

Integración bioquímica para modelar las respuestas metabólicas en la producción láctea de bovinos lecheros

Arturo César García Casillas¹ y Lisandro Atilio Montiel Ramos²

Resumen. *El presente estudio es un análisis exhaustivo de los elementos científicos y técnicos sobre la gluconeogénesis hepática en los bovinos lecheros, donde factores como las adaptaciones de las papilas ruminales, el metabolismo de la glucosa, la oxidación y β -oxidación de lípidos, y la formación y uso de cuerpos cetónicos son componentes esenciales en los ajustes metabólicos dentro de la producción láctea. Esta revisión hace mayor énfasis en la estructura de modelos esquemáticos de integración bioquímica, especialmente durante el balance energético negativo con el fin de alcanzar un adecuado equilibrio entre el consumo de energía, por parte del animal, y la energía requerida para el mantenimiento y la preñez (en la vaca gestante) y el mantenimiento y la lactancia (en la vaca lactante). Por lo tanto, la información revisada pretende hacer más accesible la comprensión de los procesos bioquímicos que ocurren antes y después del parto, así como la fisiología y bioquímica de la lactancia temprana, eventos de vital importancia para la salud, producción y rentabilidad en bovinos lecheros.*

Palabras clave: *Gluconeogénesis hepática, Oxidación y β -oxidación, Cetogénesis*

¹ Estudiante becario, doctorado en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, e-mail: cesargarciacasillas@hotmail.com

² Profesor-Investigador, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, e-mail: lmontiel@correo.xoc.uam.mx

Abstract. *This study is an exhaustive analysis of the elements on hepatic gluconeogenesis in dairy cattle, where factors such as the adaptations of ruminal papillae, glucose metabolism, oxidation and β -oxidation of lipids and the formation and use ketone bodies, are essential components in the metabolic settings within the milk yield. The review emphasizes the structure of schematic models of biochemistry integration, especially during negative energy balance in order to achieve an appropriate balance between energy consumption by the animal, and the energy required for maintenance and pregnancy (in the pregnant cow), and the maintenance and lactation (in the lactating cow). Therefore, the revised information aims to make it more accessible understanding of the biochemical events that occur around calving, physiology and biochemistry of early lactation, events of vital importance to the health, production and profitability in dairy cattle.*

Keywords: *Hepatic gluconeogenesis, Oxidation and β -oxidation, Ketogenesis.*

INTRODUCCIÓN

Comparada con otras especies, la producción de alimentos de origen bovino presenta menos competencia con el hombre por la disponibilidad de una amplia cantidad de ingredientes que se pueden emplear; debido a que los nutrientes necesarios para el mantenimiento y producción en los bovinos pueden ser obtenidos a partir de forrajes o alimentos que el hombre no consume, pero que el bovino, en su condición de rumiante, puede utilizar debido a sus procesos digestivos (Bauman *et al.*, 2006).

Dentro de los alimentos disponibles para los bovinos lecheros, son pocos los productos vegetales con cantidades considerables de disacáridos como la sacarosa por ejemplo, la caña de azúcar (Martín, 2005), y menos aún los que contienen monosacáridos como la glucosa por ejemplo, la pulpa de remolacha (Voelker y Allen, 2003). Por lo tanto, los carbohidratos más abundantes en sus raciones son polisacáridos

como celulosa, hemicelulosa, pectinas, fructanos y almidones (Sniffen *et al.*, 1992). Estos sustratos energéticos son fermentados por bacterias ruminales, por ejemplo *Streptococcus bovis*, *Bacteroides amylophilus*, *Megasphaera elsdenii* y *Selenomonas ruminantium* (Reddy *et al.*, 2008), y transformados en ácidos grasos volátiles (AGV) de cadena carbonada corta: principalmente ácido acético con dos carbonos, ácido propiónico con tres carbonos y ácido butírico con cuatro carbonos (Hristov *et al.*, 2005).

Al respecto Firkins *et al.* (2006) reportaron que los AGV son absorbidos a través de la pared ruminal por medio de difusión simple, mediante un intercambio con el bicarbonato sanguíneo, para posteriormente ser llevados en la sangre portal hasta el hígado. Sin embargo, el ácido propiónico es el único de los AGV que puede intervenir como sustrato energético en la gluconeogénesis (Sutton *et al.*, 2003). Siendo el hígado, el órgano responsable de utilizar dicho sustrato para satisfacer las necesidades metabólicas de todos los tejidos corporales (Dorland *et al.*, 2009). No obstante, es importante señalar que durante la lactancia temprana, la capacidad del hígado para utilizar ácido propiónico en el proceso de gluconeogénesis está reducida a causa del balance energético negativo (BEN), propio de esta etapa fisiológica (Banos *et al.*, 2005). Por lo que este órgano responde mediante una serie de ajustes bioquímicos, con la finalidad de abastecer la demanda de glucosa, utilizando vías metabólicas alternas con sustratos gluconeogénicos endógenos como lactato, lípidos y proteínas (Firkins *et al.*, 2006; Firkins *et al.*, 2007).

En general, estos ajustes bioquímicos son un reflejo de los cambios metabólicos que ocurren para facilitar el proceso del parto (Goff, 2006) y la preparación de la glándula mamaria para la síntesis de calostro, y posteriormente de la leche (Bauman *et al.*, 2006). Con base en lo anterior, esta revisión pretende contribuir a la divulgación de elementos científicos y técnicos sobre las respuestas metabólicas originadas en la producción láctea de bovinos lecheros, mediante modelos esquemáticos de integración bioquímica.

Adaptaciones de las papilas ruminales

Durante el periodo de transición, –con el objetivo de asegurar el correcto desarrollo de la unidad feto-placenta en el último tercio de la gestación (Goff, 2006), para mantener una apropiada condición corporal (Mulligan *et al.*, 2006), y optimizar la producción de leche (PL) (Buttchereit *et al.*, 2010)–, la vaca realiza ajustes metabólicos y una adaptación de su sistema digestivo, en respuesta a los cambios en el suministro de carbohidratos no estructurales y de fuentes de fibra.

Como consecuencia de lo anterior, las concentraciones de los productos finales de la fermentación ruminal se modifican lo mismo que el pH del rumen, los cuales son factores determinantes en el crecimiento y desarrollo de las papilas ruminales, como lo establecieron Rotger *et al.* (2005) al probar el efecto de la relación forraje, concentrado sobre la fermentación ruminal, los productos finales, y la cinética de degradación *in situ*; señalando que el aumento de la velocidad y el nivel de degradación están relacionados positivamente con la adaptación de la microflora ruminal y con los cambios en el patrón de fermentación. Lo anterior es similar a lo reportado por Reddy *et al.* (2008), quienes observaron un incremento significativo sobre la flora bacteriana amilolítica, al incorporar en las raciones nutricionales cantidades importantes de cereales. Sin embargo, cuando esta incorporación sucede en forma repentina se produce una cantidad elevada de ácido láctico (Rotger *et al.*, 2005).

En un rumen bien adaptado, las bacterias que utilizan ácido láctico por ejemplo *Megasphaera elsdenii* y *Selenomonas ruminantium*, lo metabolizan a AGV (Reddy *et al.*, 2008). No obstante, el desarrollo de estas bacterias requiere de tres a cuatro semanas, por lo que durante el posparto temprano se produce un retraso en el desarrollo de las papilas.

Como se puede interpretar, la transición entre el estado de preñez y la PL exige en la vaca lechera una elevada capacidad de adaptación hacia sus nuevas condiciones metabólicas y fisiológicas (Banos *et al.*, 2005). De lo contrario, la combinación de elevadas producciones de ácido

láctico, la adaptación lenta de las poblaciones microbianas que utilizan este ácido, y la reducida capacidad de absorción en la pared ruminal al inicio de la lactancia propiciarán la aparición de patologías metabólicas como la cetosis; con un riesgo de incidencia por lactancia de entre 1.3 y 18.3% (Duffield *et al.*, 2009); estimando pérdidas económicas de \$145 dólares por caso, incluyendo el tratamiento clínico, disminución en la PL y aumento en los días abiertos (Kelton *et al.*, 1998).

Importancia de la gluconeogénesis en los rumiantes

Para todos los mamíferos la glucosa es el sustrato energético en común, en el metabolismo energético de todas sus células (Brosnan, 1999). En animales no rumiantes, a diferencia de los bovinos, cantidades importantes de glucosa se absorben en intestino delgado, siendo su verdadero reto garantizar su adecuado almacenamiento en forma de glucógeno (Young, 1977; Woerle *et al.*, 2003).

En bovinos lecheros, la captación intracelular de este sustrato energético se lleva a cabo por difusión facilitada a través de proteínas facilitadoras de transporte de glucosa (GLUT) y de transportadores de glucosa acoplados a Sodio Na^+ /glucosa (SGLT) (Zhao y Keating, 2007). La mayoría de la glucosa utilizada en el metabolismo energético es proporcionada mediante gluconeogénesis (Aschenbach *et al.*, 2010). Young (1977) calculó que una vaca lechera requiere de 7.4 kg de glucosa por día para producir 90 kg de leche, y que de esa cantidad de glucosa, 4.4 kg se convierten en lactosa. Este incremento en la disponibilidad de glucosa, no puede ser explicado por un aumento en la absorción a través del sistema digestivo, pues, aunque algunas investigaciones con estrategias de alimentación externas han conseguido transportar hasta 5 kg/día de almidón desde el rumen al duodeno (Taylor y Allen, 2005), las limitaciones en la hidrólisis del almidón en intestino, así como el metabolismo esplácnico (Doepel *et al.*, 2009), disminuyen el aporte de glucosa absorbida a

menos del 5% en la mayoría de los estudios, confirmando la importancia cuantitativa de la gluconeogénesis en los rumiantes.

Diferentes investigaciones han estimado la contribución referente a los sustratos gluconeogénicos, clasificando su importancia con base en su porcentaje de captación hepática: ácido propiónico de 60 a 74%, lactato de 16 a 26%, alanina de 3 a 5%, valerato e isobutirato de 5 a 6% y glicerol de 0.5 a 3% (Nafikov y Beitz, 2007; Larsen y Kristensen, 2009). Firkins *et al.* (2006) reportaron que la contribución de glicerol y lactato aumenta durante el BEN y la consecuente movilización lipídica. Por su parte Doepel *et al.* (2009) indicaron que durante la lactación temprana, excluyendo a la alanina, el resto de los aminoácidos siguen la prioridad metabólica de dirigirse hacia la producción de proteína de leche en lugar de participar en la gluconeogénesis.

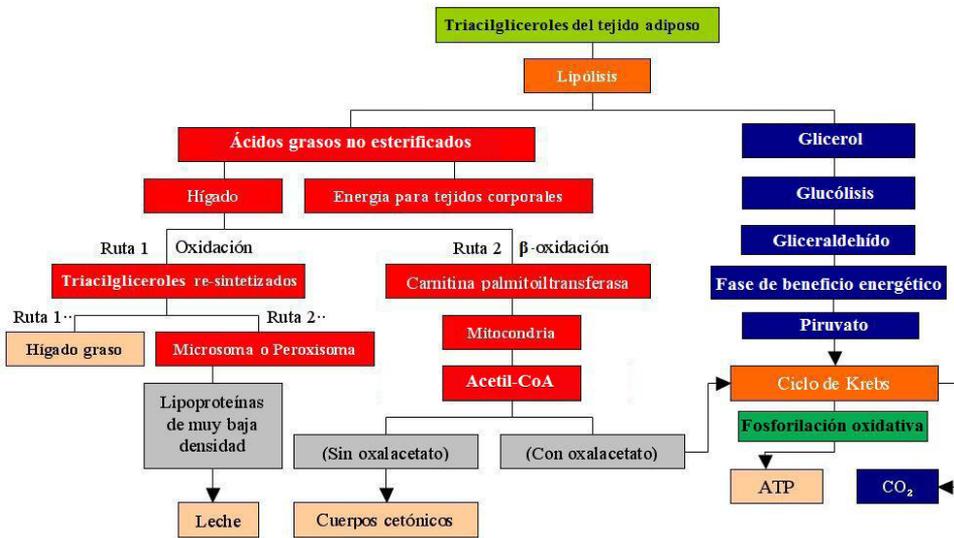
Oxidación y β -oxidación de lípidos

Durante el posparto, la demanda energética en la vaca lechera se incrementa debido a la PL (Banos *et al.*, 2005). Bauman *et al.* (2006) indicaron que este requerimiento adicional se satisface parcialmente por un mayor consumo de alimento, y el aporte energético restante implica ajustes bioquímicos sobre la repartición metabólica de los principales nutrientes. En este contexto, es el hígado el órgano encargado de llevar a cabo estos ajustes bioquímicos, utilizando vías de respuesta alternas con sustratos gluconeogénicos endógenos como lactato, lípidos, y proteínas (Firkins *et al.*, 2006; Firkins *et al.*, 2007).

Los triacilgliceroles almacenados en el tejido adiposo realizan una marcada lipólisis para compensar la elevada demanda energética, produciendo glicerol y ácidos grasos no esterificados (AGNE), con su grupo carboxilo libre (Martín y Sauvant, 2007). Kiens (2006) reportó que los AGNE son transportados en el torrente sanguíneo, unidos de forma no covalente a una proteína portadora, la albúmina sérica, y sólo una pequeña porción de ellos está disponible como fuente de energía para los tejidos corporales.

En la figura 1 se observa como la gran mayoría de los AGNE llegan al hígado, donde pueden seguir dos rutas metabólicas: 1) β -oxidación mitocondrial con la formación de acetil-coenzima A (acetil-CoA) (Bartlett y Eaton, 2004), y 2) síntesis *de novo* a triacilgliceroles mediante el restablecimiento del enlace éster, llevado a cabo en el retículo endoplasmático de los hepatocitos y facilitado por las enzimas intrahepáticas diacilglicero aciltransferasas (Harris *et al.*, 2011).

Figura 1. Metabolismo hepático de los lípidos



Fuente: Elaboración propia a partir de Bartlett y Eaton, 2004; Bonnefont *et al.*, 2004 y Sánchez, 2006.

A su vez, los triacilgliceroles sintetizados *de novo* pueden seguir dos rutas metabólicas nuevamente: 1) oxidación microsomal y participación en la formación de lipoproteínas de muy baja densidad (LMBD) (Sánchez,

2006); Kiens (2006) concluyó que en este proceso no se forma adenosin-trifosfato (ATP), sino que la energía se disipa como calor, y 2) almacenamiento en el citosol hepático, debido a que el hígado de los rumiantes presenta una baja capacidad para formar y exportar LDBD, ricas en triacilglicérolas, formando hígado graso cuando este órgano presenta más de 20% de su estructura como grasa (Bobe *et al.*, 2004).

En la figura 1 también se puede observar como la enzima carnitina palmitoiltransferasa es el dispositivo que limita la velocidad de la β -oxidación (Bonfont *et al.*, 2004). Es importante señalar que durante la lactancia temprana, cuando las reservas hepáticas de glucógeno se reducen, la concentración de malonil-CoA disminuye y su efecto inhibitorio sobre esta enzima decae, induciendo el transporte de los AGNE hacia el interior de la mitocondria hepática (Bartlett y Eaton, 2004).

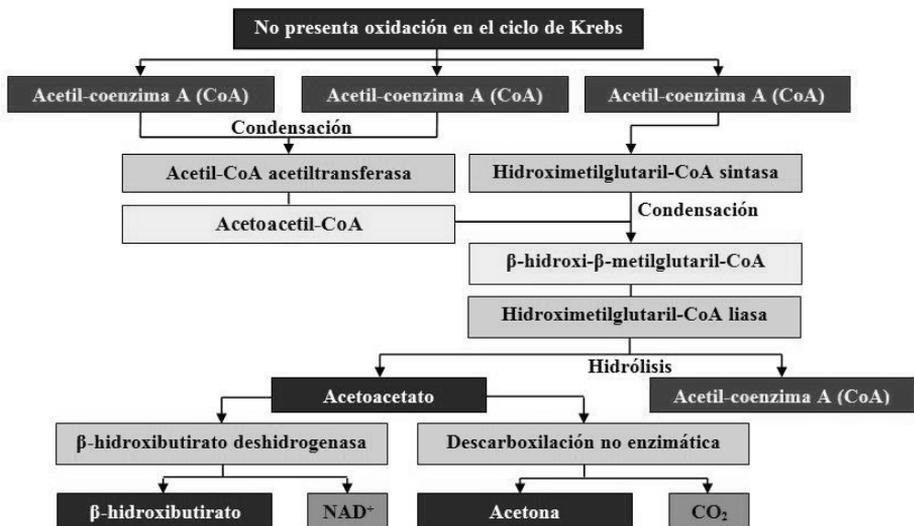
El proceso de oxidación mitocondrial de los AGNE, consiste en una serie de sucesivas β -oxidaciones que conducen a la formación de acetil-CoA (Xu *et al.*, 2010). Esta enzima requiere combinarse con el oxalacetato para su ingreso al ciclo de Krebs, donde los sucesivos metabolitos sufren oxidaciones con la formación de NADH + H⁺ (Bartlett y Eaton, 2004). Kiens (2006) menciona que en este proceso el transporte electrónico exergónico a través de los sistemas enzimáticos en la membrana interna mitocondrial se acopla al proceso endergónico de la síntesis de ATP.

Formación y uso de cuerpos cetónicos

Bartlett y Eaton (2004) concluyen que si la oxidación de los AGNE se lleva a cabo de manera completa en el ciclo de Krebs, el proceso liberará dióxido de carbono y pares de átomos de hidrógeno H⁺; los cuales donarán sus electrones para efectuar una serie de reacciones de oxidación-reducción que culminarán en la formación de agua y el almacenamiento de la energía producida en forma de ATP (Kiens, 2006).

Si existe una producción insuficiente de oxalacetato disponible para combinarse con la acetil-CoA, entonces ésta se acumula dentro de la mitocondria hepática (Bartlett y Eaton, 2004). En la figura 2 se observa un par de moléculas de acetil-CoA que se condensan vía enzimática para formar acetoacetil-CoA; a este proceso bioquímico le sigue una segunda condensación vía enzimática para unir otra acetil-CoA y formar β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (Houten y Wanders, 2010). A partir de este sustrato bioquímico se metaboliza acetoacetato (AcAc) (Bartlett y Eaton, 2004). Este cuerpo cetónico sale de la mitocondria y entra en el citosol hepático donde puede reducirse en β -hidroxibutirato (β -HBA), o descarboxilarse lenta y espontáneamente hasta acetona (Ac) antes de abandonar el hígado y entrar a la circulación general (Xu *et al.*, 2010).

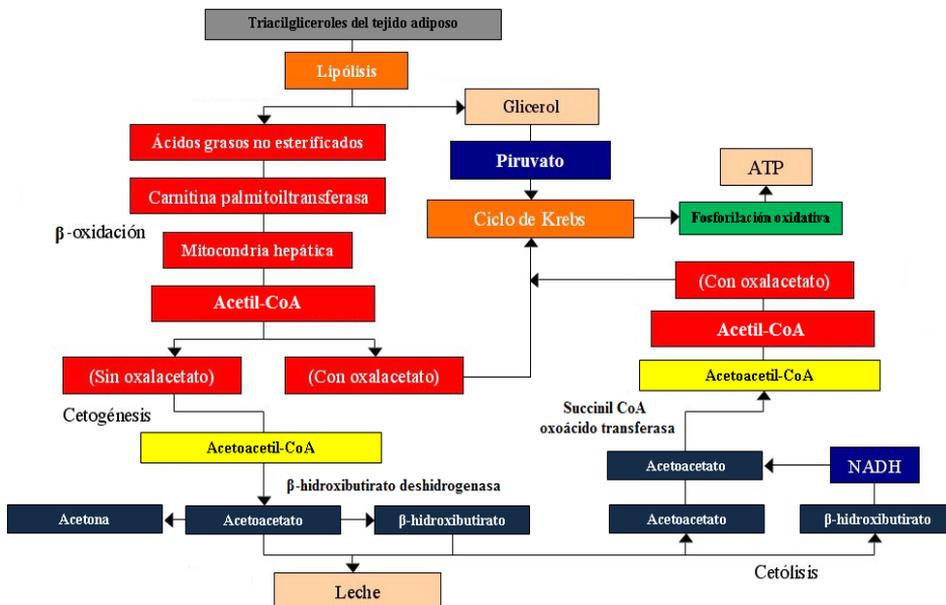
Figura 2. Cetogénesis



Fuente: Elaboración propia a partir de Houten y Wanders, 2010 y Xu *et al.*, 2010.

La mayor parte de la degradación de lípidos ocurre en las células hepáticas, a partir de las cuales los cuerpos cetónicos y el glicerol salen y entran a la circulación sistémica (Goff, 2006). Una vez ahí el glicerol puede entrar en el proceso de glucólisis para formar moléculas de gliceraldehído, y en la fase de beneficio energético biosintetizar piruvato para ser oxidado en el ciclo Krebs (Dorland *et al.*, 2009). La Ac no puede volver a transformarse en acetyl-CoA y se excreta a través de la orina, o bien mediante exhalación (Duffield *et al.*, 2009). El AcAc y el β -HBA, como se observa en la figura 3, son metabolitos oxidables de manera rutinaria cuando están presentes en niveles relativamente bajos dentro de la circulación sistémica (LeBlanc, 2010).

Figura 3. Metabolismo de los cuerpos cetónicos



Fuente: Elaboración propia a partir de Bartlett y Eaton, 2004; Duffield *et al.*, 2009; Houten y Wanders, 2010 y LeBlanc, 2010.

Houten y Wanders (2010) mencionan que el AcAc y el β -HBA pueden ser usados como una fuente adicional de energía por los tejidos corporales, solventando la escasez de glucosa. Sin embargo, cuando existen elevadas concentraciones de ellos, el estado metabólico se encuentra comprometido, ya que se disminuye la utilización de los AGNE, debido a que el AcAc y el β -HBA sirven como reguladores de su liberación (Duffield *et al.*, 2009). Bartlett y Eaton (2004) indicaron que los cuerpos cetónicos presentan una retroalimentación positiva con la concentración de malonil-CoA en el citosol, ocasionando su incremento, y por respuesta bioquímica la supresión de la actividad enzimática de la carnitina palmitoiltransferasa (Bonfont *et al.*, 2004). Como consecuencia de estos desajustes metabólicos se produce cetosis y el balance energético negativo se prolonga peligrosamente (Kelton *et al.*, 1998).

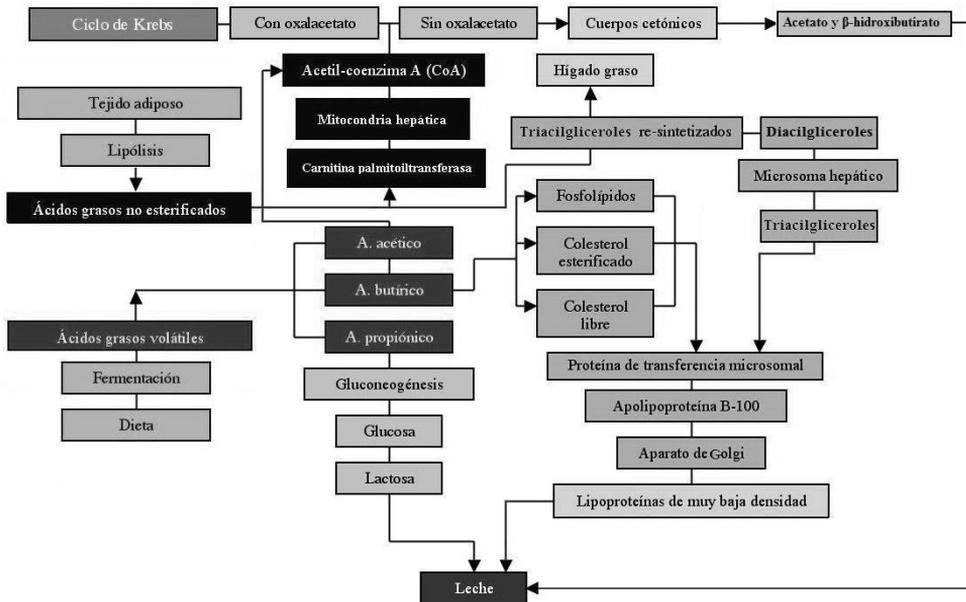
Duffield *et al.* (2009) reportan que la cetosis es una de las principales patologías en los hatos lecheros de alta producción porque está íntimamente ligada a otras patologías metabólicas, por ejemplo, acidosis, desplazamiento de abomaso y esteatosis hepática, y ocasiona disminuciones en la PL que van desde: 1.4, 1.8, 3.2 y 4.2 kg de leche por día, al alcanzar una concentración en suero de 1400, 1600, 1800 y 2000 μ M de β -HBA, respectivamente.

Por su parte, la gran cantidad de AGNE que llega al hígado afecta negativamente a las enzimas: a) piruvato carboxilasa (PC), que cataliza la conversión de piruvato en oxalacetato (Adina-Zada *et al.*, 2012) y b) fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) que cataliza la conversión de oxaloacetato en fosfoenolpiruvato y CO_2 (Al-Trad *et al.*, 2010), limitando la velocidad de la gluconeogénesis hepática (Pershing *et al.*, 2002). Información que concuerda con Li *et al.* (2012) que al investigar los efectos de los AGNE sobre la gluconeogénesis, la actividad y expresión de la PC y la PEPCK en hepatocitos bovinos cultivados y analizados mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y espectrofotometría, concluyeron que los niveles de PC y PEPCK ARNm se redujeron cuando las concentraciones de AGNE superaron 0.5 y 1.5 mM, respectivamente. Estos hallazgos indican que elevados niveles circulantes de AGNE inhiben la gluconeogénesis hepática, y con ello promueven el BEN.

Lipoproteínas de muy baja densidad

Los elevados niveles de AGNE que llegan al hígado provocan una infiltración de grasa y la re-síntesis de triacilgliceroles que se almacenan en el citosol (Ospina *et al.*, 2010). Respecto a esta situación metabólica, Oikawa *et al.* (2010) reportan que el hígado de los rumiantes, en comparación con los no rumiantes, es deficitario en las enzimas lipoproteína lipasa y lipasa hepática, por lo que como se observa en la figura 4, los triacilgliceroles re-sintetizados y almacenados en el citosol deben ser hidrolizados a nivel de diacilgliceroles, y transferidos hacia un pequeño banco de reservas secretorio dentro de los microsomas o peroxisomas (Sparks y Sparks, 2010).

Figura 4. Metabolismo de los ácidos grasos



Fuente: Elaboración propia a partir de Firkins *et al.*, 2006; Navarro *et al.*, 2009 y Nielsen y Karpe, 2012.

Una vez ahí, los diacilgliceroles son nuevamente metabolizados a triacilgliceroles para ser unidos a LMBD (Therond, 2009), cuya síntesis y secreción, de acuerdo a Nielsen y Karpe (2012), requiere de 50 a 55% triacilgliceroles, 18 a 20% fosfolípidos, 12 a 15% colesterol esterificado con un ácido graso, y 8 a 10% colesterol libre. Estos lípidos deben ser agregados para su enlace a la apolipoproteína B-100, lo que ocurre gracias a la presencia de una proteína de transferencia microsomal de triacilgliceroles (MTP) (Navarro *et al.*, 2009).

El colesterol libre y los fosfolípidos se localizan en exterior hidrofílico; por lo tanto interactúan con el entorno acuoso (Sparks y Sparks, 2010); en el interior se alojan las sustancias hidrofóbicas como el colesterol esterificado a un ácido graso y los triacilgliceroles (Therond, 2009). La apolipoproteína B-100 es necesaria para la estabilización de la molécula en forma de agregado esférico, de manera que cualquier interferencia en su elaboración, por ejemplo, la declinación de los niveles séricos de la S-adenosilmetionina y de la colina, precursores de la síntesis de fosfatidilcolina tienen un efecto depresor sobre la formación de LMBD y la consecuente reducción en la exportación de triacilgliceroles desde el hígado (Mason, 1998 y Bernabucci *et al.*, 2004).

CONCLUSIONES

Con base en la bibliografía revisada, se concluye que las adaptaciones del sistema digestivo en la vaca lechera limitan la absorción intestinal de glucosa, por lo cual el proceso de gluconeogénesis hepática es de vital importancia en el aporte energético de los rumiantes, principalmente al momento de la producción láctea. Factores como la oxidación y β -oxidación de lípidos y la formación y uso de cuerpos cetónicos deberán considerarse como componentes esenciales en los intentos por disminuir el balance energético negativo, mediante la manipulación nutricional, ya sea incrementando la densidad energética de la ración o por el suministro de precursores glucogénicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Adina, A. *et al.*, 2012, "Regulation of the structure and activity of pyruvate carboxylase by acetyl CoA", en *Arch Biochem Biophys* 519(2): 118-130.
- Al, B. *et al.* 2010, "Expression and activity of key hepatic gluconeogenesis enzymes in response to increasing intravenous infusions of glucose in dairy cows", en *J Anim Sci* 88(9): 2998-3008.
- Aschenbach, R. *et al.*, 2010, "Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough", en *IUBMB Life* 62(12): 869-877.
- Banos, G. *et al.*, 2005, "Modeling daily energy balance of dairy cows in the first three lactations", en *J Dairy Sci* 88(6): 2226-2237.
- Bartlett, K. y S. Eaton, 2004, "Mitochondrial beta-oxidation", en *Eur J Biochem* 271(3): 462-469.
- Bauman, E. *et al.*, 2006, "Major advances associated with the biosynthesis of milk", en *J Dairy Sci* 89(4): 1235-1243.
- Bernabucci, U. *et al.*, 2004, "Abundance of mRNA of apolipoprotein b100, apolipoprotein e, and microsomal triglyceride transfer protein in liver from periparturient dairy cows", en *J Dairy Sci* 87(9): 2881-2888.
- Bobe, G. *et al.*, 2004, "Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows", en *J Dairy Sci* 87(10): 3105-3124.
- Bonnefont, P. *et al.*, 2004, "Carnitine palmitoyltransferases 1 and 2: biochemical, molecular and medical aspects", en *Mol Aspects Med* 25(5-6): 495-520.
- Brosnan, T., 1999, "Comments on metabolic needs for glucose and the role of gluconeogenesis", en *Eur J Clin Nutr* 53 Suppl 1: S107-111.
- Buttchereit, N. *et al.*, 2010, "Evaluation of five lactation curve models fitted for fat: protein ratio of milk and daily energy balance", en *J Dairy Sci* 93(4): 1702-1712.

- Doepel, L. *et al.*, 2009, "Differences in splanchnic metabolism between late gestation and early lactation dairy cows", en *J Dairy Sci* 92(7): 3233-3243.
- Dorland, A. van *et al.*, 2009, "Variation in hepatic regulation of metabolism during the dry period and in early lactation in dairy cows", en *J Dairy Sci* 92(5): 1924-1940.
- Duffield, F. *et al.*, 2009, "Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production", en *J Dairy Sci* 92(2): 571-580.
- Firkins, L. *et al.*, 2006, "Integration of ruminal metabolism in dairy cattle", en *J Dairy Sci* 89 Suppl 1: E31-51.
- Firkins, L. *et al.*, 2007, "Ruminal nitrogen metabolism: perspectives for integration of microbiology and nutrition for dairy", en *J Dairy Sci* 90 Suppl 1: E1-16.
- Goff, P., 2006, "Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health", en *J Dairy Sci* 89(4): 1292-1301.
- Harris, A. *et al.*, 2011, "DGAT enzymes are required for triacylglycerol synthesis and lipid droplets in adipocytes", en *J Lipid Res* 52(4): 657-667.
- Houten, M. y R. Wanders, 2010, "A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid beta-oxidation", en *J Inherit Metab Dis* 33(5): 469-477.
- Hristov, N. *et al.*, 2005, "Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cows", en *J Anim Sci* 83(2): 408-421.
- Kelton, F. *et al.*, 1998, "Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle", en *J Dairy Sci* 81(9): 2502-2509.
- Kiens, B., 2006, "Skeletal muscle lipid metabolism in exercise and insulin resistance", en *Physiol Rev* 86(1): 205-243.
- Larsen, M. y N. Kristensen, 2009, "Effect of abomasal glucose infusion on splanchnic amino acid metabolism in periparturient dairy cows", en *J Dairy Sci* 92(7): 3306-3318.
- LeBlanc, J., 2010, "Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period", en *J Reprod Dev* 56 (Suppl): S29-35.

- Li, X. *et al.*, 2012, "Effects of non-esterified fatty acids on the gluconeogenesis in bovine hepatocytes", en *Mol Cell Biochem* 359(1-2): 385-388.
- Martín, O. y D. Sauvant, 2007, "Dynamic model of the lactating dairy cow metabolism", en *Animal* 1(8): 1143-1166.
- Martín, C., 2005, "El uso de la caña de azúcar para la producción de carne y leche", en *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 39(Especial): 427-438.
- Mason, M., 1998, "The role of factors that regulate the synthesis and secretion of very-low-density lipoprotein by hepatocytes", en *Critical reviews in clinical laboratory sciences* 35(6): 461-487.
- Mulligan, F. *et al.*, 2006, "Production diseases of the transition cow: body condition score and energy balance", en *J Irish Veterinary* 59(9): 505-510.
- Nafikov, A. y D. Beitz, 2007, "Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals", en *J Nutr* 137(3): 702-705.
- Navarro, V. *et al.*, 2009, "Cholesterol metabolism: updated databases", en *Rev Española de Obesidad* 7(6): 360-384.
- Nielsen, S. y F. Karpe, 2012, "Determinants of VLDL-triglycerides production", en *Current opinion in lipidology* 23(4): 321-326.
- Oikawa, S. *et al.*, 2010, "Changes of very low-density lipoprotein concentration in hepatic blood from cows with fasting-induced hepatic lipodosis", en *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire* 74(4): 317-320.
- Ospina, A. *et al.*, 2010, "Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level", en *J Dairy Sci* 93(8): 3595-3601.
- Pershing, A. *et al.*, 2002, "Short communication: Hepatic gene expression for gluconeogenic enzymes in lactating dairy cows treated with bovine somatotropin", en *J Dairy Sci* 85(3): 504-506.
- Reddy, G. *et al.*, 2008, "Amyolytic bacterial lactic acid fermentation - a review", en *Biotechnol Adv* 26(1): 22-34.
- Rotger, A. *et al.*, 2005, "Changes in ruminal fermentation and protein degradation in growing Holstein heifers from 80 to 250 kg fed high-

- concentrate diets with different forage-to-concentrate ratios”, en *J Anim Sci* 83(7): 1616-1624.
- Sánchez, B., 2006, “Signaling pathways involved in the regulation of lipolysis in adipocytes”, en *REB* 25(3): 80-84.
- Sniffen, J. *et al.*, 1992, “A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability”, en *J Anim Sci* 70(11): 3562-3577.
- Sparks, E. y J. Sparks, 2010, “Lipid metabolism: insights into the complexity of VLDL metabolic pathways”, en *Current opinion in lipidology* 21(3): 280-281.
- Sutton, D. *et al.*, 2003, “Rates of production of acetate, propionate, and butyrate in the rumen of lactating dairy cows given normal and low-roughage diets”, en *J Dairy Sci* 86(11): 3620-3633.
- Taylor, C. y M. Allen, 2005, “Corn grain endosperm type and brown midrib 3 corn silage: site of digestion and ruminal digestion kinetics in lactating cows”, en *J Dairy Sci* 88(4): 1413-1424.
- Therond, P., 2009, “Catabolism of lipoproteins and metabolic syndrome”, en *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* 12(4): 366-371.
- Voelker, A. y M. Allen, 2003, “Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 2. Effects on digestion and ruminal digestion kinetics in lactating dairy cows”, en *J Dairy Sci* 86(11): 3553-3561.
- Woerle, J. *et al.*, 2003, “Pathways for glucose disposal after meal ingestion in humans”, en *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284(4): E716-725.
- Xu, C. *et al.*, 2010, “Decreased complete oxidation capacity of fatty acid in the liver of ketotic cows”, en *Asian-Australasian J Anim* 23(3): 312-317.
- Young, W., 1977, “Gluconeogenesis in cattle: significance and methodology”, en *J Dairy Sci* 60(1): 1-15.
- Zhao, Q. y A. Keating, 2007, “Expression and regulation of glucose transporters in the bovine mammary gland”, en *J Dairy Sci* 90 (Suppl 1): E76-86.

