transición (-21 d antes del parto a +21 d después del parto). Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

### 4.1.4. Determinación de la concentración de colesterol.

Los resultados observados para colesterol fueron estadísticamente significativos (P<0.05). en la figura 8 se puede observar que la mayor concentración fue obtenida a los -21 d preparto  $(2.0748 \pm 0.0885 \text{ mmol/L})$ , para posteriormente comportarse por una disminución progresiva hasta el momento del parto  $(0 \text{ d}; 1.3358 \pm 0.0439 \text{ mmol/L})$  y registrar el punto más bajo dentro del periodo de estudio. Posteriormente la concentración aumento progresivamente hasta los +21 d postparto  $(2.5756 \pm 0.0960 \text{ mmol/L})$  y obteniendo los valores más altos.

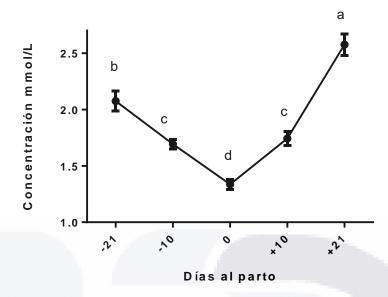


Figura 8. Caracterización de los valores de Colesterol (mmol/L) durante el periodo de transición. Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

## 4.1.5. Determinación de la concentración de lípidos totales.

Las concentraciones de los lípidos totales que se observaron en los muestreos realizados si evidenciaron diferencia significativa (P<0.05), mostrando su valor más alto en el periodo preparto a los -21 d (230.9551 ± 14.8917 mg/dL) para posteriormente presentar una disminución progresiva hasta el momento del parto (0 d; 174.9377 ± 9.6348 mg/dL), con un incremento lineal hasta los +21 d postparto (308.9175 ± 15.5517 mg/dL) donde en este tiempo se registró el valor más alto durante el periodo postparto, como se muestra en la figura 9.

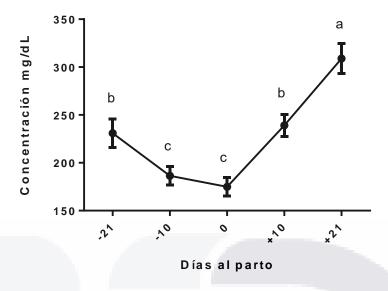


Figura 9. Caracterización de los valores de Lípidos totales (mg/dL) durante el periodo de transición. Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

## 4.1.6. Determinación de la concentración de triglicéridos.

Las concentraciones de los triglicéridos no mostraron diferencias significativas (P>0.05), mostraron valores muy similares durante todo el periodo de estudio (-21 d, -10 d, 0 d, +10 d y +21 d;  $0.2855 \pm 0.0107$ ,  $0.2909 \pm 0.0123$ ,  $0.2597 \pm 0.0132$ ,  $0.2541 \pm 0.0153$  y  $0.2606 \pm 0.0162$  mmol/L, respectivamente). Sin embargo, las medias de las concentraciones presentaron un decremento de sus valores en el postparto con respecto al preparto, como se puede observar en la figura 10.

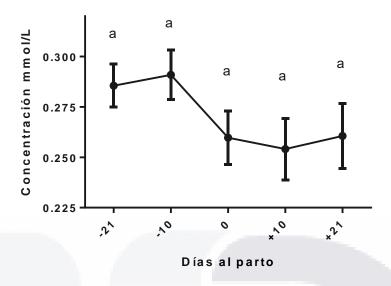


Figura 10. Caracterización de la concentración de Triglicéridos (mmol/L) durante el periodo de transición. Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

#### 4.2. Perfil mineral

#### 4.2.1. Determinación de la concentración de calcio

El único metabolito evaluado en este perfil pero con alto valor fisiológico, de salud y productivo en el periodo de transición fue calcio y su caracterización así como la de los metabolitos energéticos son de vital importancia para entender los diferentes cambios metabólicos que atraviesa la vaca lechera en esta etapa fisiológica.

En la figura 11 se muestran los valores de las concentraciones del calcio obtenidos durante el periodo de estudio. Los valores si fueron estadísticamente significativos (P<0.05) por efecto de tiempo (preparto y postparto), donde es claro observar que el valor de la concentración de calcio fue mayor a los -21 d preparto (2.8548  $\pm$  0.1018 mmol/L) y fue disminuyendo progresivamente hasta alcanzar el punto más bajo a los +10 d postparto (2.3161  $\pm$  0.0779 mmol/L) seguido de un ligero incremento a los +21 d (2.4016  $\pm$  0.0792 mmol/L).

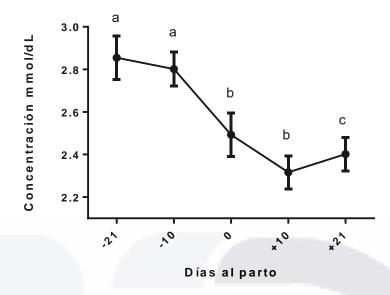


Figura 11. Caracterización de la concentración de Calcio (mmol/L) durante el periodo de transición (-21 d antes del parto a +21 d después del parto). Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

## 4.3. Perfil hepático

#### 4.3.1. Evaluación de la actividad enzimática de la AST.

Los resultados de las actividades enzimáticas de la AST fueron estadísticamente significativos (P<0.05) en el preparto (-21 y -10 d) con respecto al postparto (+10 y +21 d). Las actividades de la AST se caracterizan por presentar un incremento sostenido desde los -21 d antes del parto (63.3617  $\pm$  2.4896 UI/L) hasta los +10 d después del parto (123.2419  $\pm$  7.1857 UI/L) donde se registró el valor más alto durante el periodo de estudio y fue seguido por una disminución de la actividad a los +21 d postparto (83.3000  $\pm$  3.6570 UI/L), como se muestra en la figura 12.

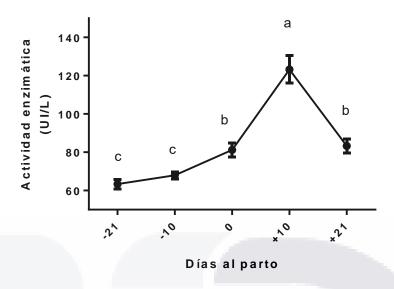


Figura 12. Caracterización de la actividad enzimática de AST (mmol/L) durante el periodo de transición (-21 d antes del parto a +21 d después del parto). Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

#### 4.3.2. Evaluación de la actividad enzimática de la ALP.

Los resultados obtenidos para ALP mostraron diferencia significativa (P<0.05) en el preparto con respecto al parto. La actividad enzimática de la ALP presentó un comportamiento irregular ya que primeramente presenta un decremento de la actividad a los -10 d antes del parto (63.0161 ± 2.8237 UI/L) con respecto a los -21 d (68.1702 ± 4.0142 UI/L) donde la actividad enzimática de la ALP era mayor. Sin embargo, después de este decremento, presentó un aumento de esta actividad enzimática al día del parto (0 d; 82.3466 ± 3.0501 UI/L) y fue seguido de una disminución progresiva hasta los +21 d postparto (53.4000 ± 2.5439 UI/L) registrando el valor más bajo (figura 13).

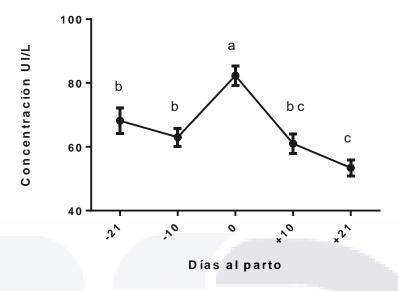


Figura 13. Caracterización de la actividad enzimática de ALP (mmol/L) durante el periodo de transición (-21 d antes del parto a +21 d después del parto). Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

#### 4.3.3. Evaluación de la actividad enzimática de la GGT.

Los resultados obtenidos para GGT no evidenciaron diferencia significativa (P>0.05) en ninguno de los tiempos evaluados. En la figura 14 se observa una disminución de la actividad a los -10 d preparto ( $16.8064 \pm 0.7968$  UI/L) para posteriormente incrementarse progresivamente hasta los +21 d postparto ( $20.3500 \pm 1.2666$  UI/L).

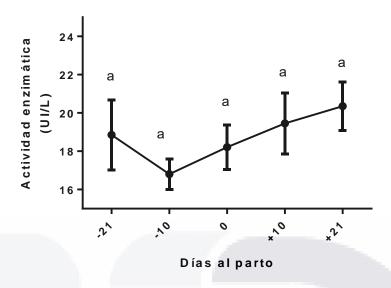


Figura 14. Caracterización de la actividad enzimática de GGT (mmol/L) durante el periodo de transición (-21 d antes del parto a +21 d después del parto). Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

#### 4.3.4. Evaluación de la actividad enzimática de la ALT.

La actividad enzimática de la ALT no resultó estadísticamente significativa (P>0.05), tuvo un comportamiento similar en los primeros dos muestres realizados en el preparto (-21 d y - 10 d;  $21.7446 \pm 0.7624 UI/L y 21.8709 \pm 0.7156 UI/L$ , respectivamente), posteriormente presentó una disminución al momento del parto (20.3733  $\pm$  0.6838 UI/L), para luego presentar un comportamiento irregular en los siguientes muestreos, como se muestra en la figura 15.

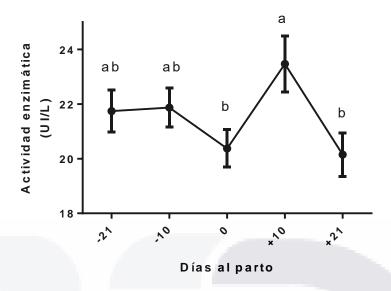


Figura 15. Caracterización del comportamiento de la actividad enzimática de ALT (mmol/L) durante el periodo de transición (-21 d antes del parto a +21 d después del parto). Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

## 4.4. Perfil proteico

Los metabolitos medidos en este estudio para este perfil fueron proteínas totales y albúmina.

## 4.4.1. Determinación de la concentración de proteínas totales.

El comportamiento de las concentraciones de las proteínas totales si resultaron estadísticamente significativas (P<0.05) para los tiempos -21 d y al momento del parto (0 d), así como a los +10 d y +21 d postparto. Este comportamiento se caracterizó por presentar una disminución a partir de los -21 d preparto (65.6595  $\pm$  1.3114 g/L) y hasta al momento del parto (0 d; 61.6800  $\pm$  0.6666 g/L) y +10 d postparto (62.0161  $\pm$  0.9913 g/L) donde la concentración fue muy similar, posteriormente se observó un incremento notorio a los +21 d postparto (66.2333  $\pm$  1.0768 g/L) y registrando el punto más alto en ese periodo (figura 16).

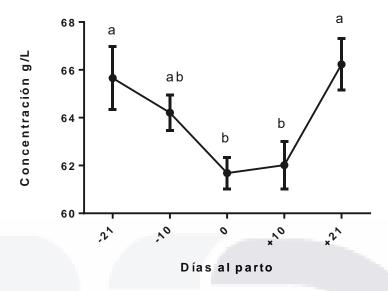


Figura 16. Caracterización del comportamiento de Proteínas totales (mmol/L) durante el periodo de transición (-21 d antes del parto a +21 d después del parto). Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

#### 4.4.2. Determinación de la concentración de albúmina.

Las concentraciones de albúmina que logramos obtener de los grupos de animales que se muestrearon durante este periodo de evaluación no resultaron estadísticamente significativos (P>0.05). El comportamiento se caracterizó por presentar valores muy similares en todos los puntos de evaluación (-21 d, -10 d, 0 d, +10 d y +21 d;  $33.9361 \pm 0.9715$  g/L,  $33.5000 \pm 0.7911$  g/L,  $35.3200 \pm 0.6959$  g/L,  $32.4032 \pm 0.7029$  g/L y  $33.3666 \pm 0.8887$  g/L, respectivamente), como se puede ver en la figura 17.

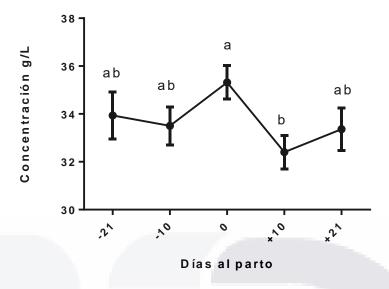


Figura 17. Caracterización de la concentración de Albúmina (mmol/L) durante el periodo de transición (-21 d antes del parto - +21 d después del parto). Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

#### 4.4.3. Determinación de la concentración de urea.

Las mediciones de la urea fueron obtenidas en base a la concentración de BUN de cada uno de los muestreos realizados y multiplicados por su factor de conversión (0.357).

Las concentraciones de urea de los muestreos realizados en este estudio si presentaron diferencia estadística significativa (P<0.05) por efecto de tiempo (preparto y postparto). Los valores en el periodo preparto fueron similares (-21 d =  $3.8874 \pm 0.1605$  mmol/L; -10 d =  $3.7438 \pm 0.1241$  mmol/L) para luego continuar con un aumento progresivo en su concentración hasta los +10 d postparto ( $5.3191 \pm 0.2737$  mmol/L) y registrando una leve disminución en el siguiente muestreo (+21 d;  $4.6768 \pm 0.2653$  mmol/L), como se observa en la figura 18.

Urea

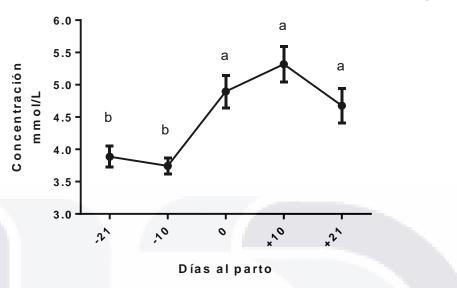


Figura 18. Caracterización de la concentración de Urea (mmol/L) durante el periodo de transición. Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

### 4.4.4. Determinación de la concentración de creatinina.

El comportamiento obtenido de las concentraciones de la creatinina durante el periodo de evaluación, específicamente a los -10 d preparto, al parto (0 d), +10 d y +21 d postparto si resultaron estadísticamente significativos (P<0.05). El comportamiento se caracterizó por presentar un incremento durante el periodo preparto (-10 d; 97.1685  $\pm$  2.4369 UI/L) hasta al momento del parto (0 d; 105.9624  $\pm$  2.4804 µmol/L) donde se registró el valor más alto. Posteriormente se presentó una disminución lineal hasta los +21 d postparto (74.7118  $\pm$  1.7780 µmol/L) donde se registró el valor más bajo, como se puede observar en la figura 19.

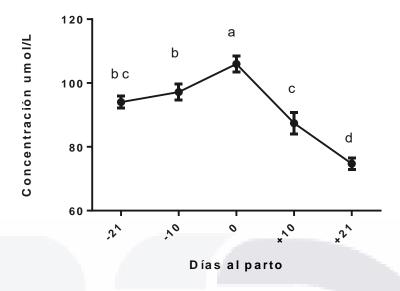


Figura 19. Caracterización de la concentración de Creatinina (mmol/L) durante el periodo de transición. Resultados expresados con la media ± error estándar de cada grupo. Valores con diferentes letras en superíndice son estadísticamente significantes (P<0.05).

# TESIS TESIS TESIS 5. DISCUSIÓN

El estudio comprendió la caracterización del periodo de transición mediante el análisis de los principales analitos bioquímicos sanguíneos. Las vacas evaluadas en este estudio fueron mantenidas bajo las mismas condiciones ambientales, de manejo y de nutrición, con RTM *ad libitum* para cada etapa fisiológica. Se evaluaron 64 vacas que fueron analizadas y distribuidas en cinco grupos de evaluación e integrados de la siguiente manera: Grupo 1 (G1) integrado por 47 vacas de -21 d con respecto a la fecha esperada de parto, Grupo 2 (G2) por 62 vacas de -10 d preparto, Grupo 3 (G3) por 75 vacas al momento del parto, Grupo 4 (G4) por 62 vacas de +10 d después del parto y por el Grupo 5 (G5) que estuvo integrado por 60 vacas con +21 d después del parto.

El comportamiento de las concentraciones medias de glucosa resultó estadísticamente significativo (P<0.05), observándose un aumento gradual de la concentración hasta el parto (valor más alto) y con una disminución inmediatamente para registrar los valores más bajos en el postparto. Rhoads y col., (2004), reportan en su estudio una disminución progresiva de la insulina entre los -10 y -7 días preparto con un aumento de la concentración de la hormona de crecimiento (HC). En la lactancia temprana existe resistencia a la insulina en tejidos que son dependientes como el hígado, músculo y tejido adiposo, por lo que el uso de glucosa se dirige a tejidos no dependientes de insulina como lo es la glándula mamaria (Barberio y col., 2017) para la síntesis de leche, ocasionan<mark>do una di</mark>sminución en su concentración (Weber y col., 2015) y predisponiendo a la vaca lechera a la aparición de cetosis subclínica y clínica (Song y col., 2016). Los resultados de este estudio coinciden con el comportamiento reportado por Weber y col. (2015) con concentraciones de 3.70, 4.20 y 3.20 mmol/L en preparto, parto y postparto, respectivamente, así como en los reportados por Jonsson y col. (2013) donde la glucosa disminuyó después del parto y se restableció hasta los 56 días en producción. Yu y col. (2016) reportan que la suplementación con colina y metionina protegida ayudan a mantener los niveles de glucosa por encima de los animales que no son suplementados al parto y en la lactancia temprana, por lo que es una alternativa para mantener su concentración. El comportamiento de glucosa en el periodo de estudio evidencia el riesgo de sufrir balance energético negativo después del parto, sin embargo, los valores del presente estudio no reflejan valores críticos que pongan en riesgo la salud del animal.

Por otro lado, los resultados de BHB registrados en el periodo evaluado si mostraron diferencias significativas (P<0.05) por efecto de tiempo (preparto y postparto), siendo mayor en el postparto. Observamos un incremento desde el inicio del periodo de estudio (-21 d) hasta los +10 d postparto (valor más alto) con una disminución ligera a los +21 d postparto. El BHB es un indicador de respuesta rápida de la producción de cuerpos cetónicos y es asociada por el BEN que induce la movilización lipídica (Zarate y col., 2016) y el aumento en la concentración, está relacionada con la excesiva pérdida de condición corporal (Sheehy y col., 2017). Weber y col. (2013), reportan un incremento de BHB después del parto en vacas con alta concentración de grasa hepática (CGH). Así mismo, nuestros resultados concuerdan con los reportados por Sheehy y col. (2017) y Barletta y col. (2017) donde no reportan diferencia significativa en preparto, pero si en postparto debido a la pérdida de la condición corporal. Por su parte Zarate y col. (2016), reportaron concentraciones para preparto de <0.5 mmol/L y postparto de <1.0 mmol/L, coincidiendo con los resultados del presente estudio. En el estudio realizado por Neves y col. (2018) y Chapinal y col. (2012) relacionan las concentraciones de BHB con una disminución en la producción de leche, Chapinal y col. (2012) mencionan un impacto negativo en la producción de leche de  $2.4 \pm 0.6$  kg/d cuando la concentración de BHB fue  $\geq 1.4$  mmol/L a la primer semana y de  $1.5 \pm 0.6$  kg/d cuando fue ≥1.2 mmol/L en la segunda semana de lactación y asocian concentraciones de BHB ≥0.80 mmol/L con el riesgo de desplazamiento de abomaso. Por otro lado, Martinez y col. (2012) mencionan que las concentraciones altas de BHB, AGNE y muy bajas concentraciones de calcio se correlacionaron negativamente con los neutrófilos, incrementando el riesgo de trastornos metabólicos. Las concentraciones medias de BHB reportadas en el presente estudio a pesar de que encontramos diferencias significativas en el postparto, no reflejan un fuerte balance energético negativo debido a que las concentraciones de BHB se encontraron por debajo de las reportadas por Chapinal y col. (2012).

El comportamiento de las concentraciones séricas de AGNE fue muy similar a las reportadas por BHB resultando significativo (P<0.05). Observamos un aumento de los valores poco antes del parto para registrarse el punto más alto al momento del parto, seguido de una leve disminución en el postparto. La concentración de AGNE refleja la magnitud de movilización de lípidos hacia el hígado (Zarate *y col.*, 2016) como resultado de la acción de la HC que en la lactancia temprana se encuentra elevada (Rhoads *y col.*, 2004), así como a la densidad energética de la dieta (Newman *y col.*, 2016) y su incompleta oxidación resulta en un

incremento en la concentración de BHB (Zarate *y col.*, 2016). Los resultados del presente estudio coinciden con lo reportado por Yu *y col.* (2016), donde no encontraron diferencia significativa en el preparto y las concentraciones medias incrementaron progresivamente hasta el parto (valor más alto) y fue disminuyendo progresivamente en el periodo postparto. En el mismo estudio observaron que la suplementación con colina y metionina protegida induce a una mayor disminución de AGNE en el postparto. Por su parte, Shin *y col.*, (2015), mencionan que las vacas cetósicas presentan una concentración de AGNE superior desde las dos semanas preparto y hasta las ocho semanas de lactación en contraste con las vacas sanas, siendo mayor en vacas multíparas. En el estudio realizado por Chapinal *y col.* (2012), mencionan a los AGNE como el único metabolito asociado con retención de placenta, metritis (asociado por la acción de AGNE sobre la disminución del sistema inmunológico) y desplazamiento de abomaso (por el daño hepático a consecuencia de AGNE, derivando en una disminución del CMS).

En el caso del colesterol, en el presente estudio observamos diferencias significativas por efecto de grupo, estos valores se encuentran dentro del IR reportados por Wittwer (2016) (preparto = 1.7 - 4.3 mmol/L; postparto = 2.7 - 5.3 mmol/L). De la misma manera se pudo observar una disminución al momento del parto y un incremento notorio hasta alcanzar el valor más alto al +21 d postparto. La baja concentración en este estudio coincidió con lo reportado por Weber y col. (2013), donde encontró una disminución de la actividad de Hidroximetilglutaril-CoA sintasa citosólica (HMGCS1) al parto. La concentración de colesterol sérico refleja el consumo de la ración, por lo que la disminución antes del parto y el incremento en la concentración, refleja el comportamiento del consumo de materia seca por parte de la vaca (Zarate y col., 2016; Newman y col., 2016); así mismo su concentración tiene relación con la densidad energética de las dietas, debido a que valores altos de colesterol fueron encontrados en vacas que fueron alimentadas con dietas densas en energía (Newman y col., 2016). Piccione y col. (2012) mencionan que la concentración de colesterol está asociada con la producción de leche. Los resultados de este estudio se encuentran ligeramente elevados en comparación con los reportados por Jonsson y col. (2013) (preparto = 2.2 mmol/L; parto = 1.8 mmol/; postparto = 2.5 mmol/L) y Zarate y col. (2016) (preparto = 2.1  $\pm$  0.4 mmol/L; postparto = 3.3  $\pm$  1.2 mmol/L). El comportamiento de los valores de los estudios anteriores si coinciden con los reportados en este estudio, donde la concentración en postparto fue mayor con respecto al preparto. Sin embargo, no coinciden con los valores reportados por Newman *y col.* (2016) (preparto = 3.23 mmol/L; parto = 2.06 mmol/L; postparto 2.84 mmol/L) donde mencionan una disminución en la concentración en el postparto con respecto al preparto, analizando ambos puntos. La colesterolemia en este estudio está dentro del IR, lo que revela aparentemente un adecuado balance de energía y un comportamiento fisiológico normal en este periodo de este metabolito.

Observamos diferencias significativas (P<0.05) entre los valores promedios de lípidos totales por efecto de grupo desde el momento del parto y hasta los +21 d postparto. De la misma manera se pudo observar una disminución notoria al parto en comparación con el valor reportado al -21 d preparto. Sin embargo, la concentración de lípidos totales aumento importantemente al +21 d postparto, alcanzando el valor más alto durante el periodo de estudio.

Los comportamientos observados de los triglicéridos en el presente estudio no presentaron diferencias significativas (P>0.05) entre las medias de las concentraciones durante el periodo evaluado. Sin embargo, observamos una disminución en su concentración al parto, manteniéndose hasta el final del periodo de evaluación y presentando la menor concentración de triglicéridos en el postparto. Los valores promedio de las concentraciones de triglicéridos del presente estudio coinciden con los reportados por Newman y col. (2016) quienes reportan disminución de la concentración antes del parto y manteniéndose baja hasta cinco semanas postparto (0.11 mmol/L) siendo más pronunciado en vacas alimentadas con dietas altas en energía.

Las concentraciones de calcio en el periodo evaluado si resultaron significativas (P<0.05) en el preparto con respecto al postparto. Las concentraciones medias presentaron una disminución progresiva hasta los +10 d postparto (valor más bajo) para posteriormente registrar un ligero aumento, sin embargo, los valores se encontraron dentro del IR establecido por Wittwer (2016) que va de 2.0 – 2.6 mmol/L. Al inicio de la lactancia la vaca esta propensa a que fallen las adaptaciones metabólicas debido a la alta demanda de calcio por la síntesis de calostro e incremento en la producción de leche en comparación con la baja demanda por el feto en el preparto (Leno *y col.*, 2018). El desorden metabólico a causa de la movilización de calcio óseo para soportar la concentración de calcio para la síntesis de calostro y producción de leche (Jesse P. Goff, 2008), se asocia con la caída en la concentración alrededor del parto y su valor es considerado como indicador de hipocalcemia subclínica y

clínica (Wittwer, 2016) así mismo, la concentración se encuentra fuertemente relacionado con la edad y con el área de la cisterna de la glándula (índice de volumen calostral) (Megahed *y col.*, 2017). Martinez *y col.* (2012) mencionan que la hipocalcemia subclínica se encuentra asociada con concentraciones elevadas de marcadores del BEN.

En el estudio realizado por Martinez y col. (2012) reportan vacas con hipocalcemia subclínica aquellas con concentraciones de Ca <2.14 mmol/L en los primeros tres días postparto y esta concentración se asocia con un incremento de padecer metritis, disminución de neutrófilos e incremento en la concentración de AGNE y BHB a los 12 días en leche (DEL), aunque en el estudio realizado por Moretti y col. (2015) donde evaluó vacas con retención de placenta y vacas sanas, reporta no haber encontrado diferencias significativas en las concentraciones de Ca (vacas control = 1.9461 mmol/L; vacas con retención de placenta = 1.9710 mmol/L). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Zarate y col. (2016) quienes reportan mayor concentración en preparto (2.9  $\pm$  0.4 mmol/L) con respecto al postparto (2.6  $\pm$  0.3 mmol/L); y las concentraciones del presente estudio se encuentran por encima a las reportadas por Martínez y col. (2012) (parto = 2.2954 mmol/L; postparto = 2.3702 mmol/L) y Jonsson y col. (2013) (preparto = 2.19 mmol/L; parto = 2.02 mmol/L; postparto = 2.05 mmol/L). El aspecto mineral y energético sostiene relación en la homeostasis del organismo para mantener el estado de salud, por lo que una falla en el control del calcio sanguíneo inducirá en la vaca la aparición de enfermedades infecciosas y metabólicas. Ante esto, Martínez y col. (2012) recomiendan mantener la concentración de Ca en los primeros tres días postparto >2.14 mmol/L.

Las actividades enzimáticas de AST en este periodo de estudio si resultaron significativas (P<0.05). Las medias de las actividades mostraron un incremento progresivo desde -21 d antes del parto hasta  $\pm 10$  d postparto con una disminución en el siguiente punto de evaluación ( $\pm 21$  d). En el punto de evaluación de  $\pm 10$  d postparto los valores se encontraron por encima del IR reportado por Wittwer (2016) ( $\pm 10$  UI/L). La AST es un indicador inespecífico de daño hepático debido a que no se encuentra unicamente en tejido hepático (Noro y col., 2013). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Zarate y col. (2016) donde reportan un aumento importante en el valor promedio de la actividad enzimática de la AST después del parto (preparto =  $\pm 49 \pm 25$  UI/L; postparto  $\pm 17$  UI/L). Sin embargo, nuestros resultados obtenidos no son similares a los reportados por Jonsson  $\pm 17$  UI/L). Quienes reportan haber

observado en el postparto una disminución de la actividad enzimática de la AST (preparto = 60.5 UI/L; parto = 77.5 UI/L; postparto = 72.5 UI/L). El aumento en la actividad enzimática de la AST en el postparto temprano es debido a la movilización lipídica y no a la presencia de alguna enfermedad hepática, debido a que el incremento de la actividad enzimática observada no fue muy marcada a la reportada en los IR y se reestableció en el muestreo posterior.

En estudios donde evaluaron alteraciones metabólicas e infecciosas, encontraron elevadas actividades enzimáticas de la AST. Moretti *y col.* (2015) encontró actividades elevadas en vacas con retención de placenta, mientras que Song *y col.* (2016) encontró incremento en vacas con cetosis subclínica y clínica, lo que pone en evidencia que vacas con estas enfermedades cursan con ligeras lesiones hepáticas.

Durante el periodo evaluado en este estudio, las actividades enzimáticas de la ALP en suero no mostraron diferencia (P>0.05) en preparto con respecto al postparto. Sin embargo, si hubo efecto de grupo al momento del parto donde se registró la concentración más elevada. La concentración de ALP registro una disminución importante posterior al parto y se mantuvo baja durante el resto del estudio. Estudios previos reportan que la edad del animal es un factor que refleja la concentración sérica de ALP debido a que en él se refleja el efecto de la edad y crecimiento, también reporta un dato interesante donde mencionan que este metabolito no puede ser tomado en cuenta como indicador de susceptibilidad para la hipocalcemia clínica en el postparto, debido a que no existe diferencia significativa en vacas secas sanas, vacas en postparto sanas y vacas con hipocalcemia clínica (Jonsson y col., 2013), así como en vacas que cursaron con cetosis subclínica y clínica (sanas =  $30.7 \pm 5.7$  UI/L; cetosis subclínica =  $45.7 \pm 6.6$  UI/L; cetosis clínica =  $46.8 \pm 7.2$  UI/L) (Song y col., 2016). Las actividades enzimáticas de la ALP en este estudio fueron mayores que las reportadas por Jonsson et al. (2013) (preparto = 38 UI/L; parto = 54.8 UI/L; postparto = 32.1 UI/L), pero el comportamiento en el periodo de transición en ambos estudios fueron similares. La fosfatasa alcalina es un indicador de formación ósea por lo que las concentraciones mayores de este estudio se pueden asociar al número de lactancias (>1) de las vacas que se utilizaron.

En este estudio no observamos diferencias significativas (P>0.05) entre las medias de las actividades enzimáticas de la GGT durante el tiempo de estudio (preparto y postparto), estos valores se encuentran dentro del IR reportados por Wittwer (2016) (<40 UI/L). Sin embargo,

se pudo observar una disminución importante de la actividad enzimática de la GGT en el periodo que corresponde al -10 d preparto y un aumento en los periodos posteriores reflejando una mayor actividad de esta enzima al parto y postparto. Actividades enzimáticas elevadas de la GGT y AST son observadas en vacas que presentan alguna lesión hepática (hepatocelular o canalicular) (Noro y col., 2013) y son utilizadas como indicador específico de lesión hepática (Jóźwik y col., 2012). Las actividades enzimáticas en el presente estudio coinciden con las reportadas por Bertoni y col. (2008) en el aspecto de que las actividades de la GGT no mostraron diferencias significativas entre los grupos evaluados, pero los valores reportados fueron mayores (7, 14 y 28 postparto; 27.5 UI/L, 28.1 UI/L, 29.3 UI/L, respectivamente). Debido a que las actividades de la enzima GGT se mantuvieron en bajas concentraciones y dentro del IR los resultados no indican daño hepático. Sin embargo, no observamos diferencias entre los valores promedios de las actividades enzimáticas de la ALT en el periodo de evaluación. Sin embargo, se observó una disminución de su actividad al momento del parto y un incremento posterior correspondiente al +10 d postparto, con una disminución posterior a este punto de muestreo.

No observamos diferencias significativas (P>0.05) entre las medias de las concentraciones de proteínas totales por efecto de tiempo (preparto y postparto) pero si por efecto de tiempo en los grupos correspondientes de +10 d y +21 d postparto, donde se registró un aumento notorio en su concentración al +21 d postparto con respecto al parto y +10 d postparto. Concentraciones bajas de proteínas totales es asociado a carencias en la dieta (Zarate y col. 2016). Los resultados de las concentraciones de proteínas totales de este estudio, se encuentran ligeramente por debajo de las reportadas por Bertoni y col. (2008) quienes reportan concentraciones a los 7, 14, y 28 días postparto de 70 UI/L, 73.4 UI/L y 74.2 UI/L, respectivamente. En el caso de la albúmina no observamos diferencias significativas (P>0.05) entre las medias de las concentraciones de albúmina por efecto de tiempo, encontrando los valores dentro del IR reportados por Wittwer (2016) (30-41 g/L). Observamos un ligero incremento al parto, con una disminución en la concentración al +10 d postparto que fue seguido de un ligero incremento, pero sin diferencia significativa en el siguiente muestreo. La albuminemia es un marcador de respuesta lenta y se presenta debido a una baja en la producción hepática que puede ser originado por ausencia en la dieta e incremento en la producción láctea (Wittwer, 2016) e incluso indicador de falla hepática (Moretti y col. 2015). Las concentraciones encontradas en este estudio coinciden con las reportadas en los estudios realizados por Jonsson y col. (2013) (preparto = 31 g/L; parto = 31 g/L; parto = 30.7 g/L) y Zarate y col. (2016) (preparto = 38  $\pm$  7.1 g/L; postparto = 27  $\pm$  8.9 g/L). Debido a que la concentración de albúmina se mantuvo siempre dentro del IR es indicativo del buen estado funcional del hígado y aporte proteico en la dieta.

En lo que respecta a la urea observamos diferencias significativas (P<0.05) de las concentraciones por efecto de tiempo (preparto y postparto). La menor concentración se registró en el periodo preparto, seguido de un incremento notorio hasta los +10 d postparto y con una ligera disminución de los valores en el siguiente punto de evaluación. Los valores reportados en todo el periodo de estudio se mantuvieron dentro del IR establecido por Wittwer (2016) (2.5 - 7 mmol/L) y los reportados por Zarate y col. (2016). El monitoreo de la urea sérica juega un papel importante en la salud de ubre, reproducción e integridad del hígado (Zarate y col., 2016). En este estudio, el incremento en la concentración de urea sérica alrededor del parto, se puede asociar a un aumento en la degradación de aminoácidos (gluconeogénesis) debido al incremento en la demanda energética al inicio de la lactancia (Weber y col., 2015). Los resultados de Zarate y col. (2016) y Jonsson y col. (2013) muestran valores muy por encima de los reportados en el presente estudio, sin embargo, coinciden en el comportamiento que tuvo este metabolito durante el periodo de transición evidenciando mayor concentración en el postparto. La concentración sérica de urea es un indicador de la correcta proporción en la dieta de hidratos de carbono, proteína y su adecuada degradación por las bacterias ruminales. Para los valores de creatinina observamos diferencia significativa (P<0.05) entre las medias de las concentraciones a partir de -10 d preparto y hasta +21 d postparto. A medida de que se acercó el momento del parto los valores incrementaron para registrar el valor más alto durante el periodo de evaluación, seguido de una disminución lineal para registrar la menor concentración a +21 d postparto. Los resultados observados en este estudio coinciden con los reportados por Jonsson y col. (2013) así como en su comportamiento (preparto= 111 µmol/L, parto= 102 µmol/L y postparto= 85.5 µmol/L) y similares a las reportadas por Bertoni y col. (2008) a los 7, 14 y 28 días postparto (99.7 μmol/L, 93.6 μmol/L y 86.9 μmol/L, respectivamente).

#### 6. CONCLUSIONES

Las vacas en periodo de transición experimentan valores límites séricos que ponen en riesgo su estado de salud.

Los primeros 10 días postparto son la etapa donde se refleja la mayor exigencia metabólica de los componentes bioquímicos energéticos y proteicos, y ponen en evidencia la complicación para combatir la demanda de energía en el postparto temprano en la vaca lechera.



### **BIBLIOGRAFÍA**

- Alvarenga, E. A., Moreira, G. H. F. A., Facury Filho, E. J., Leme, F. O. P., Coelho, S. G., Molina, L. R., ... Carvalho, A. U. (2015). Avaliação do perfil metabólico de vacas da raça Holandesa durante o período de transição. Pesquisa Veterinária Brasileira, 35(3), 281–290. https://doi.org/10.1590/S0100-736X2015000300012
- Ardalan, M., Dehghan-Banadaky, M., Rezayazdi, K., & Ghavi Hossein-Zadeh, N. (2011). The effect of rumen-protected methionine and choline on plasma metabolites of Holstein dairy cows. Journal of Agricultural Science, 149(5), 639-646. https://doi.org/10.1017/S0021859610001292
- Barberio, A., Gianesella, M., Fiore, E., Morgante, M., Giudice, E., Rizzo, M., & Piccione, G. (2017). Adaptation of some energetic parameters during transition period in dairy cows. **Journal Applied** Animal Research, 46(1), 402-405. https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1313742
- Barletta, R. V., Maturana Filho, M., Carvalho, P. D., Del Valle, T. A., Netto, A. S., Rennó, F. P., ... Wiltbank, M. C. (2017). Association of changes among body condition score during the transition period with NEFA and BHBA concentrations, milk production, fertility, and health of Holstein cows. Theriogenology, 104(August), 30-36. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.07.030
- Beitz, D. C. (2014). Etiology and prevention of fatty liver and ketosis in dairy cattle. Proceedings of the 25th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, 41-52. https://doi.org/10.1590/S1519-38292008000300012
- Bell, A. W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. Journal of Animal Science, 73(9), 2804–2819. https://doi.org/10.2527/1995.7392804x
- Bertoni, G., Trevisi, E., Han, X., & Bionaz, M. (2008). Effects of Inflammatory Conditions on Liver Activity in Puerperium Period and Consequences for Performance in Dairy Cows. Journal of Dairy Science, 91(9), 3300–3310. https://doi.org/10.3168/jds.2008-0995

# ESIS TESIS TESIS TESIS

- Blanc, C. D., Van der List, M., Aly, S. S., Rossow, H. A., & Silva-del-Río, N. (2014). Blood calcium dynamics after prophylactic treatment of subclinical hypocalcemia with oral or intravenous calcium. *Journal of Dairy Science*, 97(11), 6901–6906. https://doi.org/10.3168/jds.2014-7927
- Cai, T. Weston, P. Lund, L. (1994). Association between nutrophil functions and periparturient disorders in cow. *Journal Vet. Res.*, 55, 934–943.
- Cervantes, E. H, Santoyo. A, Á. (2001). Lechería familiar, factores de éxito para el negocio, 230.
- Chapinal, N., Carson, M. E., LeBlanc, S. J., Leslie, K. E., Godden, S., Capel, M., ... Duffield, T. F. (2012). The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of Dairy Science*, 95(3), 1301–1309. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4724
- Charbonneau, E., Pellerin, D., & Oetzel, G. R. (2010). Impact of Lowering Dietary Cation-Anion Difference in Nonlactating Dairy Cows: A Meta-Analysis. *Journal of Dairy Science*, 89(2), 537–548. https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(06)72116-6
- Cooke, R. F., Del Río, N. S., Caraviello, D. Z., Bertics, S. J., Ramos, M. H., & Grummer, R. R. (2007). Supplemental Choline for Prevention and Alleviation of Fatty Liver in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 90(5), 2413–2418. https://doi.org/10.3168/jds.2006-028
- Davis, L., Litherland, N. B., Hansen, W. P., Emanuele, S., Blalock, H., & da Silva, D. N. L. (2013). Effects of prepartum controlled-energy wheat straw and grass hay diets supplemented with starch or sugar on periparturient dairy cow performance and lipid metabolism. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 3050–3063. https://doi.org/10.3168/jds.2012-5998
- FIRA. (2001). Tendencias y Oportunidades de Desarrollo de la Red Leche en México.
- Goff, J.P., & Horst, R. L. (1997). Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic Disorders. *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1260–1268.

https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76055-7

- Goff, J.P., Liesegang, A., & Horst, R. L. (2014). Diet-induced pseudohypoparathyroidism: A hypocalcemia and milk fever risk factor. *Journal of Dairy Science*, 97(3), 1520–1528. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7467
- Goff, Jesse P. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176(1), 50–57. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.020
- Gross, J. J., Schwarz, F. J., Eder, K., van Dorland, H. A., & Bruckmaier, R. M. (2013). Liver fat content and lipid metabolism in dairy cows during early lactation and during a midlactation feed restriction. *Journal of Dairy Science*, *96*(8), 5008–5017. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6245
- Grummer, R. R. (2008). Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. *The Veterinary Journal*, 176(1), 10–20. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.033
- Grünberg, W., Donkin, S. S., & Constable, P. D. (2011). Periparturient effects of feeding a low dietary cation-anion difference diet on acid-base, calcium, and phosphorus homeostasis and on intravenous glucose tolerance test in high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(2), 727–745. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3230
- Hammon, D. S., Evjen, I. M., Dhiman, T. R., Goff, J. P., & Walters, J. L. (2006). Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 113(1–2), 21–29. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2006.03.022
- Hayirli, A., Grummer, R. R., Nordheim, E. V., & Crump, P. M. (2002). Animal and Dietary Factors Affecting Feed Intake During the Prefresh Transition Period in Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 85(12), 3430–3443. https://doi.org/10.1111/dgd.12023
- Huzzey, J. M., von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2005). Changes in Feeding, Drinking, and Standing Behavior of Dairy Cows During the Transition Period. *Journal of Dairy Science*, 88(7), 2454–2461. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72923-

1

- INEGI. (2005). Perspectiva Estadística Aguascalientes.
- Ingvartsen, K. L., & Andersen, J. B. (2000). Integration of Metabolism and Intake Regulation: A Review Focusing on Periparturient Animals. *Journal of Dairy Science*, 83(7), 1573–1597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75029-6
- Instituto de Información Estadística y Geográfica. (2018). Lagos de Moreno Diagnóstico del Municipio.
- Jonsson, N. N., Fortes, M. R. S., Piper, E. K., Vankan, D. M., de Cisneros, J. P. J., & Wittek, T. (2013). Comparison of metabolic, hematological, and peripheral blood leukocyte cytokine profiles of dairy cows and heifers during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 96(4), 2283–2292. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6173
- Jóźwik, A., Strzałkowska, N., Bagnicka, E., Grzybek, W., Krzyzewski, J., Poławska, E., ... Horbańczuk, J. O. (2012). Relationship between milk yield, stage of lactation, and some blood serum metabolic parameters of dairy cows. *Czech Journal of Animal Science*, 57(8), 353–360.
- Leblanc, S. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period introduction—metabolic challenges in peripartum dairy cows and their associations with reproduction. *Journal of Reproduction and DevelopmentJ. Reprod. Dev*, 56(56), 29–35. https://doi.org/10.1186/s12955-018-0955-2
- Leno, B. M., Neves, R. C., Louge, I. M., Curler, M. D., Thomas, M. J., Overton, T. R., & McArt, J. A. A. (2018). Differential effects of a single dose of oral calcium based on postpartum plasma calcium concentration in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 3285–3302. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13164
- Leno, B. M., Ryan, C. M., Stokol, T., Kirk, D., Zanzalari, K. P., Chapman, J. D., & Overton, T. R. (2017). Effects of prepartum dietary cation-anion difference on aspects of peripartum mineral and energy metabolism and performance of multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 100(6), 4604–4622. https://doi.org/10.3168/jds.2016-12221

## FESIS TESIS TESIS TESIS

- Loera, J., & Banda, J. (2017). Industria lechera en méxico: parámetros de la producción de leche y abasto del mercado interno. *Revista de Investigaciones Altoandinas Journal of High Andean Research*, 19(1), 419–426. https://doi.org/10.18271/ria.2017.317
- Martín-Tereso, J., & Verstegen, M. W. A. (2011). A novel model to explain dietary factors affecting hypocalcaemia in dairy cattle. *Nutrition Research Reviews*, 24(2), 228–243. https://doi.org/10.1017/S0954422411000126
- Martinez, N., Risco, C. A., Lima, F. S., Bisinotto, R. S., Greco, L. F., Ribeiro, E. S., ... Santos, J. E. P. (2012). Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 7158–7172. https://doi.org/10.3168/jds.2012-5812
- Martinez, N., Sinedino, L. D. P., Bisinotto, R. S., Ribeiro, E. S., Gomes, G. C., Lima, F. S., ... Santos, J. E. P. (2014). Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *97*(2), 874–887. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7408
- Mazur, A., Ayrault-Jarrier, M., Chilliard, Y., & Rayssiguier, Y. (1992). Lipoprotein metabolism in fatty liver dairy cows. *Diabete & Metabolisme*, 18(1 Pt 2), 145–149. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1563549
- McArt, J. A. A., Nydam, D. V., & Overton, M. W. (2015). Hyperketonemia in early lactation dairy cattle: A deterministic estimate of component and total cost per case. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 2043–2054. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8740
- Megahed, A. A., Hiew, M. W. H., El Badawy, S. A., & Constable, P. D. (2017). Plasma calcium concentrations are decreased at least 9 hours before parturition in multiparous Holstein-Friesian cattle in a herd fed an acidogenic diet during late gestation. *Journal of Dairy Science*, 101(2), 1365–1378. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13376
- Moretti, P., Probo, M., Morandi, N., Trevisi, E., Ferrari, A., Minuti, A., ... Giordano, A. (2015). Early post-partum hematological changes in Holstein dairy cows with retained placenta. *Animal Reproduction Science*, 152, 17–25.

https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.11.019

- Neves, R. C., Leno, B. M., Bach, K. D., & McArt, J. A. A. (2018). Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with disease and milk production. *Journal of Dairy Science*, 101(10), 9321–9331. https://doi.org/10.3168/jds.2018-14587
- Neves, R. C., Leno, B. M., Stokol, T., Overton, T. R., & McArt, J. A. A. (2017). Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(5), 3796–3804. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11970
- Newman, A., Mann, S., Nydam, D. V., Overton, T. R., & Behling-Kelly, E. (2016). Impact of dietary plane of energy during the dry period on lipoprotein parameters in the transition period in dairy cattle. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100(1), 118–126. https://doi.org/10.1111/jpn.12343
- Noro, M., Wageman, C., Arnés, V., Wittwer, F. (2013, December). Valoración diagnóstica de enzimas hepáticas en perfiles bioquímicos sanguíneos de vacas lecheras, 3474–3479.
- Ospina, P. A., Nydam, D. V., Stokol, T., & Overton, T. R. (2010). Evaluation of nonesterified fatty acids and β-hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *Journal of Dairy Science*, 93(2), 546–554. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2277
- Overton, M. W., Godden, S. M., Rapnicki, P., Berghaus, R. D., & Rollin, E. (2010). The effect of injectable butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum serum β-hydroxybutyrate, calcium, and phosphorus concentrations in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 93(3), 978–987. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2508
- Overton, T. R., & Waldron, M. R. (2004). Nutritional Management of Transition Dairy Cows: Strategies to Optimize Metabolic Health. *Journal of Dairy Science*, 87(June 2003), E105–E119. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70066-1
- Piccione, G., Messina, V., Marafioti, S., Casella, S., Giannetto, C., & Fazio, F. (2012). Changes of some haematochemical parameters in dairy cows during late gestation, post

- partum, lactation and dry periods. Veterinarija Ir Zootechnika, 58(80), 59-64.
- Ramberg, C. F., Johnson, E. K., Fargo, R. D., & Kronfeld, D. S. (2017). Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 246(5), R698–R704. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1984.246.5.r698
- Reinhardt, T. A., Lippolis, J. D., McCluskey, B. J., Goff, J. P., & Horst, R. L. (2011). Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *Veterinary Journal*, *188*(1), 122–124. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.03.025
- Rhoads, R. P., Kim, J. W., Leury, B. J., Baumgard, L. H., Segoale, N., Frank, S. J., ... Boisclair, Y. R. (2004). Insulin Increases the Abundance of the Growth Hormone Receptor in Liver and Adipose Tissue of Periparturient Dairy Cows. *The Journal of Nutrition*, 134(5), 1020–1027. https://doi.org/10.1093/jn/134.5.1020
- Roberts, C. J., Reid, I. M., Rowlands, G. J., & Patterson, A. (1981). A fat mobilisation syndrome in dairy cows in early lactation. *The Veterinary Record*, *108*(1), 7–9. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7233778
- Rodrigo, G., Jesús, A. De, & Gerardo, A. (2007). Disponible en: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30241611.
- SAGARPA. (2010). Situación Actual y Perspectivas de la Producción de Leche de Bovino en México 2010, 34–36.
- Samanc, H., Dragan, G. Fratiric, N., Kirovski, D., Djokovic, R., Sladojevic, Z., Cincovic, M. (2015). Body condition secore loss, hepatic lipidosis and selected blood metabolites in Holstein cows during transition period. *Animal Science Papers & Reports*, 33, 35–47. Retrieved from http://www.ighz.edu.pl/uploaded/FSiBundleContentBlockBundleEntityTranslatableBl ockTranslatableFilesElement/filePath/78/strona35-48.pdf
- Sheehy, M. R., Fahey, A. G., Aungier, S. P. M., Carter, F., Crowe, M. A., & Mulligan, F. J. (2017). A comparison of serum metabolic and production profiles of dairy cows that maintained or lost body condition 15 days before calving. *Journal of Dairy Science*,

- 100(1), 536–547. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11206
- SIAP. (2018). Boletín trimestral sobre la producción de leche de bovino. Retrieved from https://www.gob.mx/siap/prensa/boletin-de-leche-155932?idiom=es
- Song, Y., Li, N., Gu, J., Fu, S., Peng, Z., Zhao, C., ... Liu, G. (2016). β-Hydroxybutyrate induces bovine hepatocyte apoptosis via an ROS-p38 signaling pathway. *Journal of Dairy Science*, 99(11), 9184–9198. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11219
- Sordillo, L. M. (2016). Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. *Journal of Dairy Science*, 99(6), 4967–4982. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10354
- Tharwat, M., Endoh, D., & Oikawa, S. (2012). Hepatocyte apoptosis in dairy cows with fatty infiltration of the liver. *Research in Veterinary Science*, *93*(3), 1281–1286. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.03.011
- van Knegsel, A. T. M., van der Drift, S. G. A., Čermáková, J., & Kemp, B. (2013). Effects of shortening the dry period of dairy cows on milk production, energy balance, health, and fertility: A systematic review. *The Veterinary Journal*, 198(3), 707–713. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.10.005
- Weber, C., Hametner, C., Tuchscherer, A., Losand, B., Kanitz, E., Otten, W., ... Hammon, H. M. (2013). Hepatic gene expression involved in glucose and lipid metabolism in transition cows: Effects of fat mobilization during early lactation in relation to milk performance and metabolic changes. *Journal of Dairy Science*, 96(9), 5670–5681. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6277
- Weber, C., Losand, B., Tuchscherer, A., Rehbock, F., Blum, E., Yang, W., ... Hammon, H. M. (2015). Effects of dry period length on milk production, body condition, metabolites, and hepatic glucose metabolism in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1772–1785. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8598
- Weiss, W. P., Azem, E., Steinberg, W., & Reinhardt, T. A. (2016). Corrigendum to "Effect of feeding 25-hydroxyvitamin D3 with a negative cation-anion difference diet on calcium and vitamin D status of periparturient cows and their calves" (J. Dairy Sci. 98:5588–5600). *Journal of Dairy Science*, 99(2), 1693.

TESIS TESIS TESIS

https://doi.org/10.3168/jds.2016-99-2-1693

- Wittwer, F. (2016, February). Marcadores bioquímicos sanguíneos en el diagnostico y control de trastornos metabólicos en vacas lecheras, 1–13.
- Yu, C., Li, S., Yao, J., Cao, Y., Sun, F., & Cai, C. (2016). Regulation of Nutritional Metabolism in Transition Dairy Cows: Energy Homeostasis and Health in Response to Post-Ruminal Choline and Methionine. *Plos One*, *11*(8), e0160659. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160659
- Zarate, R., Pedrozo, R., Contrera, J., Alonso, N., Torres, M., Ortega, O., ... Branda, L. (2016). Metabolic Profile in Holstein Cows Durign the Antepartum and Postpartum Transition Period, in J. Eulogio Estigarribia District, Paraguay. *Compendio de Ciencias Veterinarias*, 6(1), 35–42. https://doi.org/10.18004/compend.cienc.vet.2016.06.01.35-42
- Zarrin, M., Grossen-Rösti, L., Bruckmaier, R. M., & Gross, J. J. (2017). Elevation of blood β-hydroxybutyrate concentration affects glucose metabolism in dairy cows before and after parturition. *Journal of Dairy Science*, 100(3), 2323–2333. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11714

### TESIS TESIS TESIS

#### **ANEXOS**

#### Determinación de AST.

El procedimiento de esta técnica es el siguiente.

- 1. Preparar el reactivo.
- 2. Ajustar el espectrofotómetro a cero con agua destilada.
- 3. Pipetear 500 µL de reactivo en los tubos
- 4. Agregar 50  $\mu$ L de muestra al reactivo, mezclar e incubar a temperatura ambiente durante un minuto.
- 5. Analizar en el espectrofotómetro ByoSystems modelo BTS 350 con una longitud de onda de 340 nm.
- 6. Leer, anotar el resultado.

#### Determinación de ALT.

- 1. Preparar el reactivo.
- 2. Ajustar el espectrofotómetro a cero con agua destilada.
- 3. Pipetear 500 μL de reactivo en los tubos.
- 4. Agregar 50 μL de muestra al reactivo, mezclar e incubar a temperatura ambiente durante un minuto.
- 5. Analizar en el espectrofotómetro ByoSystems modelo BTS-350 con una longitud de onda de 340 nm.
- 6. Leer, anotar el resultado.

#### Determinación de GGT.

El procedimiento de esta técnica es el siguiente:

- 1. Preparar el reactivo.
- 2. Ajustar el espectrofotómetro a cero con agua destilada.
- 3. Pipetear 500 μL de reactivo en los tubos.
- 4. Agregar 50  $\mu$ L de muestra al reactivo, mezclar e incubar a temperatura ambiente durante un minuto.
- 5. Analizar en el espectrofotómetro ByoSystems modelo BTS-350 con una longitud de onda de 405 nm.
- 6. Leer y anotar el resultado.

#### Determinación de Lípidos Totales.

El procedimiento de esta técnica es el siguiente:

- 1. Este reactivo está listo para usarse.
- 2. Ajustar el espectrofotómetro a cero con agua destilada.
- 3. Pipetear en tubo de ensayo 2500 μL de ácido sulfúrico y 100 μL de la muestra
- 4. Mezclar con ayuda de un agitador mecánico.
- 5. Incubar durante 10 minutos en una estufa automática a 100°C.
- 6. Enfriar en agua fría y dosificar en las cubetas agregando 1000 μL del reactivo de lípidos y 50 μL del hidrolizado de la muestra.
- 7. Incubar durante 15 minutos a 37°C.
- 8. Leer y anotar la absorbancia con ayuda del espectrofotómetro Bayer modelo RA-50 con una longitud de onda de 520 nm.

#### Determinación de Fosfatasa Alcalina.

- 1. Preparar el reactivo.
- 2. Ajusta a cero el espectrofotómetro con agua destilada.
- 3. Pipetear 500  $\mu$ L de reactivo y 12.5  $\mu$ L de muestra en un tubo de ensaye.

- 4. Mezclar e incubar a temperatura ambiente por un minuto.
- Leer y anotar la absorbancia con ayuda del espectrofotómetro ByoSystems modelo BTS-350 con una longitud de onda de 405 nm.
- 6. Obtener el valor.

#### Determinación de BUN.

El procedimiento de esta técnica es el siguiente:

- 1. Preparar el reactivo.
- 2. Ajustar el espectrofotómetro a cero con agua destilada.
- 3. Pipetear 500 μL de reactivo y 5 μL de muestra en un tubo de ensayo e inmediatamente colocar en el espectrofotómetro ByoSystems modelo BTS-350 con una longitud de onda de 340 nm.
- 4. Leer y obtener el resultado.

#### Determinación de Creatinina.

El procedimiento de esta técnica es el siguiente:

- 1. Preparar el reactivo.
- 2. Pipetear 500 μL de reactivo y 25 μL de muestra en un tubo de ensaye, mezclar e inmediatamente ponerlo en el espectrofotómetro ByoSystems modelo BTS-350 con una longitud de onda de 510 nm.
- 3. Leer y oobtener el resultado.

#### Determinación de Proteínas Totales.

- 1. Este reactivo está listo para usarse.
- 2. Pipetear 500  $\mu$ L de reactivo y 10  $\mu$ L de muestra en tubo de ensaye.
- 3. Mezclar e incubar a temperatura ambiente durante cinco minutos.
- 4. Analizar en el espectrofotómetro ByoSystems modelo BTS-350 con una longitud de onda de 540 nm.
- 5. Leer, anotar el resultado.

#### Determinación de Albúmina.

El procedimiento de esta técnica es el siguiente:

- 1. Este reactivo está listo para usarse.
- 2. Pipetear 500 μL de reactivo y transferir 5 μL de muestra en un tubo de ensaye.
- 3. Incubar a temperatura ambiente por un minuto.
- 4. Ajustar a cero el espectrofotómetro con blanco.
- 5. Analizar en el espectrofotómetro ByoSystems modelo BTS-350 con una longitud de onda de 630 nm.
- 6. Leer y anotar el resultado.

#### Determinación de Glucosa.

El procedimiento de esta técnica es el siguiente:

- 1. El reactivo está listo para usarse.
- 2. Pipetear 500 μL de reactivo y 5 μL de muestra en un tubo de ensaye.
- 3. Mezclar e incubar a temperatura ambiente durante diez minutos.
- 4. Analizar en el espectrofotómetro ByoSystems modelo BTS-350 con una longitud de onda de 505 nm.
- 5. Leer y anotar el resultado.

#### Determinación de Colesterol.

- 1. Reactivo listo para usarse.
- 2. Pipetear  $500 \,\mu\text{L}$  de reactivo y  $5 \,\mu\text{L}$  de muestra en un tubo de ensaye, mezclar e incubar a temperatura ambiente durante cinco minutos.
- 3. Ajustar el espectrofotómetro a cero.
- 4. Analizar en el espectrofotómetro ByoSystems modelo BTS-350 con una longitud de onda de 500 nm.
- 5. Leer y obtener el resultado.

#### Determinación de Calcio.

El procedimiento de esta técnica es el siguiente:

- 1. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- 2. Pipetear 500 μL de reactivo
- 3. Mezclar 5 µL de muestra con el reactivo.
- 4. Incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente.
- 5. Analizar en el espectrofotómetro ByoSystems modelo BTS-350 con una longitud de onda de 650 nm.
- 6. Leer y anotar el resultado.

#### Determinación de Triglicéridos.

El procedimiento de esta técnica es el siguiente:

- 1. Reactivo listo para usarse.
- 2. Pipetear 5 μL de muestra en los tubos de ensaye.
- 3. Pipetear y mezclar 500 μL de reactivo.
- 4. Incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente.
- 5. Analizar en el espectrofotómetro ByoSystems modelo BTS-350 con una longitud de onda de 500 nm.
- 6. Leer la absorbancia.

#### Determinación de AGNE.

Para la determinación de AGNE, los reactivos se prepararon bajo condiciones apropiadas de laboratorio. Los reactivos contenidos en el kit estuvieron compuestos por Buffer (R1a), Enzimas/Coenzimas (R1b), Diluyente de las enzimas (R2a), Maleimida (R2b), Reactivo de las enzimas (R2c) y por un Calibrador (estándar).

La preparación de los reactivos es el siguiente:

- 1. Reconstituir el contenido de un vial de enzimas/coenzimas (R1b) con 10 ml de buffer (R1a). Este reactivo es estable por 5 días a una temperatura entre 2-8°C.
- 2. Reconstituir el contenido de un frasco de maleimida (R2b) con el contenido de un frasco de diluyente de las enzimas (R2a) disolviendo completamente

# TESIS TESIS TESIS TESIS

3. Reconstituir el contenido de un vial de reactivo de enzimas (R2c) con el contenido de la solución R2b (maleimida y diluyente de enzimas).

Las diluciones quedaron compuestas de la siguiente manera:

R1= Buffer/ Enzimas/ Coenzimas.

R2= Diluyente de enzimas/ Maleimida/ Reactivo de enzimas.

La determinación de los AGNE se realizó por el procedimiento manual. El procedimiento de esta técnica es el siguiente:

- 1. Identificar cuatro cubetas desechables para espectrofotometría de la siguiente manera: reactivo blanco, estándar, muestra y muestra blanco.
- 2. Pipetear 50 μL de agua destilada y 1000 μL de la solución R1 en la cubeta de reactivo blanco.
- 3. Pipetear 50 μL del estándar (calibrador) y 1000 μL de la solución R1 en la cubeta de estándar.
- 4. Pipetear 50 μL de la muestra y 1000 μL de la solución R1 en la cubeta de muestra.
- 5. Pipetear 1000 μL de la solución R1 en la cubeta de muestra blanco.
- 6. Mezclar e incubar a 37°C durante 10 minutos.
- 7. Posteriormente adicionar 2000 µL de la solución R2 a cada una de las cubetas y unicamente a la cubeta muestra blanco pipetear 50 µL de la muestra.
- 8. Mezclar e incubar a 37°C por 10 minutos.

Debido a que se utilizó el procedimiento manual la concentración de las muestras se debe calcular de la siguiente manera:

Mmol/L= ((Amuestra - Amuestra blanco) / Aestándar)) x concentración del estándar

Resultados de los analitos evaluados durante el periodo de transición (-21 d antes del parto a +21 d después del parto). Valores expresados con su media ± error estándar.

Parámetro	21 d Preparto	parto	10 d preparto	arto	P 0		10 d postparto	tparto	21 d postparto	tparto
	n= 47	11	n= 62	-	n= 75	16	n=62	2	09=u	0
AST (UI/L)	63.3617	2.4897	67.9354	1.8435	81.2000	3.5788	123.2419	7.1857	83.3000	3.6570
ALT (UI/L)	21.7447	0.7625	21.8709	0.7156	20.3733	0.6838	23.4677	1.0216	20.1500	0.8007
GGT (UI/L)	18.8510	1.8329	16.8064	0.7968	18.2133	1.1586	19.4516	1.5944	20.3500	1.2666
ALP (UI/L)	68.1702	4.0142	63.0161	2.8237	82.3446	3.0501	61.0000	3.0111	53,4000	2.5439
Creatinina (umol/L)	94.0425	1.8306	97.1685	2.4369	105.9624	2.4804	87.4024	3.3569	74.7118	1.7780
BUN (mmol/L)	1.8519	0.0764	1.7825	0.0592	2.3314	0.1197	2.5327	0.1303	2.2271	0.1262
Urea (mmol/L)	3.8874	0.1605	3.7438	0.1241	4.8953	0.2514	5,3191	0.2737	4.6768	0.2653
Proteínas Totales (g/L)	65.6595	1.3114	64.2096	0.7373	0089.19	9999'0	62.0161	0.9913	66.2333	1.0768
Albúmina (g/L)	33.9361	0.9715	33.5000	0.7911	35.3200	0.6959	32.4032	0.7029	33,3666	0.8887
Colesterol (mmol/L)	2.0748	0.0885	1.6933	0.0432	1.3358	0.0439	1.7429	0.0614	2.5756	0960'0
Triglicéridos (mmol/L)	0.2855	0.0107	0.2909	0.0123	0.2597	0.0132	0.2541	0.0153	0.2606	0.0162
Lípidos Totales (mg/dL)	230.9551	14.8917	186.4488	9.8038	174.9377	9.6348	239.1312	11.4034	308.9175	15.5517
Glucosa (mmol/L)	3.4655	96200	3.5946	0.0856	3.8660	0.1244	2.9256	0.0837	2.9790	0.0735
Calcio (mmol/L)	2.8548	0.1018	2.8019	0.0801	2.4928	0.1023	2,3161	0.0779	2.4016	0.0792
BHB (mmol/L)	0.4759	0.0205	0.4929	0.0205	0.6366	0.0327	0.9161	0.1108	0.8640	0.0977

Formato de hoja de trabajo nivel hato.



No.	Vaca	Rep	Tx	FParto	BCS	Evento extraordinario	Tratamiento
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
Fecha y hora muestreo:							