



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

TOXEMIA DE LA GESTACIÓN OVINA.

**“Evaluación Del Ácido-2-metil-2-fenoxi-propiónico Como Alternativa
Terapéutica En El Tratamiento De La Toxemia De La Gestación
Ovina Clínica Y Subclínica”**

Dra. Stella Da Silva

**DMTV. PhD. Alejandro Benech
Nombre Director de Tesis**

**DMTV. PhD. Luis Cal Pereyra
Nombre Co-director de Tesis**

**AÑO
2014**



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

TOXEMIA DE LA GESTACIÓN OVINA.

**“Evaluación Del Ácido-2-metil-2-fenoxi-propiónico Como Alternativa
Terapéutica En El Tratamiento De La Toxemia De La Gestación
Ovina Clínica Y Subclínica”**

Dra. Stella Da Silva

TESIS DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL

**URUGUAY
2014**

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia por estar siempre a mi lado brindándome apoyo de forma constante.

Agradezco a los Dres. Luis Cal y Alejandro Benech por la amistad, la presencia constante, la paciencia y por las enseñanzas que me han dado a lo largo toda de mi carrera, no solo a nivel académico sino también formando parte de mi crecimiento personal.

Agradezco a los amigos que han formado parte de este proyecto: Andrea Martín y Ximena Infante que han hecho mucho más amenas las jornadas de trabajo.

Agradezco a todos los tesistas que han formado parte: Javier Fernandez, Sebastián Charamelo, Roberto Grau Stirling,

Agradezco al Dr. José Piaggio por la ayuda con el análisis estadístico y al Dr. Pedro Martino por el apoyo en los análisis clínicos.

Agradezco profundamente a todas las personas que no he nombrado pero han formado parte de este proyecto directa e indirectamente.

Dedico este trabajo a mis dos grandes amores: Emma y a su papá Renato.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.....	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	26
OBJETIVOS.....	27
ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN.....	28
MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
RESULTADOS EXPERIMENTO 1.....	34
DISCUSIÓN AÑO EXPERIMENTO 1.....	39
RESULTADOS EXPERIMENTO 2.....	41
DISCUSIÓN EXPERIMENTO 2.....	45
CONCLUSIONES.....	48
REFERENCIAS BLIOGRÁFICAS.....	49

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS:

	Página
GRÁFICO N°1. EVOLUCIÓN DE LAS GLUCEMIAS AÑO 1.....	35
GRÁFICO N° 2. EVOLUCIÓN DEL BOHB AÑO 1.....	36
GRÁFICO N° 3. EVOLUCIÓN DE LA AST AÑO 1.....	37
GRÁFICO N°5. EVOLUCIÓN DE LAS GLUCEMIAS AÑO 2.....	41
GRÁFICO N° 6. EVOLUCIÓN DEL BOHB AÑO 2.....	42
GRAFICO N° 7. EVOLUCIÓN DE LA AST AÑO 2.....	43
GRÁFICO N° 9. CURVA ROC PARA LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA AST CON RESPECTO AL GRADO DE EXTENSIÓN DE LA LIPIDOSIS HEPÁTICA.....	47
CUADRO N° I. DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL SEGÚN LA EXTENSIÓN GRASA. EXPERIMENTO 1.....	48
CUADRO N° II. DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL SEGÚN LA EXTENSIÓN GRASA. EXPERIMENTO 2.....	44

RESUMEN

La toxemia de la gestación es un trastorno metabólico que pueden padecer las ovejas especialmente en las últimas seis semanas de la preñez. Se produce por la incapacidad del organismo de mantener la homeostasis energética, al enfrentarse en esta etapa a un balance energético negativo. Existen diversos tratamientos para esta enfermedad con resultados variables. El objetivo de la Tesis es evaluar un estimulante de los Receptores Activadores del Proliferador de Peroxisomas alfa como alternativa terapéutica en la toxemia clínica y subclínica, para revertir el hígado graso y la alteración del metabolismo energético, para lo cual se realizaron dos experimentos consecutivos en dos años. Experimento 1: 36 ovejas Corriedale con toxemia de la gestación clínica, lograda con hasta 6 días de ayuno fueron divididas en tres grupos de tratamiento Grupo A: tratadas con 10mg/kg de ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico I/M c/24h durante 6 días; Grupo B: tratadas con 10mg/kg de ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico I/M c/24 horas + 100ml de glicerol-propilenglicol V/O c/12 horas durante 6 días y Grupo C: tratadas con 100ml de glicerol-propilenglicol V/O c/12 horas durante 6 días. Experimento 2 fueron utilizadas 48 ovejas Corriedale en la etapa subclínica de la enfermedad. Las mismas fueron divididas en cuatro grupos, el cuarto grupo (Grupo D) fue tratado con 10mg/kg de ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico I/M c/7 días desde el día 90 hasta el día 130 de la gestación, momento en el cual se comenzó con el ayuno en los 4 grupos hasta la aparición de la toxemia de la gestación subclínica. El Grupo D no recibió tratamiento luego del ayuno, mientras que los demás grupos recibieron el mismo que en el experimento 1. Fueron dosificados la glucemia y el BOHB de forma diaria durante los ayunos y el transcurso de los tratamientos, y a los 5 días posparto. Además se hicieron biopsias hepáticas para realizar el diagnóstico histopatológico de lipidosis hepática y dosificación de AST al día 130 de la gestación, al comienzo y fin de los tratamientos, y a los 5 días posparto. En el experimento 2 las muestras fueron tomadas en los mismos momentos, sumándose el día 90 de la gestación. En ambos experimentos ya al primer día de tratamiento hubo una recuperación de la glucemia en todos los grupos. Las concentraciones de BOHB también disminuyeron en todos los grupos postratamientos en ambos experimentos, siendo el Grupo B el que tuvo el descenso más notorio. Las concentraciones de AST no tuvieron diferencias significativas entre los grupos en todo el ensayo, produciéndose su disminución al final de los tratamientos en todos los grupos. La recuperación de la lipidosis hepática fue mayor en los grupos tratados con el ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico en los dos años del ensayo. Se concluye que el ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico se muestra como una alternativa eficaz para el tratamiento del hígado graso desarrollado en esta enfermedad, incluso en el Grupo D que luego de su administración semanal desde el día 90 de la gestación no recibió tratamiento para la toxemia subclínica. Esto demuestra su gran eficacia en poder revertir y prevenir la lipidosis hepática que genera ésta enfermedad.

SUMMARY

The pregnancy toxemia is a metabolic disease affecting pregnant ewes, specially in the last six weeks of gestation. In this situation, the organism is not able to maintain the homeostatic equilibrium, because of the negative energetic balance related to this physiological moment. There are numerous treatments for this disease with highly variable results. The aim of this thesis is to evaluate a stimulator of the peroxisome proliferator-activated receptor alfa (PPAR alfa) as an alternative treatment for the clinic and subclinic pregnancy toxemia, in order to revert the fatty liver and the alteration of the energy metabolism. Thirty-six Corriedale ewes with clinical toxemia produced by controlled fasting of up to six days, were used in the first year. Sheep were randomly divided in three groups (A, B and C) after the fasting and different treatments were established for each group. Group A: 10 mg/kg of acid-2-methyl-2-phenoxi-propionic IM c/ 24 hours for 6 days. Group B: 10 mg/kg of acid-2-methyl-2-phenoxi-propionic IM c/ 24hours + 100ml of gliceril-propilenglycol orally c/ 12 hours for 6 days. Group C: 100 ml of gliceril-propilenglycol orally c/ 12 hours for 6 days. Forty-eight Corriedale ewes with induced subclinical toxemia were used in the second year. They were divided into four groups; the fourth (Group D) was treated with 10 mg/kg of acid-2-methyl-2-phenoxi-propionic IM c/ 7 days from day 90 up to day 130 of the gestation, moment in which the fasting began in the four groups until subclinical toxemia appeared (blood glucose <2,0 mmol/L). Group D did not receive treatment after the fast, while the other groups received the same treatment as in the previous year. Blood glucose and BOHB were dosed during the fasting, the treatments and 5 days postpartum.

Liver biopsies were made for histopathological diagnosis of hepatic lipidosis, and the dosage of AST at day 130 of pregnancy, at the start and end of treatments and during the 5 days postpartum. In the second year, the samples were obtained at the same times, adding day 90 of gestation. Blood glucose concentration in all groups decreased during fasting and recovers since the first day of treatment in both years. BOHB concentrations also decreased in all groups after treatments in both years, Group B had the most marked decline. AST concentrations were not significantly different among the groups throughout the trial, and a decrease was observed after the treatments in all groups. The recovery of the hepatic lipidosis was higher in the groups treated with acid-2-methyl-2-phenoxi-propionic in both years. It is concluded that acid-2-methyl-2-phenoxi-propionic is an effective alternative for the treatment of the fatty liver developed in this disease, even in Group D that did not receive treatment for subclinical toxemia. This proves acid-2-methyl-2-phenoxi-propionic to be highly effective in reversing and attenuating hepatic lipidosis generated by clinical and subclinical pregnancy toxemia.

INTRODUCCIÓN

En nuestro país la ganadería y la agricultura han evolucionando históricamente gracias a su rica dotación ecológica, transformándose en los principales aportes de la economía nacional (Lapitz y col, 2004). La producción ovina durante décadas fue uno de los principales pilares de la economía uruguaya, actualmente es responsable del 20 % del producto bruto agropecuario y representa el 8,3 % de las exportaciones del Uruguay. Este sector está sustentado por aproximadamente 24.000 establecimientos agropecuarios que ocupan 11.8 millones de hectáreas (Salgado, 2004).

Según datos del Anuario Estadístico realizado por el INAC en el año 2010, el número de cabezas faenadas en total por todos los frigoríficos y en todas las categorías son 1.253.853.

Los precios de exportación y la faena de corderos crecen continuamente, con el resultado de que los ingresos totales por exportación de carne ovina son actualmente los más altos de la historia (INAC, 2013).

La producción ovina en nuestro país se realiza a campo natural y en sistemas de producción extensivos que se asocian frecuentemente con vacunos, conformando así sistemas de producción mixtos (Oficialdegui, 2004). La raza Corriedale es una de las más abundantes con un 65 % de individuos, siguiéndole las razas Merino Australiano, Ideal, Merilin y Romney Marsh (SUL, 2006).

Desde el año 2004 se están produciendo importantes cambios que representan nuevos desafíos para la producción ovina nacional. La ampliación de mercados y el aumento internacional de precios para lana y carne ovina vienen generando ventajosas perspectivas para el sector que se ve reflejado en una mayor rentabilidad (Cardelino, 2004; Salgado, 2004). Además nuestra producción agropecuaria tiene varias ventajas frente a otros países, como ser los sistemas de producción pastoriles extensivos donde no se utilizan hormonas y los animales presentan una excelente condición sanitaria. Esto constituye una excelente opción para los consumidores que jerarquizan la salud, la seguridad alimentaria y la sustentabilidad del medio ambiente (Montossi y col, 2005a; Montossi y col, 2004).

A pesar de todos los beneficios que el sector ovino brinda al país, este presenta varios problemas productivos que se han agravado en los últimos años. La baja eficiencia reproductiva y los elevados índices de mortandad ovina generan grandes restricciones productivas, ya que la población ovina es la base principal del potencial de producción de este sistema productivo. Cualquier paso hacia la recuperación en la producción tiene que generar cambios en estos índices, lo que permitirá además expresar el potencial de producción de lana y carne ovina (Salgado, 2004).

El stock ovino en el país ha venido experimentado una gran reducción, siendo una de sus causas los bajos índices de destete en los corderos. En 1991 habían 26 millones de cabezas que fueron disminuyendo hasta las 8,2

millones en 2013 (DIEA, 2013). Para aumentar el número de ovinos hay que tener muchos puntos en cuenta, los de mayor importancia son la obtención de un alto número de corderos destetados por ovejas encarneradas al igual que evitar la mortalidad de las madres, lo que constituye uno de los objetivos básicos de toda explotación ovina. Una de las principales causas de muerte de ovejas en nuestro país es la toxemia de la Gestación (Cal Pereyra y col, 2012; Cal Pereyra, 2007).

La toxemia de la gestación es un trastorno metabólico que afecta a las ovejas preñadas especialmente en las últimas seis semanas de gestación. Se produce como consecuencia de la incapacidad del organismo para mantener la homeostasis energética al enfrentarse en esta etapa a un balance energético negativo (Harmeyer y Schlumbohm, 2006; González Montaña, 2003; West, 1996; González Montaña y Rejas López, 1995; Sargison y col, 1994; Bonino y col, 1987). Si bien en otros países se la describe como una enfermedad asociada con gestaciones de dos o más corderos (Van Saun, 2000; Henze y col, 1998; Andrews, 1997; West, 1996; Scot, 1995; Sargison y col, 1994; Ford y col, 1990; Marteniuk y Herdt, 1988; East, 1983) en Uruguay ésta patología se puede presentar en ovejas con gestaciones simples, principalmente en inviernos rigurosos con grandes carencias nutricionales, provocando importantes pérdidas (Bonino y col, 1987).

Por la importancia de esta patología es de interés mantener una investigación que este dirigida a evitar la mortalidad de las madres, tomando las medidas necesarias para la prevención y/o tratamiento precoz de la toxemia de la gestación ovina.

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

a) METABOLISMO ENERGÉTICO EN LOS RUMIANTES

El 70 % de los requerimientos energéticos de los rumiantes son aportados por los ácidos grasos volátiles (AGV) ya que la digestión microbiana precede al duodeno y por lo tanto la absorción de glucosa de origen alimentario es muy baja, representando solo del 15 al 30 % de la utilizada por el animal. Sólo cuando el rumiante recibe una ración rica en granos, una fracción del almidón rápidamente soluble escapa a la degradación ruminal y llega al intestino, aumentando la proporción de glucosa absorbida. A pesar de las bajas concentraciones de glucosa que pueden ser absorbidas, las necesidades de glucosa en el rumiante son similares a la de los monogástricos, ya que es uno de los nutrientes de mayor importancia. La glucosa es el principal sustrato energético del cerebro, es esencial para la síntesis de triglicéridos (TAG), sirve de aporte energético para el feto, la contracción muscular y la síntesis de lactosa en la glándula mamaria (Diez Prieto y col, 1998; Benedito Castellote, 1986; Pell y Bergman, 1983; Lindsay y Setchell, 1976; Bergman, 1973). El rumiante obtiene la mayor parte de la glucosa por medio de la neoglucogénesis (NG) o síntesis de glucosa a partir de no hexosas, siendo esta vía en definitiva la que determina el valor de la glucemia (Cirio y Tebot, 2000; Chilliard, 1987; Bonino y Col, 1987; Baird y col, 1983).

Los carbohidratos, los aminoácidos y las grasas forman las reservas energéticas del organismo. Cuando los aportes superan los requerimientos el exceso de energía se acumula como grasa. En cambio cuando las demandas energéticas superan a la ingerida por el animal, se produce la movilización y consumo de las reservas grasas causando una disminución del peso corporal (Borrelli, 2001).

La neoglucogénesis (NG) en el rumiante

El 90 % de NG en el rumiante se realiza en el hígado de forma continua, el 10 % restante en el riñón (Cirio y Tebot, 2000; Ndi bualonji y Godeau, 1993)

El principal precursor en condiciones fisiológicas para la síntesis de glucosa es el ácido propiónico proveniente de la fermentación ruminal. Con menor importancia interviene el lactato, los aminoácidos glucoformadores y el glicerol (García Partida, 1976).

El lactato se produce por la fermentación ruminal fundamentalmente de la alimentación rica en granos que contienen altas cantidades de carbohidratos solubles y altamente fermentables (Chandler y col, 1985), pero la principal fuente es el metabolismo anaerobio en los tejidos (Evans y Duncan 2003). En el hígado diariamente a partir de este precursor se sintetiza del 5 al 15% de la glucosa y en el riñón alrededor del 10% (Relling y Mattioli, 2003). Los aminoácidos provienen de la alimentación y del

metabolismo. El glicerol se origina a consecuencia de la lipólisis que se produce en el adipocito (Cirio y Tebot, 2000; Demigné y col, 1988).

El propionato con una buena alimentación proporciona entre un 50 a 70 % de la glucosa que se genera por medio de la NG (Ndi bualonji y Godeau, 1993). Una de las enzimas clave de la NG es la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) que tiene una doble localización: citosólica y mitocondrial. La NG a partir del propionato en rumiantes utiliza la PEPCK intramitocondrial que no responde a la estimulación hormonal, esto permite que el proceso sea más eficiente.

La NG en los rumiantes está regulada por tres factores principales. El más importante es la ingestión de alimentos que depende de la alimentación del animal (Baird y col, 1983). Tras la ingesta de alimentos la NG hepática es más importante, disminuyendo en los periodos posprandiales ya que no están disponibles los precursores (Cirio y Tebot, 2000).

El segundo factor implicado en la regulación de la NG son las hormonas (Demigné y col, 1988). La insulina es la principal hormona involucrada en el metabolismo de la glucosa (Bines y Hart, 1982), tiene la particularidad de que es la única hormona que tiene efecto hipoglucemiante ya que disminuye la NG hepática y facilita el ingreso de glucosa a las células. En los monogástricos el pico de insulina se produce luego de la ingesta de alimentos, privilegiando la utilización de la glucosa de origen alimentario y frenando claramente la NG. En los rumiantes el aumento de la insulinemia se produce durante y después de la ingestión de alimentos, pero la glucemia no parece variar sustancialmente (Brokman, 1990). Manns (1972) comprobó que la llegada masiva a la circulación portal de AGV, fundamentalmente del ácido propiónico, constituye una señal para la secreción de insulina en el período postprandial. Este aumento de la insulinemia no afecta la NG a partir del propionato, permitiendo de esta manera que se privilegie la utilización de este sustrato en detrimento de los demás cuando la insulina esta elevada (Brokman, 1990), además estimula la síntesis proteica a nivel muscular, la lipogénesis y la utilización periférica de la glucosa preformada por NG a partir del propionato (Cirio y Tebot, 2000).

Durante el ayuno, la insulina es capaz de reducir hasta un 50 % la NG, disminuyendo la eficiencia del hepatocito para extraer algunos compuestos glucogénicos como el lactato, el glicerol, la alanina y la glutamina. La insulinemia puede ser afectada por varios factores como el tipo de dieta (Catalano y col, 1995) o la condición corporal (McCann y col, 1986). Las ovejas gordas poseen valores medios más altos de insulina en sangre que las flacas, esto es debido a que en las primeras existe una insulino-resistencia, lo que lleva a una hiperinsulinemia basal con concentraciones de glucosa normales (McCann y col, 1986). La resistencia a la insulina que se observa también en las ovejas con gestación avanzada, por una reducción en la sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos, es debido a que se producen alteraciones en el número de receptores para la insulina (Recabarren, 2000; Petterson, 1993), fundamentalmente en el tejido muscular y el tejido adiposo (Petterson y col, 1993). La insulina tiene

además un efecto anticetogénico ya que disminuye la lipólisis (Demigné y col, 1988; Chilliard, 1987).

El glucagón estimula la NG a partir del propionato y de aminoácidos estimulando una enzima clave de la NG la piruvato carboxilasa y otras enzimas lipolíticas (Brokman, 1990). Cuando se producen carencias energéticas o largas exposiciones al frío la relación insulina:glucagón disminuye (Symonds y col, 1988), generando la disminución de la utilización periférica de glucosa en los tejidos y órganos involucrados en la producción. Además la NG hepática es máxima pero a partir de precursores diferentes del propionato (Cirio y Tebot, 2000; Unger, 1972).

La hormona de crecimiento o somatotrofina (GH) en los rumiantes aumenta la eficiencia de conversión del propionato a glucosa en el hígado, lo cual es más evidente en los períodos de carencia energética. Cuando la disponibilidad del alimento se vuelve una limitante como en el ayuno, los niveles plasmáticos de GH aumentan (Cirio y Tebot, 2000).

Los glucocorticoides estimulan el catabolismo adiposo y muscular. Este último produce la liberación de aminoácidos que quedan disponibles para la producción de glucosa por el hígado. Además facilitan la captación hepática de aminoácidos circulantes y la síntesis de glucógeno. Lo mencionado anteriormente sumado a la disminución de la captación periférica de glucosa, genera el aumento de la glucemia. Estas hormonas aumentan además la actividad de enzimas como la piruvato carboxilasa, la PEPCK y la glucosa-6-fosfatasa, lo que tiene un efecto directo sobre la NG. Durante el ayuno se produce un aumento significativo de los glucocorticoides (De Nicola, 1985).

El tercer factor que tiene efecto en la regulación de la NG es el estado fisiológico del animal. Cuando se producen estados de alta demanda energética como en la lactación y la gestación la NG está aumentada. En esos momentos existen altos requerimientos de glucosa y una gran lipomovilización (Gibbons, 1996; Herdt y Emery, 1992; East, 1983).

Metabolismo lipídico

El tejido adiposo está formado por células llamadas adipocitos que contienen altas concentraciones de TAG. Cada molécula de TAG está constituida por tres ácidos grasos de cadena larga esterificados a una molécula de glicerol activado bajo forma de alfa-glicerofosfato (α -GP) (Cirio y Tebot, 2000). En este tejido se producen dos grandes procesos: producción y depósito de las grasas como reserva (lipogénesis) y liberación de esas reservas almacenadas (lipólisis). La lipólisis se produce como consecuencia de la degradación de los TAG a ácidos grasos no esterificados (AGNE) y glicerol por la acción de una enzima, la lipasa hormono-sensible para triacilglicéridos (LHS) ubicada en el tejido adiposo. Los AGNE liberados son transportados unidos a albúminas específicas hacia el hígado al igual que el glicerol (Contreras, 1998). Aquí, este último es transformado en α -GP y puede servir para la síntesis de glucosa o para la resíntesis de TAG (esterificación) (Cirio y Tebot, 2000; Chilliard, 1987).

Los AGNE son captados por el hepatocito y transformados en acil-CoA en su citosol. El acil-CoA puede ser utilizado para la resíntesis de TAG (esterificación) o para la producción de energía mediante la β -oxidación. La β -oxidación se produce en el interior de la mitocondria de los hepatocitos y en los peroxisomas. Los peroxisomas son organelos citoplasmáticos que se encuentran en las células eucariotas. Tienen forma de vesículas que contienen enzimas en su mayoría vinculadas al metabolismo de lípidos, como ser enzimas de la β -oxidación de ácidos grasos (Osmunsen y col, 1991). Un 25% de los ácidos grasos son degradados en los peroxisomas y el resto en las mitocondrias (Wierzbicki, 2007; Latruffe y col, 2001).

La β -oxidación es un proceso metabólico que se produce en el hígado, músculo y tejido adiposo pardo (Cirio y Tebot, 2000), en el cual se lleva el acil-CoA hasta acetil-CoA con la finalidad principal de ser utilizado en el ciclo de Krebs colaborando con la formación de energía, en caso contrario es un generador de cuerpos cetónicos (Contreras, 1998; Chilliard, 1987; Michaux y col, 1981). El acil-CoA una vez producido en el citosol del hepatocito debe ingresar a la mitocondria, para lo cual necesita ser transportado por el sistema carnitina aciltransferasa.

El acetil-CoA dentro de la mitocondria puede seguir dos caminos. Por un lado puede ingresar al ciclo de Krebs mediante su unión con el oxalacetato (OAA) por medio de la enzima citrato sintetasa. Dentro de este ciclo su oxidación será total hasta la producción de CO_2 y H_2O , con la consiguiente producción de energía. El ingreso al ciclo de Krebs solo se produce cuando la degradación de los lípidos y de los carbohidratos está en equilibrio, cuando disminuyen las concentraciones de OAA por utilización de este para la NG, el acetil-CoA no pueden ingresar al ciclo de Krebs y tiene que tomar el segundo camino hacia la producción de cuerpos cetónicos (Cirio y Tebot, 2000; Contreras, 1998; Michaux y col, 1981).

Cuando se produce un exceso en la movilización de los lípidos, estos cuando ingresan al hepatocito no son oxidados, sino que son reesterificándose nuevamente a TAG (Herdt, 1988a). La reesterificación de los AGNE se hace con el alfa glicerofosfato (α -GP) proveniente de la vía glicolítica y del glicerol captado. En condiciones fisiológicas la cantidad de TAG que se acumulan en el hepatocito no son muchas y se conservan como reserva para ser utilizados como fuente de energía. Para ser utilizados como fuente de energía los TAG deben ser incorporados a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) que son sintetizadas fundamentalmente en el hígado, que los transporta mediante la sangre hacia los tejidos. Cuando la reesterificación hepática es muy abundante puede generar esteatosis (Contreras, 1998; Herdt, 1988a; Chilliard, 1987).

Cuerpos cetónicos

A la producción de cuerpo cetónicos se la denomina cetogénesis, estos incluyen al ácido acetoacético, ácido β -hidroxibutírico (BOHB), acetona y en menor cantidad el isopropanol, siendo derivados hidrosolubles de los ácidos

grasos (Diez Prieto y col, 1998). El BOHB es el principal cuerpo cetónico en ovejas, representando el 70 al 90% del total (Brockman y Laarveld, 1985).

Estos son intermediarios normales del metabolismo celular constituyendo un importante substrato energético, ya que proveen acetyl-CoA al ser degradados (Michaux y col, 1981). Varios tejidos como corazón, músculo esquelético, riñones, tejidos uterinos no fetales y glándula mamaria pueden obtener energía mediante la oxidación de estos cuerpos cetónicos (Heitmann y col, 1987; Michaux y col, 1981). La utilización de los cuerpos cetónicos como fuente de energía permite el ahorro de glucosa y la mantención de la glucemia, pero estos no pueden sustituir a la glucosa en la síntesis de lactosa o en el aporte de energía al feto, ya que el cerebro y los tejidos fetales no son capaces de utilizar los cuerpos cetónicos como fuente de energía (Heitmann y col, 1987; Bergman, 1971).

En los rumiantes la cetogénesis se produce en dos lugares: la pared del rumen y el hígado. En la pared del rumen la misma se produce durante la absorción del ácido butírico, ya que una proporción de este AGV se transforma en BOHB. La cantidad de BOHB formado a partir del ácido butírico depende de la cantidad que se produzca de este AGV, que a su vez depende del tipo de alimentación. En el hígado la cetogénesis se realiza a partir del acetyl-CoA y como se menciono anteriormente depende de la magnitud de la lipomovilización (Cirio y Tebot, 2000, Michaux y col, 1981).

El acetyl-CoA puede ser generado por la degradación del ácido pirúvico, por la degradación de ciertos aminoácidos llamados cetoformadores o cetogénicos y como producto del catabolismo de los AGNE y de los AGV (acetato y butirato) (Michaux y col, 1981).

En ovejas con balance energético positivo la mayor producción de cuerpos cetónicos tiene lugar en la pared ruminal. La producción de estos en el hígado se ve incrementada en el último tercio de la gestación y a principios de la lactación. En estas condiciones o cuando el animal se encuentra en un balance energético negativo la principal fuente de cuerpos cetónicos es a partir de los AGNE que se producen por la extensa lipomovilización. En esta situación el hígado pasa a ser el principal productor de cuerpos cetónico (Harmeyer y Schlumbohm, 2006).

En el interior de la mitocondria o de los peroxisomas, dos moléculas de acetyl-CoA por acción de la enzima β -cetotiosa se condensan formando acetoacetyl-CoA. El acetoacetyl-CoA incorpora una tercera molécula de acetyl-CoA formando un compuesto intermedio. Este último libera posteriormente el último acetyl-CoA incorporado originando acetoacetato. La acetona se forma por descarboxilación, el BHOB por reducción del acetoacetato, mientras que el isopropanol es formado por oxidación de la acetona (Diez Prieto y col, 1998; Michaux y col, 1981).

Una pequeña fracción de cuerpos cetónicos se producen en el hígado a partir de aminoácidos cetoformadores como el triptófano, la lisina, la fenilalanina, la tirosina y la leucina (Michaux y col, 1981). Estos aminoácidos

se movilizan en el primer día de de ayuno (Ndi bualonji y Godeau, 1993), siendo está vía de muy poca importancia (Demigné y col, 1988).

La síntesis de cuerpos cetónicos está bajo la regulación metabólica y hormonal. La regulación metabólica de mayor importancia se produce por el equilibrio entre los metabolitos relacionados con el acetil-CoA. Las sustancias glucoformadoras como la glucosa, el glicerol, el propionato y el ácido glutámico inhiben la formación de cuerpos cetónicos, ya que facilitan la utilización del acetil-CoA. Otro factor metabólico de gran importancia es la disponibilidad de AGNE, su libre entrada al hepatocito se relaciona con la cantidad de cuerpos cetónicos sintetizados.

La regulación hormonal es indirecta, la insulina tiene una acción anticetogénica disminuyendo la lipólisis y aumentando la utilización de glucosa (Brockman y Laarveld, 1985), esto facilita la utilización del acetil-CoA en el ciclo de Krebs. A su vez los cuerpos cetónicos, parecen estimular la secreción de insulina (Heitmann y col, 1986). El glucagón estimula el ingreso de ácidos grasos al interior de la mitocondria del hepatocito, cuando la relación insulina:glucagón es baja se promueve la movilización lipídica y la cetogénesis (Herdt y Emery, 1992). Existen otras hormonas como la adenocorticotrofina (ACTH), los glucocorticoides, la GH y las catecolaminas que poseen un efecto cetogénico, ya que aumentan la lipólisis que produce un aumento de los AGNE (Cirio y Tebot, 2000; Michaux y col, 1981).

La Cetogénesis y la NG usualmente se complementan, ambas se estimulan por el ingreso de ácidos grasos a la mitocondria del hepatocito. Esto se acompaña de una alta concentración de acetil-CoA en estas mitocondrias (Herdt y Emery, 1992).

Los cuerpos cetónicos pueden ser eliminados por diferentes vías, ya que son moléculas pequeñas, solubles, volátiles y muy difusibles. Una de las vías de eliminación es la pulmonar, lo que explica el olor a acetona del aliento de los animales que sufren toxemia de la gestación. También se expulsan por la leche y la orina, donde pequeñas cantidades son normales (Cirio y Tebot, 2000; Michaux y col, 1981). Los cuerpos cetónicos son eliminados por la orina en forma ionizada promoviendo además la eliminación de algunos cationes como el Na^+ , K^+ y Ca^{++} . Esto provoca pérdida electrolítica, deshidratación y puede ayudar a la hipocalcemia.

Cuando la tasa de producción de cuerpos cetónicos es muy alta y estos se empiezan a acumular en el plasma, actúan como ácidos fuertes ($\text{pK} \approx 4$) generando una acidosis metabólica. Cuando aumentan las concentraciones del acetoacetato este comienza a tener un efecto directo sobre el cerebro, disminuyendo su consumo de O_2 (Michaux y col, 1981).

b) METABOLISMO ENERGÉTICO DE LA OVEJA GESTANTE

Los requerimientos energéticos varían en los animales según su estado fisiológico, los cuales son máximos durante la gestación y la lactación (Gibbons, 1996; Orcasberro, 1985). En la oveja esto se ve agudizado en los últimos 60 días de la gestación, ya que en este momento es cuando el feto gana el 85% del peso al nacer (Robinson, 1996; Russel, 1984; East, 1983). El crecimiento y desarrollo de los tejidos fetales necesitan más nutrientes por unidad de peso ganado que el animal adulto (Gibbons, 1996), esto genera que exista una estrecha relación entre la nutrición de la oveja gestante y el peso del cordero al nacimiento (Osgerby y col, 2002). El pasaje de los nutrientes al feto y por ende del peso del cordero al parto depende directamente de la placenta (Montossi y col, 2005b). Esta comienza su desarrollo en forma exponencial desde el día 30 de la gestación alcanzando un pico al día 90, donde su tamaño se estabiliza (Geenty K. G, 1997).

En las ovejas con subnutrición en el último tercio de la gestación la masa placentaria puede verse disminuida lo que podría generar una disminución en la concentración de glucosa amniótica y alantoidea que podría afectar el desarrollo fetal (Osgerby y col, 2002). El grado de afectación que la subnutrición pueda tener sobre el peso al nacimiento de los corderos depende de la gravedad y duración de la misma, así como también de la condición corporal de las madres al inicio de la gestación (McMullen y col, 2005). Gibbons (1996) menciona que la subnutrición afecta más el peso de la madre que el fetal, lo que demuestra la gran habilidad materna para mantener los aportes nutricionales al feto a expensas de sus propias reservas corporales.

A finales de la gestación las pérdidas de glucosa son muy importantes debido a la alta producción de lactosa por la glándula mamaria y el gran desvío de glucosa y lactato hacia el feto (Harmeyer y Schlumbohm, 2006; Chilliard y col, 2000). Sumado a esto también se presenta una alta demanda de proteínas que puede generar un estrés adicional en el metabolismo. En este período la unidad feto-placentaria puede llegar a demandar hasta un 72% de los aminoácidos disponibles y un 45% de la glucosa materna (Bell, 1995), correspondiendo aproximadamente con 32 g diarios de glucosa (Robinson, 1996; Russel, 1984; Payne, 1977). Cuando la gestación es múltiple aumenta considerablemente esta demanda de energía (Harmeyer y Schlumbohm, 2006; Rook, 2000). El mantener estos altos requerimientos energéticos está limitado en las ovejas a finales de la gestación, ya que la ingesta se ve reducida en este período (Bertics y col, 1992) debido al gran tamaño que adquiere el útero limitando la capacidad física del rumen (Robinson, 1973; Trucher, 1974). Esta alta demanda de glucosa debe ser mantenida casi exclusivamente por medio de la NG hepática.

Los aminoácidos que provienen de la dieta son poco importantes para la síntesis de glucosa, sin embargo los provenientes del músculo esquelético aportan aminoácidos que son utilizados como precursores para la síntesis de glucosa vía NG (Rodríguez y col 1985), pero este aporte es muy escaso y no alcanza para restaurar el balance energético negativo (Contreras, 1998).

Para cubrir las altas demandas de este estado fisiológico el animal debe adaptar su metabolismo. Se produce una gran movilización de las reservas corporales y un cambio en la utilización de algunos sustratos. Los principales tejidos involucrados son el adiposo y hepático, los cuales son de vital importancia para cumplir con los altos requerimientos energéticos. En la mayoría de los animales estos altos requerimientos pueden ser correctamente satisfechos ya que existe un sistema homeostático que permite mantener la energía y el correcto suministro de carbohidratos (Herdt y Emery, 1992).

El menor consumo de alimentos durante las últimas semanas de gestación se relaciona con el aumento de la concentración de los NEFA (Bertics y col, 1992). Por lo tanto la concentración plasmática de los NEFA puede ser un buen indicador del estado energético de las madres al igual que la concentración de los cuerpos cetónicos (McMullen, 2005; Rhind, 2004; Russel, 1984). Si bien la concentración plasmática de NEFA puede ser un indicador muy sensible del grado de subnutrición a principios y mitad de la gestación, este es útil siempre y cuando el grado de la misma no sea excesivo y no se prolongue por mucho tiempo (Gibbons, 1996).

El equilibrio entre el grado de lipomovilización y la capacidad de utilización de los cuerpos cetónicos se ve reflejado en los valores plasmáticos de BHOB (Gibbons, 1996). Existe una escala realizada por Russel y col (1977) en la cual se determina el grado de subnutrición en ovejas de acuerdo a los valores de BHOB en sangre, estableciendo los siguientes rangos: valor adecuado de nutrición ($<0,7$ mmol/L), subnutrición moderada ($0,71 - 1,6$ mmol/L) y subnutrición severa ($>1,6$ mmol/L).

El aumento en la concentración plasmática de los cuerpos cetónicos puede inhibir la movilización de las proteínas musculares, esto es de importancia en el animal en ayuno (Contreras, 1998), donde en las primeras 24 horas es donde se produce la movilización de las proteínas endógenas (Ndi bualonji y Godeau, 1993). Sin embargo los rumiantes en gestación y lactación, y los que están en ayuno de más de 24 horas, debido a sus altos requerimientos energéticos son menos eficientes en conservar la proteína endógena (Herdt, 1988b).

Los cuerpos cetónicos y la glucosa suprimen la liberación de ácidos grasos desde el tejido adiposo en un sistema de retroalimentación negativo (Harmeyer y Schlumbohm, 2006; Herdt y Emery, 1992). Además el aumento en la concentración de los cuerpos cetónicos disminuye el ingreso de ácidos grasos al hígado, disminuyendo en forma indirecta su propia síntesis (Heitmann y Fernández, 1986).

c) TOXEMIA DE LA GESTACIÓN

Además de la oveja, esta enfermedad metabólica se presenta en varias especies de hembras rumiantes con gestación avanzada tales como la cabra y la cierva (Harmeyer y Schlumbohm, 2006; Rook, 2000; González Montaña y Rejas López, 1995; Sotillo Mesanza, 1992; Ortolani y Benesi, 1989; Marteniuk y Herdt, 1988) y muy raramente en la vaca (Rook, 2000).

La causa para la aparición de la toxemia de la gestación es la alteración en el metabolismo energético. Esta patología podría definirse como una forma severa de cetosis, caracterizada por la disminución de la glucemia y el aumento de los cuerpos cetónicos (Rook, 2000; Andrews, 1997; Bonino y col, 1987).

El ingreso de glucosa al feto es independiente de las concentraciones de insulina (Marteniuk y Herdt, 1988; Koenig y Contreras, 1984), por lo tanto aunque la glucemia materna disminuya, la glucosa no deja de pasar hacia el feto asegurando su provisión de energía y su supervivencia a corto plazo (Hay y col, 1983), a expensas de la homeostasis de la glucosa materna (Rook, 2000).

En el último tercio de la gestación el feto aumenta sus requerimientos energéticos sobre los de mantenimiento en aproximadamente un 150 % en ovejas con una gestación simple y hasta 200 % en ovejas gestando mellizos (Rook, 2000). Sigurdsson (1988b) menciona que cualquier alteración en los mecanismos que participan en la homeostasis de la glucosa pueden desencadenar en toxemia de la gestación en ovejas que se encuentren en este periodo. Sin embargo esto no explica por qué animales que presentan bajas glucemias a fines de la gestación no desarrollan la enfermedad (Rook, 2000).

La incapacidad para mantener la glucemia dentro de los valores fisiológicos no ha sido explicada completamente, algunos autores mencionan que existe una falla en la redistribución de la glucosa desde la sangre hacia el espacio intracelular (Pettersson y col, 1993; Sigurdsson 1988a; Sigurdsson 1988b; Wastney y col, 1982). Otros plantean que se produce una supresión de la NG por el excesivo aumento de los cuerpos cetónicos en sangre (Harmeyer y Schlumbohm, 2006).

Cuando el aporte de nutrientes es adecuado, la síntesis de glucosa en las ovejas preñadas frecuentemente alcanza para satisfacer las necesidades maternas y fetales de la gestación. Sin embargo cuando se produce subnutrición la glucemia materna tiende a disminuir, la gravedad de esta hipoglucemia es directamente proporcional al número de fetos (Marteniuk y Herdt, 1988; Sigurdsson, 1988c). En este último caso la mantención de la glucemia dentro de rangos fisiológicos depende casi exclusivamente de la NG hepática, que si no se logra cumplir, lleva a un balance energético negativo (Herdt y Emery, 1992). En estos animales se produce una adaptación de metabolismo con la consiguiente movilización de las reservas corporales y cambios en el uso de algunos sustratos. Cuando los

mecanismos de regulación de la homeostasis energética fallan, los valores de la glucosa sanguínea no pueden ser mantenidos y se produce un aumento en la concentración plasmática de cuerpos cetónicos (Herdt y Emery, 1992; Sigurdsson, 1988b), como consecuencia de una excesiva producción, o disminución en su tasa de utilización (Herdt y Emery, 1992).

La hipercetonemia que frecuentemente acompaña la hipoglucemia en el último tercio de la gestación disminuye la NG hepática en un 30% favoreciendo la presentación de la enfermedad (Schlumbohm y Harmeyer, 2004). De esta manera se genera un ciclo de retroalimentación negativa dando lugar a hipoglucemia acompañada de un rápido incremento de los cuerpos cetónicos en sangre (Herdt y Emery, 1992). Para poder mantener la glucemia y el aporte de glucosa a los tejidos periféricos se produce el desvío de OAA y sus precursores (propionato) a la síntesis de glucosa, agotando de esta manera la disponibilidad de OAA (González Montaña y Rejas López, 1995; Bonino y col, 1987).

En respuesta a la hipoglucemia se produce la liberación de glucocorticoides que estimulan la NG a partir del catabolismo del tejido adiposo y de las proteínas (Bonino y col, 1987). El tejido adiposo es movilizado en forma de NEFA y glicerol.

Cuando se produce un exceso en la producción de acetyl-CoA por la gran lipomovilización y estas no pueden ingresar al ciclo de Krebs por falta de OAA, son el origen del gran aumento de los cuerpos cetónicos (Cirio y Tebot, 2000; Contreras, 1998; González Montaña y Rejas López, 1995; Bonino y col, 1987; Michaux y col, 1981). Como la β -oxidación también se ve saturada por la gran llegada de NEFA al hepatocito estos no se oxidan y vuelven a formar TAG dentro del hepatocito (Herdt, 1988a). Los TAG para ser exportados por el hígado deben ser incorporados en macromolécula llamadas lipoproteínas (LP), de lo contrario comienzan a acumularse en el hepatocito, siendo el origen de la lipodosis hepática (Burt, 2001; Herdt y Emery, 1992; Herdt, 1988a; Koenig y Contreras, 1984; Reid, 1980).

El hígado graso siempre acompaña a la cetosis ya que estos dos procesos parecen ser punto de encuentro de una variada gama de enfermedades asociadas con el metabolismo energético. La lipodosis hepática es producida por un desbalance entre el ingreso y egreso de los AGNE en este órgano, ya que los AGNE que se acumulan en el hepatocito provienen de la movilización de las reservas del tejido adiposo, pues en los rumiantes adultos no existe síntesis hepática de ácidos grasos. Como se menciono anteriormente una vez que los AGNE llegan al hígado pueden tomar dos vías, la oxidación o la esterificación. Los triglicéridos reesterificados en el hígado para ser exportados hacia otros tejidos deben ser incorporados en LP, en caso contrario estos son almacenados en el hepatocitos bajo forma de gotas de grasa, lo que conduce al hígado graso (Burt, 2001; Herdt y Emery, 1992; Herdt, 1988a).

Las LP son partículas esféricas con un núcleo de lípidos neutros los cuales están compuestos por TAG y esteres de colesterol. Su superficie

contiene proteínas específicas denominadas apoproteínas, las cuales se asocian con colesterol y fosfolípidos. Estas moléculas se encargan del transporte de los lípidos así como de su liberación en los tejidos (Coppo y col, 2003). Existen diferentes tipos de LP clasificadas en base a su densidad por ultracentrifugación: quilomicrones (Q), LP de muy baja densidad (VLDL), LP de baja densidad (LDL), LP de densidad intermedia (IDL) y LP de alta densidad (HDL). Las IDL y VLDL son muy escasas en los rumiantes adultos (Pasquini y col, 2008; Coppo y col 2006). Las VLDL y los Q son las principales LP responsables del transporte de AGNE para su almacenamiento en los tejidos de reserva, la síntesis de grasa láctea y la oxidación. Los quilomicrones y VLDL pueden ser de origen hepático e intestinal (Bauchart, 1993). La síntesis de VLDL es regulada por la disponibilidad de ácidos grasos (Burt, 2001).

Cuando la llegada de AGNE al hígado es muy abundante como sucede durante una importante lipomovilización, las posibilidades de transporte de los TAG reesterificados en el hepatocito se ve disminuida a consecuencia de una disminución de la síntesis hepática de VLDL. Esta disminución puede ser a consecuencia de dos factores, por un lado una menor tasa de ensamblado de las VLDL en el hígado de los rumiantes en comparación con otras especies, lo cual puede generar que cualquier aumento importante en la síntesis de TAG supere la capacidad del hepatocito para exportarlos con las VLDL. El segundo factor es la baja disponibilidad de aminoácidos para la síntesis de apoproteínas indispensables para el montaje de las VLDL (Burt, 2001; Cirio y Tebot, 2000).

La exportación de triglicéridos por el hígado es aproximadamente un 60% mayor en ovejas gestantes o lactantes que en ovejas vacías, pero representa tan solo el 2% de la captación de AGNE. La oxidación de los AGNE supone aproximadamente el 12% (Emery y col, 1992). La menor capacidad de producción y secreción de VLDL favorece la acumulación de triglicéridos en los hepatocitos generando el "hígado graso" o esteatosis hepática. Esta frecuentemente se observa como un proceso difuso y produce una marcada hepatomegalia. El hígado con esta afección posee una coloración amarillo pálido debido al exceso de acumulación de carotenos, además de una consistencia grasa (Burt, 2001).

En un corte histológico se observa la presencia de gotas de grasa en el citoplasma de los hepatocitos (Burt y col, 1998). Esta acumulación puede ser de dos tipos: macrovesicular (una gran gota) y microvesicular (pequeñas gotas). El primer tipo desplaza totalmente al núcleo, es la forma más frecuente de esteatosis y generalmente se acompaña de otras lesiones en el hígado como degeneración, formación de cuerpos de Mallory, inflamación y fibrosis. Existe controversia sobre la disposición de las gotas de grasa en el hígado con este tipo de esteatosis. Macsween y Burt (1986) menciona que este tipo de esteatosis no tiene una distribución específica, sin embargo Burt (2001) afirma que comienza en la zona pericentrolobulillar, avanzando hasta afectar al resto del acino. Este tipo de esteatosis se encuentra en aproximadamente el 80 % de los pacientes humanos con diabetes tipo 2 (Burt, 2001).

En la esteatosis de tipo micovesicular los lípidos se ubican en el hepatocito en forma de pequeñas gotitas de grasa distribuidas en todo el citoplasma que no desplazan al núcleo. Este tipo de lesión no es fácilmente identificable en los procesos de rutina (Burt, 2001), puede ser causada por múltiples factores, pero el más conocido es el hígado graso agudo de la gestación en la mujer. La principal causa de este tipo de esteatosis es la disminución de la β -oxidación mitocondrial (Fromenty y col, 1977).

Algunos autores afirman que un factor determinante para la presentación de la enfermedad es la funcionalidad hepática, cuando existe alguna alteración en la funcionalidad del hígado este no es capaz de producir una correcta NG, esto es de gran importancia ya que el hígado es el principal órgano encargado de la síntesis de glucosa y regula su liberación a la sangre y por lo tanto su aporte a los tejidos (González Montaña y Rejas López, 1995; Marteniuk y Herdt, 1988).

Cal Pereyra (2007) demostró que el ayuno a partir del día 130 de gestación durante un máximo de seis días permite reproducir la toxemia de la gestación clínica en ovejas Corriedale gestando un solo feto, la cual se acompaña de una rápida movilización de TAG desde el tejido adiposo. Esta extensa lipomovilización se ve reflejada en el rápido ascenso de los NEFA, representando el cambio sanguíneo más precoz en las ovejas sometidas a ayuno. El incremento de la movilización lipídica en las ovejas sometidas a ayuno provocó una alta incidencia de esteatosis hepática en estos animales (Cal Pereyra, 2007). Esta repercusión hepática aumenta la actividad sérica de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) (Andrews, 1997). La correlación positiva encontrada entre la actividad sérica de esta enzima y el grado de vacuolización hepática, indica que la AST podría ser un indicador precoz y fiable del daño hepático en ovejas con toxemia de la gestación clínica (Cal Pereyra, 2007).

Signos clínicos

Frecuentemente los signos clínicos se presentan de forma brusca, aunque el trastorno metabólico se pueda estar desarrollando desde un tiempo atrás en forma subclínica (Martín, 2002; Bonino y col, 1987). Al comienzo de la fase clínica, generalmente los signos son leves y pueden pasar inadvertidos. Los animales se muestran apáticos, torpes y lentos, pero aún tienen capacidad para acompañar el rebaño (Rook, 2000). Si la enfermedad progresa, las ovejas se retrasan y separan de la majada. Cuando aumenta el grado de depresión no reaccionan frente la presencia del hombre o perros, hay pérdida de reflejos auditivos y oculares, marcha dificultosa chocando contra objetos, tendencia a permanecer inmóviles presionando la cabeza contra objetos. Es común el rechinar de dientes producido por movimientos reflejos de la mandíbula y la lengua (González Montaña y Rejas López, 1995; Marteniuk y Herdt, 1988; Bonino y col, 1987; Koenig y Contreras, 1984). El animal disminuye la ingesta de agua y alimentos mostrando constipación y heces duras (Rook, 2000; Andrews, 1997; Gonzales Montaña y Rejas López, 1995).

Al examen físico estos animales muestran disminución del reflejo pupilar, temperatura y pulso normal, el rumen en los comienzos de la enfermedad posee motilidad normal (Marteniuk y Herdt, 1988).

A medida que la patología avanza, aumenta la debilidad y depresión, los animales adoptan posturas anormales como la de “contemplar estrellas”, que consiste en mantener la cabeza extendida con el hocico hacia arriba (Rook, 2000; Scott, 1995; Marteniuk y Herdt, 1988) o actitud de “perro sentado” (González Montaña y Rejas López, 1995). En las últimas etapas la acidosis metabólica causada por el aumento de los cuerpos cetónicos incrementa la frecuencia respiratoria. A menudo se producen contracciones mioclónicas de la cabeza, espalda y extremidades, sutiles episodios convulsivos y el animal termina en decúbito esternal con la cabeza girada hacia el flanco, progresando al decúbito lateral, donde puede permanecer por 3 o 4 días en una depresión profunda, muriendo el 80 a 90% de los casos no tratados (Rook, 2000; González Montaña y Rejas López, 1995; Marteniuk y Herdt, 1988).

Si bien muchos autores afirman que gran parte de los signos clínicos son consecuencia de la intensa hipoglucemia que presentan las ovejas afectadas de toxemia de la gestación (Marteniuk y Herdt, 1988; Sigurdsson, 1988b), Reid (1960) afirma que frecuentemente el comienzo de los síntomas ocurre con normoglucemias, y otros han encontrado un rango muy variable de la glucemia en la etapa clínica de la enfermedad (Scott, 1995; Sargison, 1994; Wierda y col, 1985)

Pese a lo antes mencionado, es importante remarcar que la hipoglucemia puede colaborar con el diagnóstico de la enfermedad en las fases iniciales de la misma. Por otro lado, debemos tener en cuenta que cuando los valores fisiológicos de la glucemia ($3,3 \text{ mmol/L} \pm 0,6 \text{ mmol/L}$) descienden hasta $1,1 \text{ mmol/L}$ se produce una encefalopatía hipoglucémica, (González Montaña, 2003; Bonino y col, 1987), que se ve reforzada por el efecto directo que posee el acetoacetato al disminuir el consumo cerebral de oxígeno (Radostits y col, 2002; González Montaña y Rejas López, 1995; Bonino y col, 1987).

La hipercetonemia siempre está presente en las ovejas con toxemia de la gestación, cetonemias superiores a $1,7 \text{ mmol/L}$ de BOHB, asociadas a glucemias inferiores de $1,7 \text{ mmol/L}$ son un reflejo de una grave alteración del metabolismo energético (Sienra y col, 1984). Diversos autores reafirman esta misma observación (Martin, 2002; Radostits y col, 2002; González Montaña y Rejas López, 1995; Prieto, 1994; Ford, 1988; Forbes y Singleton, 1964).

Los cuerpos cetónicos en sangre se comportan como ácidos fuertes que producen una acidosis metabólica que lleva a la disnea compensatoria que puede verse agravada en el caso de presentarse una disnea por decúbito (Prieto, 1994). La acetona como es un cuerpo cetónico volátil, cuando está en altas concentraciones en sangre se elimina por vía pulmonar dando un olor ácido al aliento espirado (Ortolani y Benesi, 1989).

Como se mencionó anteriormente parte de los cuerpos cetónicos se eliminan con la orina produciendo cetonuria y disminución del pH urinario. Es importante tener en cuenta que es normal la presencia de bajas cantidades de cuerpos cetónicos, fundamentalmente acetoacetato en la orina (Bonino y col, 1987). Estos toman relevancia cuando sus concentraciones superan los 50 mg/dL ya que su aumento también provoca, la pérdida de diferentes cationes como Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ que pueden concluir en deshidratación.

Puede haber una recuperación transitoria, por el aumento de la glucemia materna como causa de la muerte de el o los fetos, al incrementarse la concentración plasmática de glucosa y, por tanto la concentración de glucosa del fluido cerebroespinal (Scott y col, 1993; Marteniuk y Herdt, 1988). Pero muy frecuentemente estos animales fallecen por septicemia (Andrews, 1997).

Puede darse que el animal afectado de toxemia aborte o llegue al final de la gestación, en este último caso muy frecuentemente se produce distocia asociada a una debilitada musculatura abdominal y uterina que se acompaña de una escasa dilatación del cervix. En estos casos es muy usual la retención de placenta que concluye en metritis y posteriormente en la muerte del animal (Rook, 2000; Andrews, 1997; Marteniuk y Herdt, 1988).

Si los animales se recuperan, pueden parir un cordero muerto o pequeño y débil que frecuentemente muere a los pocos días, además las ovejas tienen una baja producción de leche, que aumenta las posibilidades de mortalidad de sus corderos (Andrews, 1997; West, 1996). El reinicio de la actividad reproductiva en estos animales generalmente se ve muy retrasada (Kulcsar y col, 2006).

Es muy importante tener en cuenta que la toxemia de la gestación es comúnmente un problema de rebaño y no una enfermedad individual (Marteniuk y Herdt, 1988).

Factores predisponentes.

Los factores que predisponen a la enfermedad pueden ser clasificados en tres grandes grupos: nutricionales, estresantes e inherentes al animal (González Montaña y Rejas López, 1995; Bonino y col, 1987; Bonino y col, 1981):

- Factores nutricionales: La mala alimentación y el ayuno en el último tercio de la gestación provocan que el animal entre en un balance energético negativo, predisponiéndola a la enfermedad. La subnutrición conduce a la disminución de la glucemia materna que ocasiona la disminución del ingreso de glucosa al feto (Chandler y col, 1985). La subnutrición es lo más frecuente en rebaños alimentados a campo natural. Dentro de los factores nutricionales también deben incluirse los ensilados en mal estado de conservación y las modificaciones

cualitativas del alimento como las raciones mal balanceadas ricas en proteínas o grasas, que, por carencias de ciertos minerales como el Co, llevan a deficiencia en la síntesis de vitamina B12 (González Montaña y Rejas López, 1995; Bonino y col, 1987; Benedito Castellote, 1986).

No obstante, el exceso de alimento en el primer tercio de la gestación genera una excesiva acumulación de grasa que puede concluir en la disminución voluntaria de la ingesta, ya que queda reducida la capacidad ruminal por el aumento de la grasa intraabdominal (Pastor y col, 2001; Forbes y Singleton, 1964). Esta menor capacidad ruminal se ve agravada en las últimas semanas de la gestación por el gran aumento del útero que limita aún más la capacidad del rumen (Rook, 2000; Andrews, 1997; Gibbons, 1996).

El grado de lipomovilización depende de la severidad de la subnutrición y del estado inicial de engrasamiento (Chilliard y col, 2000). En animales que se encuentran obesos a finales de la gestación no es necesaria la presencia de un estrés adicional para provocar la caída de la ingesta (González Montaña y Rejas López, 1995).

La susceptibilidad de la oveja a enfermar parece ser inversamente proporcional a su ganancia de peso en los dos primeros tercios de la gestación (Egan y col, 1970). Otros factores de importancia son la relación peso de la oveja y la relación peso cordero/peso oveja. Las ovejas con bajo peso y una alta relación peso cordero/peso oveja tiene mayores posibilidades de padecer la enfermedad, sin embargo no existe una relación con el peso individual del cordero (Egan y col, 1970).

- Factores estresantes: son aquellos que ocasionan un menor consumo de alimentos, un mayor gasto de energía y por ende un mayor consumo de las reservas energéticas del animal (Pastor y col, 2001; González Montaña y Rejas López, 1995). Dentro de estos factores se incluyen las condiciones climáticas adversas (frío, lluvias intensas, heladas, granizo, nieve) cuando no se encuentran las condiciones adecuadas de protección y abrigo, o cuando estas condiciones impiden que el animal se alimente libremente.

Otras causas de estrés pueden ser el transporte prolongado, la competencia por el alimento, la esquila, los encierros y los cambios bruscos de alimentación (Pastor y col, 2001; Rook, 2000; Andrews, 1997; González Montaña y Rejas López, 1995, Bonino y col, 1987; Koenig y Contreras, 1984; Forbes y Singleton, 1964).

- Factores inherentes al animal: uno de los principales es la gestación múltiple, la enfermedad es causada por los altos requerimientos energéticos de los fetos (Bonino y col, 1987). Las hembras poseedores de dos o más corderos reducen además sus movimientos lo cual causa

una disminución del consumo de alimentos (Bonino y col, 1987; Reid, 1968).

El consumo de alimentos puede verse afectado también por la edad avanzada de las ovejas, la mala dentición y las alteraciones podales.

Las parasitosis gastrointestinales, las parasitosis del hígado (fasciolosis hepática y quiste hidático) o cualquier otra afección que cause insuficiencia hepática, pueden desencadenar la patología (González Montaña y Rejas López, 1995; Ortolani y Benesi, 1989; Bonino y col, 1987).

También se debe tener en cuenta la susceptibilidad individual. Algunos animales pueden ser más susceptibles que otros por la eficiencia del metabolismo hepático (Andrews, 1997). Otros autores sugieren que la susceptibilidad individual tiene un origen genético (Rook, 2000).

Hallazgos en la necropsia

El animal puede encontrarse muy emaciado o estar en buenas condiciones con grandes cantidades de reservas grasas en abdomen y tejido subcutáneo dependiendo de la condición corporal al inicio de la patología (Rook, 2000; Andrews, 1997). La grasa corporal puede presentar consistencia disminuida debido a la licuefacción en los casos de evolución más crónicos, mientras que si la evolución es aguda la licuefacción suele estar limitada a pequeñas áreas (Bonino y col, 1987). Una guía importante para llegar al diagnóstico de toxemia de la gestación es la presencia en el útero de fetos con cierto grado de autólisis, rodeado de un material espeso, viscoso y negro-amarillado (Rook, 2000; Andrews, 1997; Bonino y col, 1987).

Es frecuente hallar el hígado agrandado, pálido, friable y con bordes redondeados. Su color varía del rosa al amarillo anaranjado y su consistencia es grasienta al tacto. Al realizar un corte histológico se observa infiltración grasa (Martin, 2002; Rook, 2000; Andrews, 1997; González Montaña y Rejas López, 1995; Scott, 1995; Ortolani y Benesi, 1989; Bonino y col, 1987; Tontis y Zwahlen, 1987).

Las glándulas adrenales frecuentemente se encuentran aumentadas de tamaño como respuesta a la estimulación prolongada por la ACTH (Reid, 1968) con presencia de hemorragia cortical (Rook, 2000; Andrews, 1997).

Aunque según Andrews (1997) las lesiones renales son poco específicas según, Ford (1988) y Bonino y col (1987) hallaron una degeneración glomerular e infiltración grasa del epitelio tubular renal y Tontis y Zwahlen (1987) afección del epitelio de los tubos contorneados proximales.

Estos últimos autores también hallaron cambios degenerativos focales en las células miocárdicas contráctiles y del sistema de conducción.

En intestino frecuentemente se halla constipación, aunque en algunos casos puede darse la presencia de heces diarreicas descoloridas y fétidas (Andrews, 1997).

Las alteraciones cerebrales observadas mediante histopatología son hinchamiento del núcleo de los astrocitos e hipertrofia, proliferación y necrosis neuronal cerebrocortical. También se puede observar necrosis de las células de Purkinge y vacuolización de la sustancia blanca cerebral y cerebelar subcortical. Todos estos hallazgos concuerdan con la teoría de una encefalopatía hipoglucémica (Jeffrey y Higgins, 1992).

En la placenta puede encontrarse una amplia degeneración de la zona íntima y de los trofoblastos fetales, como también un menor tamaño de las vellosidades fetales. En las placentas provenientes de ovejas que padecieron toxemia de la gestación severa a los 120 días de la gestación, hay un predominio del tejido materno sobre el tejido fetal. Estas placentas se asemejan a una placenta a término lo que implica una maduración más temprana que lo normal de las estructuras placentarias (Mitchell y Stratford, 1987).

Diagnóstico

El diagnóstico de la toxemia de la gestación generalmente es sencillo si se cuenta con una correcta anamnesis, con un correcto examen clínico y estudios colaterales y en caso de tener animales muertos con sus necropsias (Radostits y col, 2002; González Montaña y Rejas López, 1995; Marteniuk y Herdt, 1988; Bonino y col, 1987; Koenig y Contreras, 1984; Bonino y col, 1981).

Hay que tener en cuenta la edad gestacional, estado de los animales con respecto a la misma, y antecedentes reproductivos de la majada. Si se encuentran en la última etapa de la gestación es importante conocer si existieron factores predisponentes para la presentación de la enfermedad (Bonino y col, 1987). Así como el manejo nutricional de los animales (Scott, 1995; Marteniuk y Herdt, 1988; Bonino y col, 1987).

La bioquímica sanguínea y el examen de orina son de suma importancia para confirmar el diagnóstico (González Montaña, 2003; Bonino y col, 1987). La hipoglucemia sirve de ayuda diagnóstica en los comienzos de la enfermedad. La glucemia en los animales afectados marca valores de 1,1 a 2,2 mmol/L, pudiendo ser menor a 1,1 mmol/L en casos graves (González Montaña, 2003; Bonino y col, 1987).

Wastney y col (1983) y Reid (1968) encontraron que cuando la enfermedad está avanzada pueden observarse concentraciones de glucosa sanguínea normales o incluso superiores, por este motivo su determinación

en etapas avanzadas de toxemia de la gestación no es de gran ayuda (Scott, 1995; Sargison, 1994; Bonino y col, 1987; Wierda y col, 1985).

Concentraciones séricas de BOHB superiores a 1,7 mmol/L y cetonurias mayores a 4,4 mmol/L que se asocian con glucemias inferiores a 1,7mmol/L, confirman una grave alteración del metabolismo energético (Sienra y col, 1984). La toxemia de la gestación clínica puede ser confirmada según varios autores con concentraciones séricas de BOHB superiores a 3 mmol/L (Andrews, 1997; West, 1996; Scott y col, 1995; Sargison y col, 1994; Scott y Woodman, 1993; 1988; Cantley y col, 1991; Marteniuk y Herdt, 1988). Sin embargo Pethic y Lindsay (1982) sugieren que el valor diagnóstico del BOHB es de 2 mmol/L.

Para el hallazgo de los cuerpos cetónicos en orina están a disposición varias pruebas de diagnóstico semicuantitativas de bajo costo que pueden ser realizadas a campo basadas en reacciones colorimétricas. Una de las más utilizadas es la prueba de Rothera (Bonino y col, 1987; Koenig y Contreras, 1984; Sienra y col, 1984). La presencia de cuerpos cetónicos se observa mediante la aparición de una coloración púrpura o violácea. Luego se hacen diluciones crecientes en agua destilada hasta que la reacción sea incolora. Como normalmente se pueden encontrar cuerpos cetónicos en la orina de las ovejas en el último tercio de la gestación para que esta prueba se considere positiva se deben realizar 8 diluciones para que desaparezca el color púrpura (Sienra y col, 1984). Otra prueba semicuantitativa rápida y económica es la determinación de cuerpos cetónicos mediante la utilización de tiras reactivas de orina (González Montaña, 2003; Koenig y Contreras, 1984; Sienra y col, 1984).

La fructosamina sérica también puede ser utilizada para detectar casos de toxemia cuando los valores de BOBH se encuentran dentro del el rango normal (Cantley y col, 1991). Esta prueba cuantifica específicamente la concentración de albúmina glucosilada, esta se produce por una reacción no enzimática en la cual se produce la glucosilación de la albúmina. Esta prueba informa sobre la glucemia media de las últimas 2 a 3 semanas, ya que se mantiene durante la vida media de la albúmina al ser una reacción irreversible (Delgado y col, 2011). En los animales con toxemia de la gestación las concentraciones de fructosamina son inferiores a las de los animales normales, lo que esta de acuerdo con la hipoglucemia persistente de los animales enfermos (Cantley y col, 1991).

La valoración de la acidosis metabólica puede ser analizada mediante la medición del pH de la orina por medido de tiras reactivas, esta prueba puede ser útil también en los primeros momentos de la enfermedad. En los casos severos este puede llegar a un pH 5 (Sienra y col, 1984).

Debido al daño que sufre el hígado en esta patología como consecuencia de la lipidosis hepática se produce el aumento de la actividad sérica de la aspartato aminotransferasa (AST) y de la glutamato deshidrogenasa (GLDH) (Andrews, 1997). González Montaña y Rejas López (1995) afirman que la actividad sérica de la enzima AST aumenta de forma

considerable, en cambio se produce la disminución de la actividad de las enzimas alanino aminotransferasa (ALT) y la gama glutamil transferasa (GGT). Otra enzima que puede tenerse en cuenta para el diagnóstico de la toxemia de la gestación es la sorbitol deshidrogenasa (SDH) (Wierda y col, 1985).

Las concentraciones de cortisol sérico también se ven afectados (Andrews, 1997; Sigurdsson, 1988b), cuando su concentración supera los 10 ng/mL son indicadoras de la enfermedad (Ford y col, 1990). Debido a este aumento que se suma al daño hepático se altera la hidroxilación de la vitamina D, generando que el 20 % de las ovejas con toxemia de la gestación tengan hipocalcemia (Andrews, 1997).

En las últimas etapas de la enfermedad puede aparecer insuficiencia renal que se ve reflejada por el aumento de la urea y la creatinina sérica (Andrews 1997; González Montaña y Rejas López, 1995).

Tratamiento

Se han utilizado varios tratamientos para la toxemia de la gestación que han tenido resultados variables, además de representar un alto costo cuando se afectan varios animales de la majada (West, 1996; Ranaweera y col, 1979). Generalmente la respuesta al tratamiento sólo es efectiva cuando este se instaura en los comienzos de la enfermedad, ya que no hay lesiones neurológicas irreversibles (González Montaña y Rejas López, 1995; Prieto, 1994; Marteniuk y Herdt, 1988; Bonino y col, 1987). Por este motivo es de suma importancia realizar el diagnóstico temprano de la enfermedad.

El principal objetivo en el tratamiento de la toxemia de la gestación es aumentar la NG y la utilización de glucosa por los tejidos periféricos, favoreciendo también la utilización de los cuerpos cetónicos (González Montaña y Rejas López, 1995). Al igual que corregir la acidosis metabólica y los trastornos hidroelectrolíticos (Radostits y col, 2002; Ford 1988; Marteniuk y Herdt, 1988; Bonino y col, 1987). Al corregirse la glucemia y bajar los cuerpos cetónicos se logra restablecer el apetito (Herdt y Emery, 1992).

Uno de los tratamientos más utilizados es mediante los precursores de la glucosa. Estos pueden ser usados solos o combinados con otras terapias, administrados por vía oral (V/O). Los más comunes son el glicerol-propilenglicol (1,2 propanediol) (PG) y las sales del ácido propiónico.

El glicerol que compone el PG, al llegar al rumen es degradado y da origen al ácido propiónico que es el principal precursor de la glucosa mediante NG hepática generando el aumento concomitante de la glucemia (Bonino y col, 1987; Hunt, 1976). Este incremento en la concentración de la glucosa plasmática produce una disminución de los cuerpos cetónicos en plasma y orina (Sierra y col, 1984). El propilenglicol luego de ser ingerido es absorbido directamente desde el rumen aproximadamente a una tasa de 40 % por hora. Tiene una vida media de 3 horas (Emery y col, 1967). La mayor parte del propilenglicol se absorbe sin cambios en los animales no

adaptados, y una pequeña parte antes de ser absorbida es metabolizado a ácido propiónico, cuando se administra por un tiempo prolongado su metabolismo ruminal aumenta (Herdt y Emery, 1992). Las máximas concentraciones en sangre del propilenglicol se detecta aproximadamente a los 30 minutos luego de su administración, pero la máxima conversión a glucosa ocurre a las 4 horas post administración (Herdt y Emery, 1992). Esta conversión ocurre vía conversión a piruvato con la consiguiente conversión a oxalacetato por medio de la piruvato carboxilasa (Emery y col, 1967). Al aumentar las concentraciones de oxalacetato aumenta la síntesis de citrato suprimiendo la cetogénesis (Herdt y Emery, 1992). Este es el tratamiento más utilizado para la toxemia de la gestación en Uruguay (Bonino y col, 1987).

Como la conversión a glucosa de estos precursores se produce en el hígado mediante NG, su eficacia depende de una correcta funcionalidad hepática (Rook, 2000; Bonino y col, 1987), la cual se ve alterada en los casos de lipidosis hepática. En estos animales afectados por hígado graso, la administración de PG debe ser hecha con precaución, ya que su acumulación puede generar depresión y somnolencia (Herdt y Emery, 1992). Con dosis de 100 ml cada 12 horas Sierra y col (1984) tuvieron una alta eficacia en el tratamiento de animales con toxemia inducida experimentalmente. Se observó la normalización de la glucemia y la disminución de los cuerpos cetónicos en plasma y orina. Sin embargo hay que tener en cuenta que este tratamiento puede fallar en los casos de toxemia de la gestación severa, donde el daño neurológico y renal son irreversibles.

Rook (2000) afirma que en los caso leves de toxemia de la gestación dosis de 100 a 200 ml de PG cada 12 horas por varios días son efectivos para revertir la enfermedad y los animales pueden seguir con su gestación. Para los casos en que la afección sea más severa este mismo autor recomendando el uso de 100 a 200 ml de PG cada 12 o 6 horas acompañado de la inyección I/V de dextrosa, las cuales pueden ser al 10 %, al 20%, o al 50 %, los volúmenes de perfusión serán de 500 ml, 250 ml y 120 ml respectivamente.

Si el desorden metabólico se produce por un ayuno agudo el PG puede ser administrado a una dosis de 125 ml cada 12 horas en conjunto con 40 UI de insulina por vía intramuscular (I/M) descendiendo la mortalidad materna en aproximadamente un 50 % (Koenig y Contreras, 1984).

El PG también puede ser administrado en conjunto con soluciones de glucosa al 40% (200 a 400ml) lo cual aumenta muchos los porcentajes de supervivencia de madres y corderos logrando mantener la glucemia (Andrews, 1982)

Se ha demostrado que los ácidos grasos participan en la regulación del metabolismo energético principalmente a través de su interacción con los Receptores Activados por Proliferadores de Peroxisomas (PPAR_β) (De Brito Gomes, 2006; Uauy y col, 2000). Estos receptores nucleares lípido-

activables tienen un rol importante en la transcripción y regulación de los genes involucrados en el metabolismo de los lípidos, así como en la homeostasis energética (Uauy y col, 2000). Los PPARs pueden ser activados también por sustancias llamadas fibratos o ligantes (De Brito Gomes, 2006; Hermes Toro, 2005). Existen tres tipos de estos receptores nucleares: PPAR α , PPAR β y PPAR γ , los cuales se distribuyen en distintos tejidos y con funciones específicas diferentes (Uauy y col, 2000). Los PPAR α se expresan en forma mayoritaria en tejidos con alto contenido en mitocondrias, y donde se produce β -oxidación peroxisomal como en el hígado principalmente, músculo esquelético, corazón, riñón, grasa parda y adrenales (Desvergne y Wahli, 1999).

Los PPAR α estimulan la β -oxidación mitocondrial y peroxisomal, modulando la expresión de genes que codifican para la AcilCoA-deshidrogenasa (Gulick y col, 1994), también inducen fuertemente la enzima carnitina palmitoil transferasa I, la cual permite el pasaje de los ácidos grasos de larga cadena al interior de la mitocondria para ser oxidados (Foxworthy y col, 1990; Brady y col, 1989). Por lo tanto los PPAR α aumentan la oxidación de los ácidos grasos y disminuyen su esterificación en el hígado (Steiner, 2005).

Los PPAR α participan además en la homeostasis energética regulando la expresión de genes implicados en la NG hepática (De Brito Gomes, 2006; Uauy y col, 2000), ya que estimulan la síntesis de la enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) (Tontonoz y col, 1995).

El ácido-2-metil-2-fenoxi-propiónico (Hepagen®), es un fibrato estimulante específico de los PPAR α , actuando de la misma manera que los ligantes naturales. Éste se une a los PPAR α interactuando en la regulación de genes implicados en el metabolismo lipídico y glucídico al promover la β -oxidación mitocondrial y peroxisomal, y la NG hepática (Schütze-Segen, 2008). La utilización de este fibrato podría interactuar en el metabolismo lipídico en ovejas afectadas con toxemia de la gestación, disminuyendo la acumulación de TAG en el hepatocito. Si bien existen trabajos sobre la utilización de fibratos en ratones, humanos, cerdos y vacas lecheras (Bouda y col, 2007; Peffer y col, 2005; Desvergne y Wahli, 1999), no se encontraron datos bibliográficos que hayan probado este producto en la toxemia de la gestación ovina.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS

Según varios investigadores (De Brito Gomes, 2006; Uauy y col, 2000), los PPAR α influyen sobre el metabolismo lipídico y glucídico. Sabiendo que el ácido-2-metil-2-fenoxi-propiónico (Hepagen®) es un fibrato estimulante específico de los PPAR α que actúa similar a los ligantes naturales, podría actuar en la toxemia de la gestación disminuyendo la lipidosis hepática. En base a este razonamiento surgen dos hipótesis de trabajo:

1) El ácido-2-metil-2-fenoxi-propiónico (Hepagen®), podría ser un tratamiento alternativo a los ya existentes para el tratamiento de la toxemia de la gestación ovina.

2) La utilización combinada del ácido-2-metil-2-fenoxi-propiónico (Hepagen®) y PG (Acetolena®), puede resultar beneficioso ya que al actuar aditivamente (disminuyendo la lipidosis hepática uno y aumentando la producción de glucosa con la consecuente disminución de los cuerpos cetónicos el otro), podrían potenciar sus efectos en el tratamiento de esta enfermedad.

Preguntas que intenta responder el proyecto

- a) ¿Cuál de las dos alternativas terapéuticas propuestas (un fibrato estimulante específico de los PPAR α como el ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico o una combinación de éste más un precursor de la glucosa como el PG, es la más indicada como tratamiento del hígado graso en ovejas con toxemia de la gestación clínica y subclínica?
- b) ¿Cuál de las dos alternativas terapéuticas propuestas (un fibrato estimulante específico de los PPAR α como el ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico o una combinación de éste más un precursor de la glucosa como el PG, es la más indicada para reestablecer el equilibrio en el metabolismo energético en ovejas con toxemia de la gestación clínica y subclínica?
- c) ¿Es posible prevenir el desarrollo del hígado graso en ovejas expuestas a un ambiente inductor de toxemia de la gestación, mediante la aplicación semanal de ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico a partir del día 90 de gestación?
- d) ¿Es posible normalizar el metabolismo energético al revertir el hígado graso en las ovejas con toxemia de la gestación?

OBJETIVOS

- **Objetivos Generales:**

- a) Evaluar un estimulante específico de los PPAR α como alternativa terapéutica en el tratamiento del hígado graso en la toxemia de la gestación ovina clínica y subclínica.
- b) Evaluar un estimulante específico de los PPAR α como agente preventivo de la esteatosis hepática en la toxemia de la gestación ovina subclínica.
- c) Evaluar la eficacia del tratamiento de la esteatosis hepática sobre la normalización del metabolismo energético en ovejas con toxemia de la gestación clínica y subclínica.

- **Objetivos Específicos:**

- a) Evaluar la eficacia del ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico solo o combinado con glicerol-propilenglicol para revertir el hígado graso en ovejas con toxemia de la gestación clínica y subclínica.
- b) Evaluar la eficacia del ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico solo o combinado con glicerol-propilenglicol para restablecer el equilibrio en el metabolismo energético en ovejas con toxemia de la gestación clínica y subclínica.
- c) Evaluar la eficacia del ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico como preventivo de la esteatosis hepática en ovejas con toxemia de la gestación subclínica.
- d) Evaluar las acción del ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico sobre la evolución de la esteatosis hepática en ovejas mediante el estudio histopatológico de muestras de hígado obtenidas mediante biopsias hepáticas y de un indicador del daño hepático como la aspartato aminotransferasa (AST), tanto en la etapa clínica como en la subclínica de la toxemia de la gestación.
- e) Demostrar la relación existente entre la respuesta al tratamiento del hígado graso con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico y la normalización de la homeostasis energética a través de la evaluación de parámetros del metabolismo energético (glucemia y BHOB sanguíneo), tanto en la etapa clínica como en la subclínica de la toxemia de la gestación.

ESTRATEGIA DE LA INVESTIGACIÓN

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

ENSAYO EXPERIMENTAL 1 (toxemia de la gestación clínica)

El primer ensayo experimental fue realizado en el año 2012. Con el mismo se pretendió alcanzar los objetivos específicos a, b, c y d en la etapa clínica de la enfermedad.

- **Diseño Experimental**

En marzo del año 2012 se sincronizaron los celos de las ovejas con esponjas intravaginales conteniendo 60 mg de medroxiprogesterona (Sincrovin[®], Santa Elena) durante 12 días (Romano y col, 1993). Una vez retiradas las esponjas se realizó el servicio por monta natural usando 3 carneros Corridale provistos con arneses marcadores, controlándose las montas durante cuatro días. Se registró el día de la monta como el día cero (0) de la gestación. Entre los días 50 y 70 tras retirar los carneros se realizó el diagnóstico de gestación por ultrasonografía (Buckrell, 1988), descartándose del protocolo las ovejas vacías y las portadoras de dos o más fetos, seleccionando de esta forma 36 ovejas gestando un solo feto.

Posterior a la monta, todos los animales pasaron a alimentarse en un potrero de 7 há con pastura natural. En el día 130 de gestación se dividieron al azar en tres grupos de 12 ovejas cada uno (A, B, y C). A partir de ese momento todas las ovejas fueron encerradas en corrales techados y con piso de hormigón. Durante el encierro estuvieron sometidas a un ayuno total de forraje, teniendo acceso únicamente al agua de bebida, hasta que los animales presentaron síntomas de toxemia de la gestación.

Se consideró el inicio de la enfermedad clínica cuando se manifestaron al menos 2 de los siguientes síntomas: rechinar de dientes, indiferencia ante la presencia humana, presión de la cabeza contra objetos y temblor muscular.

El tiempo máximo de ayuno fue de 6 días. Los animales fueron retirados del ayuno a las 12 horas posteriores del inicio de los síntomas clínicos de la enfermedad (Cal Pereyra, 2007), pasando a alimentarse nuevamente sobre campo natural e instaurándose los siguientes protocolos de tratamiento para cada grupo:

Grupo A (n=12): 10 mg/kg de ácido 2-metil-2-fenoxi-propionico (Hepagen[®]) I/M cada 24 horas por un período de 6 días

Grupo B (n=12): 10 mg/kg de ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Hepagen[®]) I/M cada 24 horas + 100 ml de glicerol-propilenglicol (Acetolena[®]) V/O cada 12 horas por un período de 6 días

Grupo C (n=12): (grupo control), 100 ml de glicerol-propilenglicol (Acetolena®) V/O cada 12 horas por un período de 6 días (Cal Pereyra, 2007; Sierra y col, 1984)

El grupo C fue considerado grupo control teniendo en cuenta que el tratamiento con glicerol-propilenglicol constituye uno de los tratamientos de mayor difusión para la toxemia de la gestación en Uruguay (Bonino y col, 1987), así como en otros países (Rook, 2000; Marteniuk y Herdt, 1988; Wierda y col, 1985; Koenig y Contreras, 1984). Los resultados de este tratamiento muestran una respuesta de un 50 % en relación a la normalización de los parámetros metabólicos en animales con toxemia de la gestación clínica (Cal Pereyra, 2007; Koenig y Contreras, 1984), mientras que este mismo tratamiento no logró resultados satisfactorios en la recuperación del hígado graso provocado por esta enfermedad (Cal Pereyra, 2007).

- Determinaciones

Determinaciones en sangre

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena yugular con jeringas de 10ml y agujas 18G, al día 130 de gestación, al inicio y finalización de los tratamientos y 5 días tras el parto, para determinar la actividad sérica de la aspartato aminotransferasa (AST). Además a partir del día 130 de la gestación y hasta finalizar los tratamientos todas las ovejas fueron sangradas diariamente para valorar BOHB y glucemia.

La sangre para determinación de la glucemia fue colectada en tubos con NaF y EDTA, mientras que para las demás determinaciones se colectó en tubos sin aditivos.

Las determinaciones de AST fueron realizadas dentro de las doce horas posteriores a la recogida de los sueros y las muestras para determinar glucemia y BOHB se almacenaron congeladas a -20°C en tubos Eppendorf debidamente rotulados e identificados hasta su procesamiento.

Biopsias hepáticas

Las biopsias hepáticas fueron realizadas inmediatamente después de obtener las muestras de sangre. Las mismas fueron realizadas mediante punción-aspiración con aguja fina, siguiendo la técnica descrita por Cruz y col (2005) en cuatro oportunidades: al día 130 de gestación (comienzo del ayuno), al inicio y finalización de los tratamientos y 5 días tras el parto.

Inmediatamente tras su obtención las muestras de hígado fueron fijadas en solución de formalina al 10 %, bufferada a pH 6,5 hasta su procesamiento.

ENSAYO EXPERIMENTAL 2 (toxemia de la gestación subclínica)

El segundo ensayo experimental fue realizado en el año 2013. Con el mismo se intentó alcanzar los objetivos específicos a, b, d y e, en la etapa subclínica de la enfermedad. También se pretende alcanzar el objetivo específico c, por esta razón se agrega un cuarto grupo a los tres utilizados en el ensayo anterior, en el cual el tratamiento comenzó el día 90 de gestación, vale decir 40 días previo a realizarse el ayuno.

Diseño Experimental

En marzo de 2013, fueron sincronizados los celos de las ovejas con esponjas intravaginales conteniendo 60 mg de medroxiprogesterona (Sincrovin[®], Santa Elena) durante 12 días (Romano y col, 1993). Una vez retiradas las esponjas el servicio fue realizado por monta natural usando 3 carneros Corridale provistos con arneses marcadores, controlándose las montas durante cuatro días. Se registró el día de la monta como el día cero (0) de la gestación. Entre los días 50 y 70 tras retirar los carneros se realizó el diagnóstico de gestación por ultrasonografía (Buckrell, 1988), descartándose del protocolo las ovejas vacías y las portadoras de dos o más fetos, seleccionando de esta forma 48 ovejas gestando un solo feto, las que fueron distribuidas en forma aleatoria en 4 grupos de 12 ovejas cada uno (A, B, C y D).

Posterior a la monta, todos los animales pasaron a alimentarse en un potrero de 7 ha con pastura natural. A partir del día 130 de gestación las ovejas de los cuatro grupos fueron encerradas en corrales techados y con piso de hormigón. A partir de este momento fueron sometidas a un ayuno total de forraje, con agua *ad libitum*, hasta que la glucemia, determinada diariamente, disminuyó a valores < 2,0 mmol/L, considerado indicador de cetosis subclínica (Cal Pereyra, 2007, González Montaña, 2003 y Bonino y col, 1987). A partir de este momento fueron retiradas del ayuno y pasaron a alimentarse en un potrero con pastura natural. A los grupos A, B y C se les aplicó el mismo protocolo de tratamiento realizado en el Experimento 1.

Al grupo D (n=12), se le aplicó el siguiente tratamiento: 10 mg/kg de ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Hepagen[®]) I/M una vez por semana a partir del día 90 de la gestación y hasta el día 130 de la gestación (comienzo del ayuno). Finalizado el período de ayuno y diagnosticadas con cetosis suclínica no recibieron tratamiento farmacológico.

- **Determinaciones**

Determinaciones en sangre

Todas las ovejas fueron sangradas en cinco oportunidades: a los 90 y 130 días de gestación, al inicio y finalización de los tratamientos y 5 días pos parto. Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción yugular con jeringas de 10ml y agujas 18G. (el Grupo D fue sangrado en los mismo

momentos), para determinar BOHB y glucemia; así como para determinar la actividad sérica de la aspartato aminotransferasa (AST).

Desde el día 130 de la gestación todas las ovejas fueron sangradas diariamente hasta que fueron diagnosticadas con cetosis subclínica. La sangre para determinación de glucemia fue colectada en tubos con fluoruro de sodio y EDTA, mientras que para las demás determinaciones se colectó en tubos secos. Las determinaciones de AST fueron realizadas dentro de las doce horas posteriores a la recogida de los sueros y las muestras para determinar glucemia y BOHB se almacenaron congeladas a -20°C en tubos Eppendorf debidamente rotulados e identificados hasta su procesamiento. La glucemia se determinó diariamente con la finalidad de saber qué animal debía ser retirado del ayuno.

Biopsias Hepáticas

Inmediatamente luego de obtener las muestras de sangre fueron realizadas las biopsias hepáticas a todos los animales por aspiración con aguja fina, siguiendo la técnica descrita por Cruz y col (2005), a los 90 y 130 días de gestación, al inicio y finalización de los tratamientos, y 5 días tras el parto (las biopsias en el Grupo D fueron tomadas en los mismos momentos). Las muestras de hígado inmediatamente tras su obtención fueron fijadas en una solución de formalina bufferada al 10%, hasta su procesamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales Año 1

Fueron utilizadas 36 ovejas Corriedale adultas, entre 4 y 6 años, identificadas por medio de caravanas numeradas y tres carneros de la misma raza de 4 años. Las ovejas fueron seleccionadas de un total de 90 animales de acuerdo a su condición corporal, al estado de la dentadura y de las pezuñas de manera de homogenizar la muestra. Fueron seleccionados animales con un peso homogéneo y una condición corporal por encima de 2,5, valorados en un rango de 1 a 5 (Manazza, 2006).

Animales Año 2

En el segundo año del experimento fueron utilizadas 48 ovejas Corriedale adultas, entre 4 y 6 años, identificadas por medio de caravanas numeradas y tres carneros de la misma raza de 5 años. Las ovejas fueron seleccionadas de un total de 90 animales de acuerdo a su condición corporal, al estado de la dentadura y de las pezuñas de manera de homogenizar la muestra. Se seleccionaron al igual que en el año 1, animales con un peso homogéneo y una condición corporal por encima de 2,5, valorados en un rango de 1 a 5 (Manazza, 2006).

- Análisis de las muestra

Muestras de sangre

Las muestras de glucemia, BOHB y AST fueron analizadas en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria.

La glucemia fue determinada en suero por un método enzimático colorimétrico, utilizando para ello los Kits comerciales Glucose Liquicolor® (Human). La glucosa presente en el mismo se determina tras la oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. Esta reacción forma peróxido de hidrógeno, el cual reacciona bajo la catálisis de peroxidasa con fenol y 4-aminofenazona, formando un complejo rojo violeta usando la quinoneimina como indicador. La absorbancia será cuantificada a 500nm, a una temperatura de 37 °C, en un colorímetro digital HUMALYSER Junior.

El BOHB se cuantificó por un método enzimático colorimétrico, utilizando para ello los Kits comerciales Ranbut® (Randox Laboratories Ltd.). Para la medición de BHOB se utilizó suero. El método se basa en la oxidación del D-3-hidroxi butirato en aceto-acetato por medio de la enzima 3-hidroxi butirato deshidrogenasa. Concomitantemente con esta oxidación el cofactor NAD⁺ es reducido a NADH. Esta reacción se asocia con un cambio de la absorbancia que es directamente proporcional a la concentración de D-3-hidroxi butirato. La lectura se realiza a 330nm, a una temperatura de 37 °C, en un colorímetro digital HUMALYSER Junior.

La actividad sérica de la AST se determinó en suero mediante un método cinético enzimático, utilizando para ello los Kits comerciales GOT® (AST) (Human). Mediante este método, que es una reacción química enzima-sustrato, se produce la reducción de NADH en presencia de AST de acuerdo a la cantidad de enzima presente en el suero analizado. Se midió la absorbancia a 340nm, a una temperatura de 37°C, en un colorímetro digital HUMALYSER Junior.

Procesamiento de las muestras de biopsias hepáticas

Las muestras fueron procesadas por técnica histológica de rutina siguiendo el método de procesamiento rápido para piezas de 4 mm (Ann Preece, 1972). Las piezas se cortaron a 5 µm, fueron coloreadas con hematoxilina-eosina y se observaron en un microscopio óptico (Olimpus® BH2).

El estudio histopatológico se realizó usando un sistema numérico ciego y de acuerdo al siguiente protocolo:

La extensión de la esteatosis fue evaluada a 200 aumentos (X 200), tomando al lobulillo hepático como unidad estructural, en tres zonas (zona I: periportal, zona II: intermedia y zona III: centrolobulillar) (Cal Pereyra y col., 2009).

El grado de lesión o vacuolización fue evaluada a 400 aumentos (X 400), y fue clasificada según Stokhaus y col (2004) en 3 grados (grado 1: pequeña cantidad de gotas en pocas células; grado 2: cantidad variable de gotas en la mayoría de las células y grado 3: grandes cantidades de gotas en la mayoría de los hepatocitos).

Análisis estadístico

Se realizó el test de Kolmogorov-Smirnov y Cochran C test para verificar que las variables cumplieran los requisitos de normalidad. Posteriormente las diferencias entre los grupos en la actividad sérica de la AST, la glucemia y las concentraciones del BHOB, fueron evaluados mediante ANOVA de una vía seguido de Tukey (Steel y Torrie, 1988). De la misma forma se analizó la evolución de las mismas variables dentro de cada grupo independientemente, comparando cada muestreo realizado con el del día 130 de gestación. Para determinar si había diferencias entre los grupos en el grado de vacuolización hepática y la extensión de la misma en cada una de las muestras fue utilizado el test exacto de Fisher. Para determinar entre que grupos se produjo diferencias se realizó el test de Kruskal-Wallis seguido de Mann-Whitney (Siegel, 1956). Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa STATA v11. Se considerarán diferencias significativas cuando $p \leq 0,05$, y tendencias cuando $p > 0,05$ y $< 0,075$.

RESULTADOS EXPERIMENTO 1

Presentación de signos clínicos de toxemia

Todas las ovejas presentaron al menos dos signos clínicos indicativos de toxemia de la gestación dentro de los 6 días de iniciado el ayuno. Los signos clínicos que aparecieron con mayor frecuencia fueron: presión de la cabeza contra objetos, rechinar de dientes, indiferencia ante la presencia humana y mioclonias.

Glucemia

El Gráfico N°1 muestra la evolución de la glucemia desde el comienzo del ayuno (día 130 de la gestación) hasta la finalización de los tratamientos.

Al día 130 de gestación no se observaron diferencias significativas para los valores de glucemia entre los grupos experimentales (Grupo A: $2,3 \pm 0,6$; Grupo B: $2,4 \pm 0,5$ y Grupo C: $2,2 \pm 0,3$ mmol/L).

Posteriormente al comienzo del ayuno, se comenzó a registrar una disminución paulatina de la glucosa sanguínea en los 3 grupos, comenzándose a observar los signos clínicos de toxemia de la gestación desde el 4to al 6to día de iniciado el ayuno. Cuando los animales comenzaron a manifestar los signos clínicos del desorden metabólico, la glucemia había disminuido significativamente en cada grupo ($p < 0,005$), pero no se registraron diferencias para los valores de glucemia entre los tres grupos (Grupo A: $1,8 \pm 0,5$; Grupo B: $1,8 \pm 0,6$ y Grupo C: $1,7 \pm 0,7$ mmol/L).

Los valores de glucemia comienzan a recuperarse ya al primer día post tratamiento en los tres grupos con diferencias en cada uno de ellos (Grupo A: $p = 0,04$; Grupo B: $p = 0,01$ y Grupo C: $p = 0,001$). Comparando los grupos entre sí, la recuperación de la glucemia fue significativamente mayor en los Grupos B y C con respecto al Grupo A ($p = 0,0007$ y $p = 0,0005$, respectivamente). Esta diferencia con el Grupo A se mantuvo hasta las 48 horas de iniciado el tratamiento. Entre los Grupos B y C no se registraron diferencias respecto a la glucemia durante todo el tratamiento.

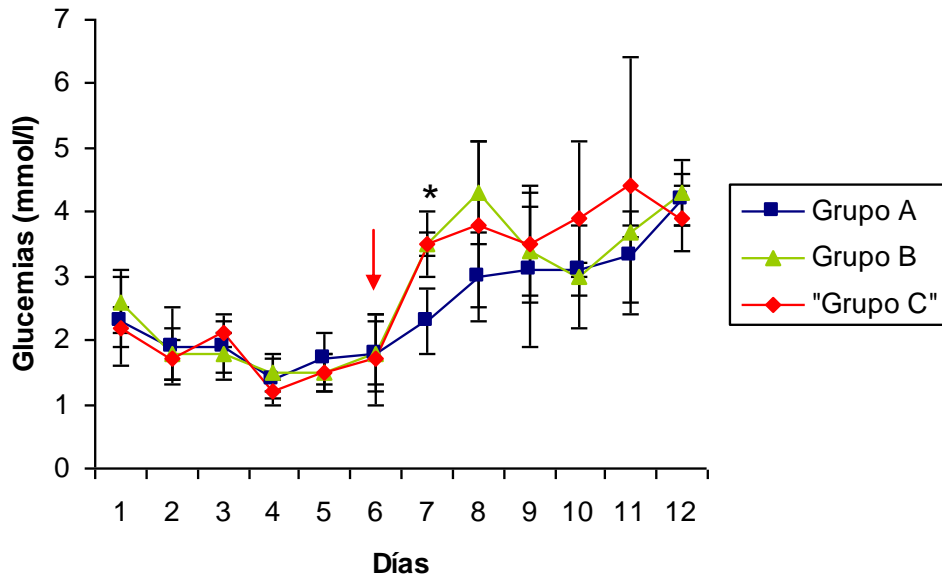


Gráfico N° 1: Evolución de las glucemias ($X \pm DE$) en ovejas con toxemia inducida por ayuno de 6 días (día 1 a 6) y tratadas durante 6 días (7 a 12) con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Grupo A), con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico + glicerol-propilenglicol (Grupo B) y solo con glicerol-propilenglicol (Grupo C). Flecha señala inicio de tratamiento.

BOHB

La evolución de los valores de BOHB en plasma durante todo el ensayo se observan en el Gráfico N° 2.

En el momento de iniciado el ayuno no se encontraron diferencias significativas entre los grupos (Grupo A: $0,9 \pm 0,3$; Grupo B: $1,2 \pm 0,6$ y Grupo C: $1,1 \pm 0,6$ mmol/L), tampoco al comienzo de los signos clínicos (Grupo A: $3,3 \pm 1,5$; Grupo B $3,5 \pm 0,9$ y Grupo C: $3,5 \pm 0,7$ mmol/L).

Al día 1 de iniciados los tratamientos los tres grupos presentaron una disminución en los valores sanguíneos de BHOB con respecto al momento de inicio de los síntomas, la cual fue significativa en el Grupo B ($p < 0,05$). El día 2 se observó una diferencia significativa en el grupo C ($p < 0,05$) y en el día 3 en el grupo A ($p < 0,01$), con respecto al inicio de los síntomas, no existiendo diferencias significativas entre los grupos.

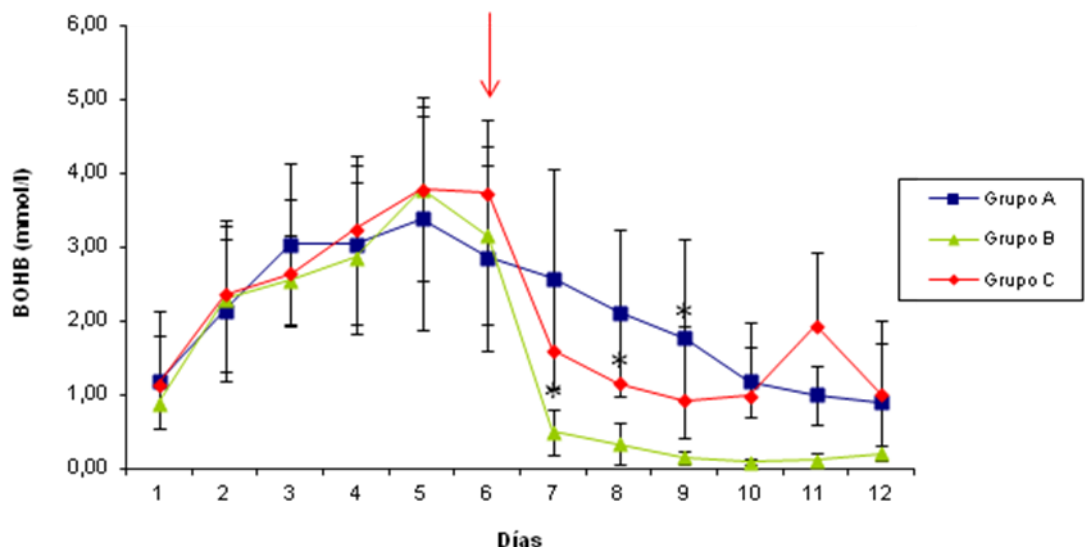


Gráfico N° 2: Evolución del BOHO ($X \pm DE$) en ovejas con toxemia inducida por ayuno de 6 días (día 1 a 6) y tratadas durante 6 días (7 a 12) con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Grupo A), con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico + glicerol-propilenglicol (Grupo B) y solo con glicerol-propilenglicol (Grupo C). Flecha señala inicio de tratamiento. A las 24hs de iniciado el tratamiento se observa una disminución de los valores séricos del grupo B (* $p = 0,05$), a las 48hs en el grupo C (* $p = 0,05$) y a las 72hs en el grupo A (* $p = 0,01$).

AST

Los valores de la actividad sérica de la AST muestran un aumento desde iniciado el ayuno hasta el final de los tratamientos, momento donde comienzan a disminuir sus actividades plasmáticas, no mostrando diferencias significativas entre los grupos en todas las muestras, salvo una leve tendencia entre el Grupo C y el Grupo A ($p=0,078$) a los 5 días posparto.

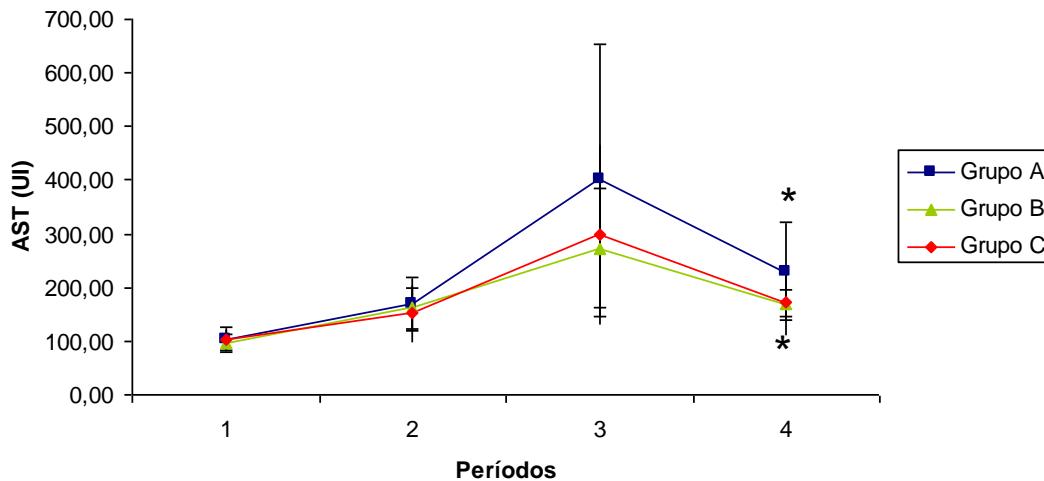


Gráfico N°3: Actividad sérica de la AST ($X \pm DE$) en ovejas con toxemia inducida por ayuno y tratadas durante 6 días con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Grupo A), con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico + glicerol-propilenglicol (Grupo B) y solo con glicerol-propilenglicol (Grupo C). Períodos 1: inicio del ayuno (día 130 de gestación, 2: fin de ayuno, toxemia clínica e inicio del tratamiento, 3: final del tratamiento y 4: cinco días posparto.

Biopsias hepáticas

Se analizó mediante el test exacto de Fisher el grado de lesión y la extensión de la misma dando $p = 0,0$. Este valor nos permite asumir que ambas variables están muy relacionadas, por lo tanto para el análisis de las biopsias se consideró solo la extensión de la acumulación grasa.

Como muestra el cuadro I, se observa que al inicio de los tratamientos el grupo control mostro un 9 % de animales sin acumulación grasa, un 18 % de animales con acumulación grasa en la zona I, un 18 % en la zona II y un 55 % en la zona III. En el grupo tratado con Hepagen® se observa que en el mismo momento había un 8 % de animales sin acumulación grasa, un 17 % de animales con acumulación grasa en la Zona I, un 33 % de animales con acumulación grasa en la zona II y un 42 % de animales con acumulación grasa en la zona III, y en el grupo tratado con Hepagen® en combinación con Acetolena® se observa que el 10 % de animales tiene acumulación grasa en la zona I, el 30 % de los animales en la zona II y 60 % de animales en la zona III. No habiendo diferencias significativas entre los grupos en este momento.

Al finalizar los tratamientos se puede observar que en el Grupo C la extensión de la lipidosis aumentó desde un 55 % a un 91 % a la zona III, aumentando la gravedad de la afección hepática. En el Grupo A tratado con Hepagén® la extensión de la acumulación grasa disminuyó de un 42 % a un 36 % solo con 5 días de tratamiento. En el Grupo B tratado con Hepagen® + Acetolena® si bien no hubo cambios en el porcentaje de animales afectados hasta la zona III, si hubo una recuperación del 30 % de los animales que estaban en la zona II pasaron a la zona I. En este momento no existieron

diferencias significativas entre los grupos según el test exacto de Fisher, pero si una tendencia entre el Grupo A y el Grupo C, donde $p = 0,073$.

Al analizar la muestras obtenidas 5 días luego del parto se observa que en el Grupo C se encontraron 38 % de animales con acumulación grasa hasta la zona III, lo que muestra que el 53 % de los animales con acumulación grasa en la zona III se recuperaron pasando a acúmulos grasos en zonas II, I y sin acumulación grasa. En el Grupo A, se observa que el 36 % de los animales que tenían una acumulación grasa hasta la zona III tuvieron una recuperación de la misma, observándose que en el 44 % de los animales no se observa lipidosis hepática, en otro 44 % la lipidosis paso a la zona I y solo quedaron 12 % de animales afectados en la zona II. Con respecto al Grupo B se observa que en este momento el 60% de los animales que tenían acumulación grasa hasta la zona III mejoraron la gravedad de la lipidosis encontrándose el 9 % de los animales afectados en la zona II, el 27 % en la zona I y un 64 % de animales con recuperación total de afección. En este momento se encontraron diferencias significativas entre los grupos con respecto gravedad de las lesiones ($p = 0,0057$) entre los Grupos A y B con respecto al control.

Cuadro I. Distribución porcentual según la extensión de la acumulación grasa en hepatocitos de ovejas con toxemia clínica inducida y tratadas por ayuno de 6 días y tratadas durante 6 días con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Grupo A), con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico + glicerol-propilenglicol (Grupo B) y solo con glicerol-propilenglicol (Grupo C). Resultados obtenidos de biopsias realizadas al inicio del ayuno, inicio del tratamiento, final del tratamiento y 5 días posparto.

Grupo	Comienzo ayuno	Inicio tratamiento	Fin tratamiento	5 días posparto
A				
Sin grasa	30%	8%	0%	44%
Zona I	50%	17%	28%	44%
Zona II	10%	33%	36%	12%
Zona III	10%	42%	36%	0%
B				
Sin grasa	64%	0	0%	64%
Zona I	27%	10%	40%	27%
Zona II	9%	30%	0%	9%
Zona III	0%	60%	60%	0%
C				
Sin grasa	40%	9%	0%	12%
Zona I	40%	18%	0%	38%
Zona II	20%	18%	9%	12%
Zona III	0%	55%	91%	38%

DISCUSIÓN EXPERIMENTO 1

Al momento de iniciado el ayuno no hubo diferencias significativas para las glucemias entre los tres grupos experimentales siendo que los valores encontrados son coincidentes con la bibliografía para ovejas en esta etapa de la gestación encontrándose todas dentro del intervalo de referencia de $3,4 \pm 0,5$ mmol/L (Contreras y col, 1990), valor que se asemeja al encontrado por Cal (2007) en ovejas gestando un solo cordero al día 130 de la gestación que fue de $3,2 \pm 0,5$ mmol/L. Otros autores encontraron concentraciones sanguíneas de glucosa al día 130 de la gestación y gestando un solo cordero de $2,9 \pm 0,6$ mmol/L (Sigurdsson, 1988a).

Acompañando la falta de ingestión de alimentos se observó un descenso en los valores de la glucosa sanguínea en los tres grupos, lo cual coincide con varios autores que aseguran que en las ovejas que padecen una severa inanición se produce una brusca caída en la glucemia (Cal, 2007; West, 1996 y Sigurdsson, 1988a). La disminución de la glucosa plasmática puede ser explicada por el gran incremento de las demandas fetales de este nutriente en este periodo, que no es compensado por la restricción alimentaria causada por el ayuno (Rook, 2000; Gibbons, 1996; y Herdt y Emery, 1992). El mayor requerimiento en este periodo de la gestación es generado por el gran crecimiento fetal, ya que en el último tercio de la gestación el feto gana el 85 % del peso al nacimiento (Rook, 2000; Robinson, 1996 y Russel, 1984).

Los signos clínicos de toxemia de la gestación comenzaron a aparecer entre los 4 a 6 días de iniciado el ayuno. En este momento las glucemias en los tres grupos fueron: Grupo A: $1,8 \pm 0,5$; Grupo B: $1,8 \pm 0,6$ y Grupo C: $1,7 \pm 0,7$ mmol/L, no existiendo diferencias significativas entre ellas. Estas concentraciones de glucosa sanguínea se asemejan a las encontradas por Sigurdsson (1988b) que encontró valores de glucemia entre 1,1 y 2,2 mmol/L al momento de la presentación de los síntomas clínicos de toxemia.

Ya al primer día de iniciado los tratamientos se observa un incremento en los valores de la glucemia en los tres grupos, lo cual coincide con lo obtenido por Cal Pereyra (2007) quién tras doce horas de tratamiento con glicerol-propilenglicol obtuvo un incremento de $1,8 \pm 0,7$ a $3,3 \pm 0,5$ mmol/L. Este aumento de la glucemia en los Grupos B y C se explica ya que el 40 % del propilenglicol es absorbido directamente desde el rumen sin ser metabolizado produciendo un rápido incremento en los valores de la glucosa sanguínea (Herdt y Emery, 1992). El menor incremento en el Grupo A puede ser debido a que el ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico es un fibrato que actúa regulando la expresión de genes implicados en la neoglucogénesis, pero no es un precursor de la glucosa (De Brito Gomes, 2006; Uauy y col, 2000).

Las concentraciones séricas del BOHB no tuvieron diferencias significativas entre los grupos al momento de comenzar el ayuno ni al momento de la presentación de los síntomas clínicos, pero es importante recalcar que en este momento los tres grupos presentaban valores de BHOB

mayores a 3,0 mmol/L los cuales son indicadores de toxemia de la gestación clínica (Andrews, 1997 y Cal Pereyra, 2007). Al instaurarse los tratamientos se observó una disminución de las concentraciones séricas del BHOB en todas las ovejas de los 3 grupos, siendo esta más rápida en el Grupo B, donde ya se observó una diferencia significativa a las 24 horas de comenzado el tratamiento ($p = 0,03$). En el Grupo C la disminución fue estadísticamente significativa a partir de las 48 horas de iniciado el tratamiento ($p = 0,008$), mientras que para el Grupo A esta diferencia significativa se logró recién a partir de las 72 horas de comenzado el, tratamiento ($p = 0,01$). Considerando que los animales reinician con la ingesta, la cual genera la disminución de los cuerpos cetónicos, esta disminución es más rápida en los grupos tratados con glicerol-propilenglicol (Acetolena®) con respecto al grupo tratado con Hepagén® solo (Grupo A), esto puede ser debido a que el primero aporta glucosa. El incremento de la glucemia aumenta la relación insulina/glucagón lo cual disminuye la síntesis de cuerpos cetónicos (Herdt y Emery, 1992). En el Grupo A, la cetogénesis se ve reducida ya que el ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico es un fibrato que se une a los PPAR α activándolos. Estos una vez activados interactúan con genes que están implicados en el metabolismo lipídico ya que promueven la β -oxidación mitocondrial y peroxisomal, (Schütze-Segen, 2008).

Las biopsias hepáticas muestran que inmediatamente de culminado los tratamientos se pudo observar una recuperación en la extensión de la acumulación grasa en los grupos tratados con Hepagen® (Grupo A y B) la cual tuvo una tendencia entre el grupo A y el control ($p = 0,073$). En cambio en el Grupo C se puede observar que la extensión de la lipidosis aumenta pos tratamiento. En este grupo la recuperación recién puede ser observada a los 5 días posparto donde existe una diferencia significativa con los Grupos A y B ($p = 0,0057$), lo que indica la mayor eficacia del Hepagen® en la recuperación del hígado grasoso. Esto puede ser debido a que el ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico disminuye la esterificación de los ácidos grasos en el hígado reduciendo su acumulación en el hepatocito (Steiner, 2005). Además los fibratos promueven la oxidación de los ácidos grasos y estimula la actividad LPL, lo que reduce los TAG (Ros y Laguna, 2006).

RESULTADOS EXPERIMENTO 2

Las concentraciones de la glucosa sanguínea al comienzo del ayuno en los cuatro grupos experimentales fue de $3,8 \pm 1,3$ mmol/L; $3,3 \pm 0,7$ mmol/L; $3,5 \pm 0,8$ mmol/L y $3,4 \pm 0,6$ mmol/L para los Grupos A, B, C y D respectivamente, no encontrándose diferencias entre ellos. En la Gráfica N° 4 se observa como las glucemias comienzan a disminuir con el comienzo del ayuno. Los animales fueron retirados del mismo cuando las glucemias fueron en el Grupo A: $2,1 \pm 0,6$ mmol/L; Grupo B: $1,8 \pm 0,3$ mmol/L, Grupo C: $1,9 \pm 0,2$ mmol/L y Grupo D $1,9 \pm 0,3$ mmol/L (aproximadamente tercer día de ayuno). Ya a las 24 horas de comenzados los tratamientos en los grupos A, B y C, hubo una recuperación de las glucemias de los cuatro grupos, encontrándose el valor más bajo en el Grupo D ($3,4 \pm 0,5$ mmol/L) y el valor más alto en el Grupo C ($4,6 \pm 0,8$ mmol/L), registrándose diferencias entre ambos ($p < 0,05$). Luego de este día no se encontraron diferencias entre los grupos. Al finalizar los tratamientos las concentraciones séricas de glucosa se encontraban dentro del intervalo de referencia (Contreras y col, 1990), (Grupo A: $3,3 \pm 0,8$ mmol/L; Grupo B: $3,4 \pm 0,7$ mmol/L; Grupo C: $3,5 \pm 0,6$ mmol/L y Grupo D: $3,3 \pm 0,5$ mmol/L).

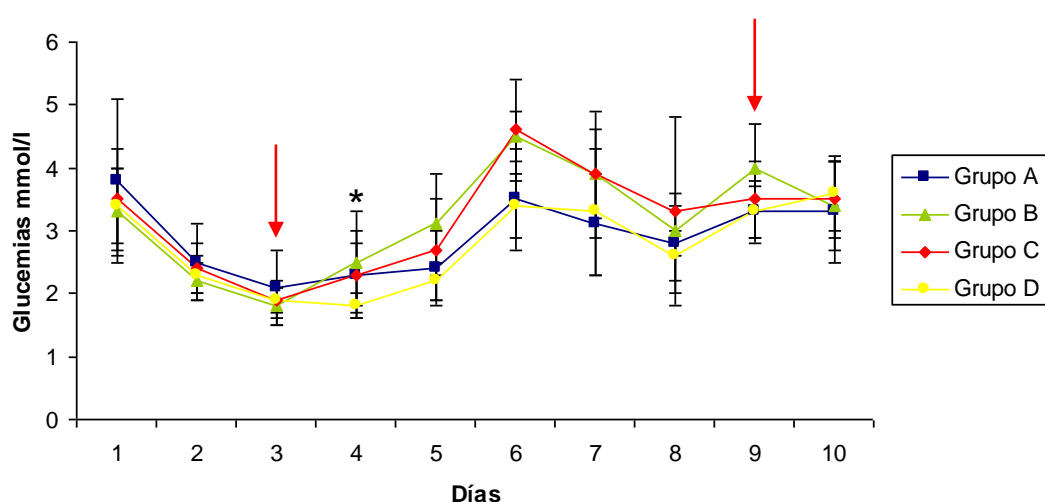


Gráfico N° 4: Evolución de las glucemias ($X \pm DE$) en ovejas con toxemia subclínica inducida por ayuno (días 1 a 3) y tratadas durante 6 días (días 4 a 9) con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Grupo A), con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico + glicerol-propilenglicol (Grupo B), con glicerol-propilenglicol (Grupo C). El Grupo D fue tratado semanalmente desde el día 90 de la gestación y hasta el período de ayuno con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico

Las concentraciones séricas del BOHB al inicio del ayuno fueron similares ($0,4 \pm 0,1$ mmol/L) para los grupos A, B y D, y de $0,4 \pm 0,2$ para el Grupo C. Al tercer día de ayuno todos los animales tuvieron un incremento de los cuerpos cetónicos con respecto a la muestra 1 ($p = 0,01$) siendo sus valores de $2,4 \pm 0,9$ mmol/L, $2,8 \pm 1,0$ mmol/L, $2,3 \pm 0,6$ mmol/L y $2,9 \pm 1,3$ mmol/L en los grupos A, B, C y D respectivamente (Gráfica N° 4). Luego de tres días de tratamiento las concentraciones en plasma de BOHB

descendieron en los cuatro grupos experimentales, siendo sus valores en el Grupo A: $2,1 \pm 1,4$ mmol/L; Grupo B $0,6 \pm 0,3$ mmol/L; Grupo C: $0,6 \pm 0,3$ mmol/L y Grupo D: $2,0 \pm 0,8$ mmol/L. En este momento se registraron diferencias significativas entre el grupo A con respecto al Grupo B y C ($p = 0,01$) y entre el Grupo D con respecto a los Grupos B y C ($p = 0,01$), las cuales se mantuvieron hasta el final de los tratamientos cuando fueron similares en todos los grupos (Grupo A: $1,8 \pm 2,0$ mmol/L; Grupo B: $1,1 \pm 0,3$ mmol/L; Grupo C: $0,7 \pm 0,3$ mmol/L y Grupo D: $1,3 \pm 2,1$ mmol/L).

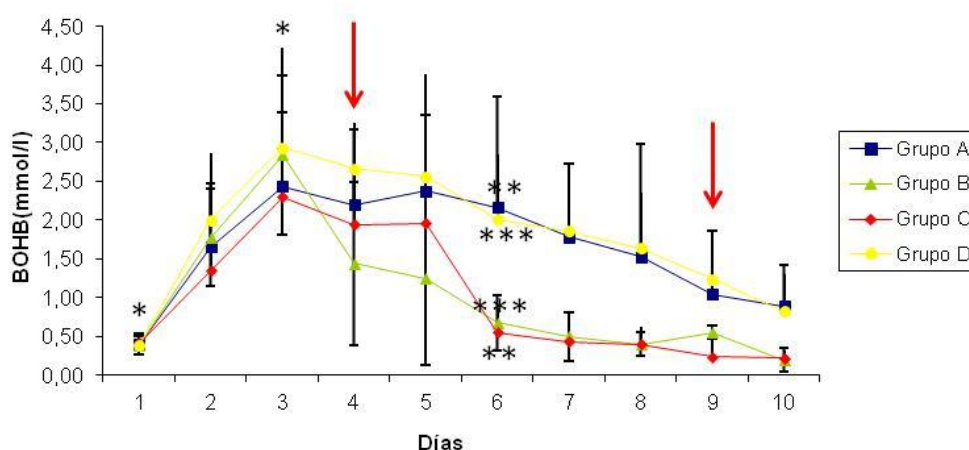


Gráfico N° 5: Evolución del BOHB ($X \pm DE$) en ovejas con toxemia subclínica inducida por ayuno (días 1 a 3) y tratadas durante 6 días (días 4 a 9) con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Grupo A), con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico + glicerol-propilenglicol (Grupo B), con glicerol-propilenglicol (Grupo C) y con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico en forma semanal desde el día 90 de la gestación (Grupo D). Las flechas indican comienzo y fin del tratamiento. (* $p = 0,01$ entre la muestra 1 y 3; ** $p = 0,01$ entre el Grupo A con respecto a los Grupos B y C; *** $p = 0,01$ entre D con respecto a los Grupos B y C)

La actividad sérica de la enzima AST al día 90 de gestación fueron similares ($p > 0,05$): Grupo A: $234,9 \pm 62,9$ U/L; Grupo B: $225,1 \pm 47,6$ U/L; Grupo C: $190,5 \pm 69,8$ U/L y Grupo D: $185,8 \pm 73,4$ U/L. situación que se mantuvo al inicio del ayuno ($p > 0,05$), registrándose los siguientes valores: $157,7 \pm 46,1$ U/L para el Grupo A; $126,3 \pm 44,9$ U/L para el Grupo B; $130,7 \pm 36,1$ U/L para el Grupo C y $151 \pm 46,0$ U/L para el Grupo D. En todos los grupos hubo un aumento similar ($p > 0,05$) en la actividad sérica de la AST desde el comienzo del ayuno hasta el fin de los tratamientos (Gráfica N° 6).

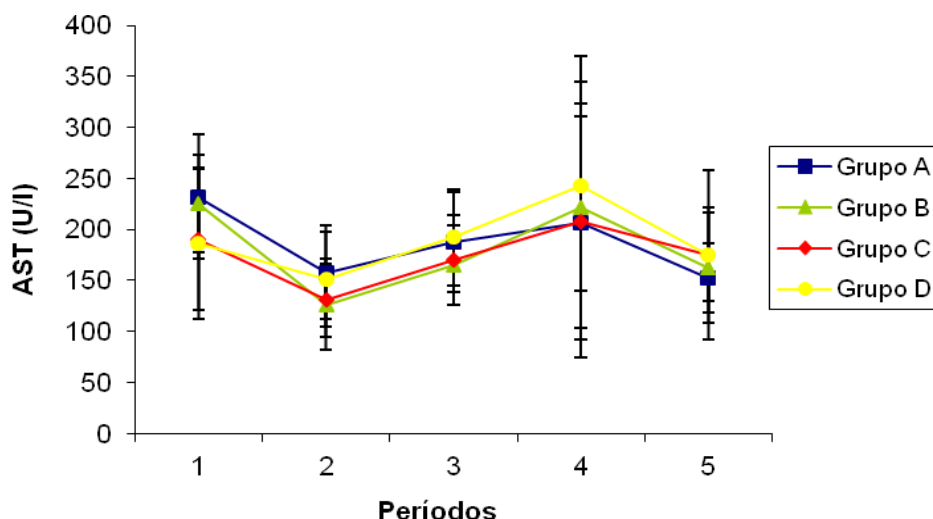


Gráfico N°6: Actividad sérica de la AST ($X \pm DE$) en ovejas con toxemia inducida por ayuno y tratadas durante 6 días con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Grupo A), con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico + glicerol-propilenglicol (Grupo B), con glicerol-propilenglicol (Grupo C) y con la aplicación semanal de ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico desde el día 90 de la gestación (Grupo D). Períodos 1: día 90 de la gestación, 2: día 130 de la gestación, 3: inicio del tratamiento, 4: final del tratamiento y 5: cinco días posparto

Al analizar las muestras de las biopsias hepáticas se registró una diferencia significativa ($p = 0,041$) entre el grupo D con los demás grupos. Si bien los animales fueron seleccionados por condición corporal para conformar los grupos en forma homogénea, esta diferencia se debió a que el estudio anatomopatológico de las muestras tomadas por biopsia hepática fue realizado luego de terminado el trabajo de campo. A pesar de esta diferencia observada en la primera muestra al día 90 de la gestación, al día 130 (momento del ayuno) ya no existieron diferencias significativas entre los cuatro grupos experimentales. Al inicio de los tratamientos todos los animales mostraron un aumento en la gravedad de la extensión de la acumulación grasa (Cuadro N° II) con respecto a la muestra 2 sin mostrar diferencias significativas entre los grupos experimentales. Al finalizar los tratamientos la extensión de la acumulación grasa siguió en aumento en los cuatro grupos experimentales sin mostrar diferencias significativas entre ellos. Recién a los 5 días posparto se registro un mejoría en la gravedad de la extensión de la acumulación grasa en todos los grupos tratados con Hepagen®, en cambio en el Grupo C tratado con Acetolena® se registró un 100 % de animales afectados en la zona III. Aunque esta mejoría puede ser vista al analizar los datos en porcentaje, no se registraron diferencias significativas entre los grupos.

Cuadro II. Distribución porcentual según la extensión de la acumulación grasa en hepatocitos de ovejas con toxemia subclínica inducida por ayuno y tratadas durante 6 días con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico (Grupo A), con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico + glicerol-propilenglicol (Grupo B), solo con glicerol-propilenglicol (Grupo C) y con ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico semanalmente desde el día 90 de la gestación. Resultados obtenidos de biopsias realizadas al día 90 de la gestación, al inicio del ayuno, inicio del tratamiento, final del tratamiento y 5 días posparto.

	Día 90 gestación	Comienzo ayuno	Inicio tratamiento	Fin tratamiento	5 días posparto
Grupo A					
Sin grasa	56%	50%	10%	0%	11%
Zona I	22%	38%	20%	0%	0%
Zona II	0%	0%	20%	0%	0%
Zona III	22%	12%	50%	100%	89%
Grupo B					
Sin grasa	82%	73%	0%	0%	12%
Zona I	28%	18%	0%	0%	0%
Zona II	0%	9%	0%	0%	0%
Zona III	0%	0%	100%	100%	88%
Grupo C					
Sin grasa	84%	42%	0%	0%	0%
Zona I	8%	17%	9%	0%	0%
Zona II	8%	8%	0%	8%	0%
Zona III	0%	33%	91%	92%	100%
Grupo D					
Sin grasa	30%	70%	0%	0%	13%
Zona I	20%	10%	27%	9%	0%
Zona II	0%	0%	9%	0%	0%
Zona III	50%	20%	64%	91%	87%

DISCUSIÓN EXPERIMENTO 2

Los valores de glucemia al día 130 de la gestación estuvieron todos dentro del intervalo de referencia para ovejas en este momento de la gestación (Contreras y col, 1990). Con el comienzo del ayuno se observó una drástica disminución de la glucemia en todos los animales, similar a lo sucedido en el experimento 1.

Los animales al momento de ser retirados del ayuno presentaban sus valores de glucemia debajo del límite inferior considerado como riesgo de cetosis subclínica. Aunque ya a las 24 horas de comenzado los tratamientos se produjo un incremento de ésta en los cuatro grupos experimentales, en el Grupo C tratado con glicerol-propilenglicol (Acetolena®) este ascenso fue más importante que en los Grupos A y D tratados únicamente con Hepagén®. Esto es debido a la acción diferencial de estos dos fármacos, como se mencionó en la discusión del experimento 1, el propilenglicol se absorbe mayoritariamente sin sufrir ningún metabolismo desde la pared del rumen a una tasa de 40 % por hora (Herdt y Emery, 1992; Emery y col, 1967), alcanzando su máxima concentración sanguínea a los 30 minutos de su administración. Su máxima conversión a glucosa ocurre aproximadamente a las 4 horas de su ingestión probablemente vía piruvato (Herdt y Emery, 1992). El glicerol se degrada en el rumen generando altas cantidades de propionato que es el principal precursor de la glucosa vía NG, produciendo una elevación de la glucemia por un período relativamente prolongado (Bonino y col, 1987; Hunt, 1976). En cambio, el ácido 2-metil-2-fenoxi-propiónico (Hepagén®), al unirse a los PPAR α los activa y produce la interacción de estos receptores con genes que participan en el metabolismo glucídico, ya que promueven la NG hepática, activando algunas de sus enzimas específicas (Schütze-Segen, 2008). Por lo tanto por su mecanismo de acción sus efectos son observados clínicamente en forma más lenta. A los 2 días postratamientos los cuatro grupos normalizaron sus valores de glucemia sin existir diferencias significativas entre ellos.

Según las concentraciones séricas de BHOB todos los animales al día 130 de la gestación se encontraban en una condición nutricional adecuada, ya que las concentraciones de este cuerpo cetónico es un buen indicador de subnutrición en ovinos criados en a campo (Russell, 1984). Las categorías realizadas por Russell y col (1977) para estimar el grado de subnutrición según las concentraciones de séricas de BOHB son las siguientes: valor normal de nutrición, BOHB < 0,7 mmol/L; subnutrición moderada, BOHB >0,7 y <1,6 mmol/L y subnutrición severa, BOHB >1,6 mmol/L. Luego de comenzado el ayuno se produjo un rápido incremento de los cuerpos cetónicos en sangre, mostrando a los 3 días los valores más elevados entre los grupos A y D con respecto a los grupos B y C. Esto se asemeja a lo encontrado por Cal (2007) que registró un aumento significativo del BOHB en sangre a los 2 días de comenzado el ayuno. West (1996) también informa de un aumento de las concentraciones séricas de BOHB en ovejas que fueron sometidas a ayuno pero no aclara en qué momento se da el mismo.

Si analizamos conjuntamente los valores de glucemia y BOHB en sangre de todos los animales de los cuatro grupos, y teniendo en cuenta que en este momento el 87 % de los animales presentaban valores de cetonemias superiores a 1,7 mmol/L y el 82 % de glucemias entre 1,1 a 2,2 mmol/L, y no mostraron síntomas clínicos de toxemia de la gestación, podemos asumir que estos animales presentaban toxemia de la gestación subclínica (Cal, 2007; Duffield, 2000).

Si bien la concentración de los cuerpos cetónicos en sangre comenzó a disminuir posterior al inicio de los tratamientos en los cuatro grupos experimentales, este descenso fue más notorio en los animales de los Grupos B y C manteniéndose más bajo que en los otros grupos mientras duraron los tratamientos. Estos resultados se asemejan a los reportados por Cal (2007), al usar Acetolena® para el tratamiento de la toxemia de la gestación subclínica, ya que como se mencionó más arriba el propilenglicol incrementa las concentraciones de piruvato con la consiguiente producción de oxalacetato vía piruvato carboxilasa (Emery y col, 1967). El aumento del oxalacetato a su vez produce el incremento de la concentración de citrato intramitocondrial que pasa hacia el citosol y forma malonil-CoA, que suprime el transporte de ácidos grasos hacia el interior de las mitocondrias (Aiello y col, 1984). Al disminuir el ingreso de NEFA a la mitocondria se ve reducida la cetogénesis hepática. Sumado a esto se produce el incremento de la glucemia por NG hepática por el aumento del propionato producido a partir del glicerol. El aumento de la glucosa sanguínea incrementa la relación insulina:glucagón lo que se suma al efecto anticetogénico anterior (Herdt y Emery, 1992).

Los animales tratados con Hepagén® (Grupo A y D) tuvieron un leve incremento de los cuerpos cetónicos, que puede ser explicado por el mecanismo de acción de este fármaco. El ácido 2 metil-2-fenoxi-propiónico al unirse a los PPAR α promueve la β -oxidación mitocondrial y peroxisomal al estimular la síntesis y activación de algunas enzimas que participan en estos procesos (Schütze-Segen, 2008), aumentando la producción de los cuerpos cetónicos.

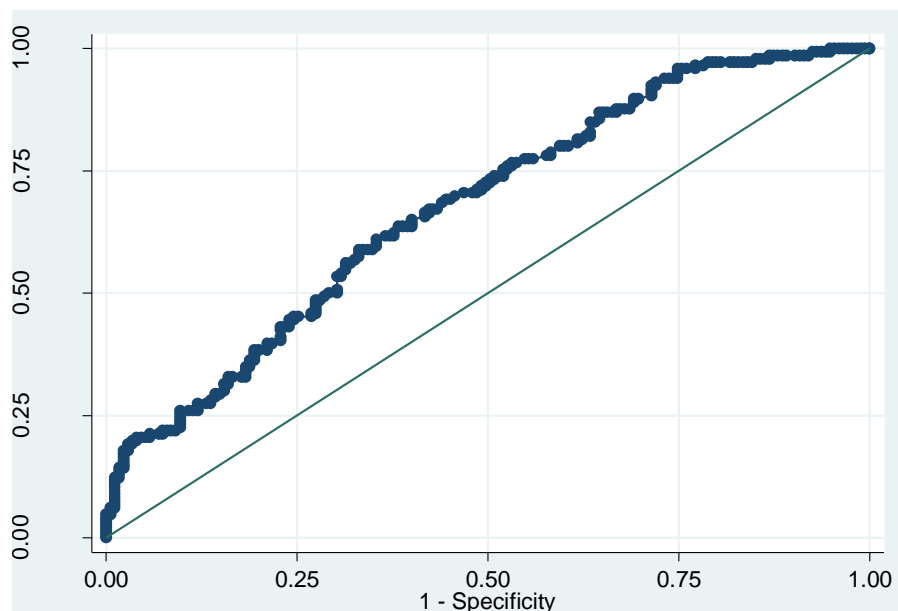
Con respecto a la lipidosis hepática producida a consecuencia de la toxemia subclínica, los grupos tratados con Hepagen® tuvieron una reducción en la gravedad de la lipidosis hepática al finalizar los tratamientos. Esta reducción fue observada tanto en los grupos en los cuales el Hepagén® se usó como tratamiento de la enfermedad metabólica (Grupo A y B), así como al usarse antes de producirse la enfermedad (Grupo D). Esto puede ser explicado por los mismos principios del experimento 1.

Con respecto a la actividad sérica de la enzima AST al día 130 de la gestación en el experimento 1, no hubo diferencias significativas entre los cuatro grupos experimentales, encontrándose en promedio un valor de 141 U/L el cual fue similar al encontrado por Cal (2007) en ovejas en la misma fecha de gestación. El comienzo del ayuno provocó el incremento de la actividad sérica de esta enzima en todos los animales, esto puede ser

debido a la gran movilización de las reservas grasas generada por la restricción alimentaria (Cal y col, 2009; Cal, 2007). La disminución de las concentraciones de AST fue observada a los 5 días luego del parto, posiblemente dado el tiempo necesario para lograr este fin.

En el año 2 los valores de AST se comportaron igual que en el año 1 pero no se registraron ni tendencias ni diferencias significativas entre los grupos. Este comportamiento de la enzima AST en el año 1 está de acuerdo con los resultados obtenidos en las biopsias hepáticas donde se observa que el grupo que menos responde al tratamiento en lo que refiere al hígado graso es el Grupo C, pero esto no sucede en el año 2, si bien el Grupo C es el que menos responde al tratamiento no es el que tiene los valores más altos de AST.

Estos datos si bien concuerdan con lo observado por Cal Pereyra (2007) quién afirma la existencia de una correlación positiva entre la actividad sérica de la AST y el grado de vacuolización hepática, al enfrentar la actividad sérica de la AST correspondiente al grado de vacuolización hepática en los animales mediante la curva de ROC que es un método estadístico que sirve para medir el poder discriminatorio de una prueba (en este caso la actividad de la enzima AST para evaluar grado de vacuolización hepática) muestra que la actividad de esta enzima tiene una baja capacidad para predecir la extensión de la lipidosis hepática (Gráfica N° 8). Esta pobre sensibilidad y especificidad puede ser debida a la gran variación registrada, ya que se encontraron animales con lipidosis hepática en la zona III que presentan baja actividad de AST y viceversa.



Gráfica N° 8. Curva ROC. Muestra el poder discriminatorio de la actividad sérica de AST con respecto al grado de extensión de la lipidosis hepática. Área debajo de la curva de ROC (ABC) = 0,067. ABC entre 0,5 a 0,7 indica baja exactitud, ABC entre 0,7 a 0,9 útil para algunos propósitos ABC mayor a 0,9 indica alta exactitud (Burgueño M.J y col, 1995).

CONCLUSIONES

Aunque las concentraciones séricas de glucosa y BHOB se recuperaron más lentamente en los grupos tratados únicamente con el ácido-2-metil-2-fenoxi-propionico, este fármaco se muestra como una alternativa eficaz para restablecer los desequilibrios del metabolismo energético desarrollado en esta enfermedad.

La lipidosis hepática generada en los casos de toxemia de la gestación clínica se observa una tendencia en la mejoría de esta patología al final del tratamiento en el grupo tratado con hepagen a diferencia de los demás grupos, la cual se ve acentuada a los 5 días pospart. Esta mejoría posparto también se observa en el segundo experimento donde se observó mayor recuperación de la lipidosis hepática en todos los grupos tratados con el mismo fármaco, incluso en el que se administró profilácticamente de forma semanal desde los 90 días de gestación. Esto demuestra su eficacia en revertir y atenuar los efectos de la lipidosis hepática que genera la toxemia de la gestación clínica y subclínica.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Aiello R J, Kenna T M, Herbein J H (1984). Hepatic gluconeogenic and ketogenic interrelationship in the lactating cow. *J. Dairy Sci.* 67:1707-1715
2. Andrews A H (1982). Effects of glucose and propylene glycol on pregnancy toxemia in ewes. *Vet. Rec.* 110 (4):84-85
3. Andrews A (1997). Pregnancy toxemia in the ewe. *Practice.*19(6):306-312
4. Ann Preece, H T (1972). Paraffin tissue processing method. En: *A manual for histologic technicians.* 3a. ed. Boston, Little, Brown p. 57-73
5. Baird G D, Van Der Walt J O, Bergman E N (1983). Whole-body metabolism of glucose and tate in productive sheeps and cows. *Br. J. Nutr.* 50:249-265
6. Bauchart, D. (1993). Lipid absorption and transport in ruminants. *J. Dairy. Sci.* 76:3864-3881
7. Bell A W (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73:2804-2819
8. Benedito Castellote J L (1986). Aportaciones a la Cetosis Subclínica. Tesis Doctoral. Universidad, Facultad de Veterinaria Murcia, 546 p
9. Bergman E N (1973). Glucose metabolism in ruminants as related to hypoglycaemia an ketosis. *Cornell Veterinarian* 63(3):341-382
10. Bertics S.J, Grummer R.R, Cadórniga-Valiño C, Stoddard E.E (1992). Effect of prepartum dry matter intake on liver trigliceride concentration and early lactation. *J. Dairy. Sci.* 75:1914-1922
11. Bines J A, Hart I C (1982). Metabolic limits to milk production, especially roles of growth hormone and insulin. *J. Dairy Sci.* 65:1375-1389
12. Bonino J, Sienna R, Sorondo, M L (1981) Toxemia de la preñez. Terceras Jornadas Veterinarias de Ovinos, Tacuarembó, Uruguay, p.1-21
13. Bonino J, Sienna R, Sorondo L (1987) Enfermedades causadas por trastornos metabólicos: toxemia de la preñez. En: Bonino J, Durán del Campo A, Mari J. *Enfermedades de los lanares II.* Montevideo, Uruguay: Hemisferio Sur; p.239-265
14. Borrelli P (2001) Producción animal sobre pastizales naturales. En: *Ganadería sustentable en la Patagonia Austral.* Ed. Borrelli P, Oliva G, INTA, Reg. Pat. Sur, 126-160. Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/ganaderia-ovina-sustentable-en-la-patagonia-austral-tecnologia-de-manejo->

[extensivo/at_multi_download/file/CapituloTME%205.pdf](#). Fecha de consulta: 15/10/2012.

15. Bouda J, M Paasch, O Yabuta. 1997. Desarrollo y empleo del método de diagnóstico preventivo de los trastornos ruminales y metabólicos en bovinos. *Vet. Mex.* 28:189-195
16. Brady PS, Marine KA, Brady LJ, Ramsay RR (1989). Co-ordinate induction of hepatic mitochondrial and peroxisomal carnitine acyl transferase synthesis by diet and drugs. *Biochem. J.* 260:93-100
17. Brokman R P (1990). Effects of insulin on the utilization of propionate in gluconeogenesis in sheep. *Br. J. Nutr.* 64:95-101.
18. Brockman R P, Laarveld B (1985) Effects of insulin on net hepatic metabolism of acetate and B-hidroxybutyrate in sheep (ovisaries). *Comp Biochem Physiol.* 81 A(2):255-257
19. Buckrell B C (1988). Application of ultrasonography in reproduction in sheep and goats. *Theriogenology* 29:11-20
20. Burgueño M.J., García J.L, Bastosy J.M y González Buitrago, (1995). Las curvas ROC en la evaluación de las pruebas diagnósticas. *Med. Clin.* 104: 661-670
21. Burt A D (2001). Steatosis and Steatohepatitis. *Curr. Diag. Pathol.* 7:141-147
22. Burt A D, Mutton A, Day C P (1998). Diagnosis and interpretation of Steatosis and Steatohepatitis. *Semin. Diag. Pathol.* 15:246-258
23. Cal Pereyra L (2007). Inducción experimental de la toxemia de la gestación ovina Aplicación en la explotación ovina en Uruguay, Tesis doctoral. Universidad de León, León, España, 131p
24. Cal Pereyra L; Acosta J; Benech A.; Da Silva S.; Martín A.; González Montaña JR (2012). Ewe pregnancy toxemia. Review. *Técnica pecuaria en México* 32:247-264
25. Cal Pereyra L, Borteiro C, Benech A, Rodas E, Abreu MN, Cruz JC, Gonzalez-Montaña R. (2009) Histological changes of the liver and metabolic correlates in ewes with pregnancy toxemia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61(2):306-312
26. Cantley C E L, Ford C M, Heath M F (1991). Serum fructosamine in ovine pregnancy toxemia: a possible prognostic index. *Vet. Rec.* 128: 525-526
27. Cardelino, R (2004). La situación y perspectivas del mercado internacional de lana: desafíos para Uruguay. Seminario de Producción Ovina, Propuestas para el negocio ovino, Paysandú, Uruguay p. 95-100

28. Catalano R, Sirhan L, Recabarren S (1995). "Flushing" en ovejas Merino precoz. II. Efecto del nivel de energía y proteína sobre la concentración plasmática de insulina, FSH y urea. *Av. Prod. Anim.* 20:165 –178
29. Chandler K D, Leury B J, Bird, A R, Bell A W (1985). Effects of undernutrition and exercise during late pregnancy on uterine, fetal and uteroplacental metabolism in the ewe. *Br. J. Nutr.* 53:625-635
30. Chilliard Y (1987). Variations qualitatives et métabolisme des lipides dans les tissus adipeux et le foie au cours du cycle gestation-lactation chez la brebis et la vache. *Reprod. Nutr. Dev* 27: 327-398
31. Chilliard Y, Ferlay A, Faulconnier Y, Bonnet M, Rouel J, Bocquier F (2000). Adipose tissue metabolism and its role in adaptations to undernutrition in ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* 59:127-134
32. Cirio A, Tebot I. (2000) La lipomovilización durante el parto y la lactación. En: Cirio A, Tebot I (eds) *Fisiología Metabólica de los Ruminantes*, Fac. Vet. p 81-113
33. Contreras P A, Möller I, Wittwer F, Tadich N (1990). Concentraciones sanguíneas de glucosa, colesterol, cuerpos cetónicos y actividad de aspartato aminotransferasa en ovejas con gestación única y gemelar en pastoreo rotacional intensivo. *Arch Med Met*, 22(1):65-69
34. Contreras P A (1998). Síndrome de movilización de grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños. *Arc Med Vet*, 30 (2):1-7.
35. Coppo JA, Mussart de Coppo NB. Bagazo de cítricos como suplemento invernal en vacas de descarte 2006 [Internet]. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/información_tecnica/suplementación/78-bagazo_citrus.pdf. Consultado Julio 17 de 2014
36. Coppo NB, Coppo JA, Lazarte MA (2003). Intervalos de confianza para colesterol ligado a lipoproteínas de alta y baja densidad en suero de bovinos, equinos, porcinos y caninos. *Rev Vet*, 14:3-10
37. Cruz J C, Cal Pereyra L, Abreu M N, Benech A, Borteiro C, Rodas E (2005). Biopsia hepática en ovinos: Modificación a la técnica de aspiración por aguja. *Revista Veterinaria (Montevideo)*, 40(159-160):15-17.
38. Demigné C, Yacoub C, Morand C, Remesy C (1988). Les orientations du métabolisme intermédiaire chez les ruminants. *Reprod Nutr Develop*, 28(1):1-17.

39. De Nicola A F (1985). Efectos moleculares de los glucocorticoides. En: Calandra R S, De Nicola A F. *Endocrinología Molecular* 3a.ed. Buenos Aires, Ed. El Ateneo p.199-219
40. De Brito Gomes M (2006). Glitazonas e síndrome metabólica: Mecanismos de Ação, fisiopatologia e indicações terapêuticas. *Arq Bras Endocrinol Metab* 50(2):271-280
41. Delgado M, NOVIK A, Cardemil M y SANTANDER A (2011). Utilidad de la medición de fructosamina como indicador de control en pacientes con diabetes gestacional y pregestacional. *Rev. méd. Chile* 139(11):1444-1450
42. Desvergne B, Wahli W (1999). Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear Control of Metabolism. *Endoc Rev*, 20(5): 649-688
43. Diez Prieto I, Cano Rábano M J, Castillo Rodríguez C, Pérez García C C (1998). Metabolismo energético de los rumiantes: aspectos de interés Fisiopatológico. En: Benedito Castellote J L, *Cetosis bovina. Bovis, Tratado de Veterinaria Práctica*, Madrid 80:13-29.
44. Duffield T (2000). Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet Clin of North Am: Food Animal Practice*, 16(2):231-251
45. East N (1983). Pregnancy toxæmia, abortions, and periparturient disease. *Vet Clin North Am* 5(3):601-617.
46. Egan D A, Cuill T O, Murrin M P (1970). Experimental pregnancy toxæmia of ewes. *Irish Vet. J.* 27(6):111-115.
47. Emery R S, Brown R W, Black A L (1967). Metabolism of DL-1,2-propanediol-2-14C in a lactating cow. *J Nutr.* 92:348-352.
48. Evans W, R Duncan. 2003. Proteins, lipids, and carbohydrates. En: Latimer K, Mahaffey E, Prasse K (eds). *Clinical Pathology*. 4a. ed. USA Blackwell Publishing, Iowa, p. 162-190
49. Forbes T J, Singleton A G (1964). Ovine pregnancy toxæmia: A review. *Brit. Vet. J.* 120(2):56-68.
50. Ford E J (1988). Toxemia de la gestación En: Martín W B, *Enfermedades de la oveja*. Zaragoza, Ed. Acribia, p.159-164
51. Ford E J, Evans J, Robinson I (1990). Cortisol in pregnancy toxæmia of sheep. *Brit. Vet. J.* 146:539-542
52. Foxworthy PS, Perry DN, Hoover DM, Eacho PI (1990). Changes in hepatic lipid metabolims associated with lipid accumulation and its reversal in rat given the peroxisome proliferator LY171883. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 106:375-383

53. Fromenty B, Benson A, Pessayre D (1977). Microvesicular steatosis and steatohepatitis: role of mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation. *J. Hepatol.* 26(1):13-22.
54. García Partida P (1976). Cetosis bovina. *Supl Cientif Bol Inf Consej General Coleg Vet España*, 204-205:43-78
55. Geenty, K. G. (1997). Mating and early pregnancy. En: Geenty K. G. 200 by 2000. *A Guide to Improved Lambing Percentage. Wools of New Zealand and Meat New Zealand. Producers Board, Wellington*, p. 33–57
56. Gibbons A (1996). Efecto de la esquila sobre el peso al nacimiento de los corderos merino en el sistema extensivo patagónico. *Curso Superior de producción animal, producción y alimentación. Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza, Trabajo Monográfico*, 1-13.
57. González Montaña J R (2003). Patología de la nutrición y del metabolismo: Obesidad. Hiperlipidemia. Síndrome de la vaca gorda o esteatosis hepática. Cetosis bovina. Toxemia de la gestación ovina. En: Fidalgo Alvarez L E, Rejas López J, Ruiz de Gopegui R, Ramos Antón J J (eds). *Patología Médica Veterinaria. Salamanca, Universidad de León, Universidad de Santiago de Compostela, Universidad de Zaragoza* p.330-379
58. González-Montaña JR, Rejas-López J (1995). Toxemia de la Gestación. *Med. Vet.* 12(9):513-522
59. Gulick T, Cresci S, Caira T, Moore DD, Kelly DP (1994). The peroxisome proliferator-activated receptor regulates mitochondrial fatty acid oxidative enzyme gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:11012-11016
60. Harmeyer J, Schlumbohm C (2006). Pregnancy impairs ketone body disposal in late gestating ewes: Implications for onset of pregnancy toxemia. *Res. Vet. Sci.* 81(2):254-264.
61. Hay W W Jr, Sparks J W, Wilkening R B (1983). Partition of maternal glucose production between conceptus and maternal tissues in sheep. *Am. J. Physiol.* 245(4):347-350
62. Heitmann R N, Dawes J D, Sensenig, S C (1987). Hepatic ketogenesis and peripheral ketones body utilization in ruminant. *J. Nutr.* 117:1174-1180
63. Heitmann R N, Fernandez J M (1986). Autorregulation of alimentary and hepatic ketogenesis in sheep. *J. Dairy Sci.* 69:1270-1281
64. Henze P, Bickhardt K, Fuhrmann H (1998). The contributions of the hormones insulin, cortisol, somatotropin and total estrogen to the pathogenesis of sheep ketosis. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 101(2):61-65.

65. Herdt, T H (1988a). Fatty liver in dairy cows. *Vet. Clin. N. Am.-Food. Anim. Pract.* 4:269-287
66. Herdt, T H (1988b). Fuel homeostasis in the ruminant. *Vet. Clin. N. Am.-Food. Anim. Pract.* 4:213-231
67. Herdt T H, Emery R S (1992). Therapy of diseases of ruminant intermediary metabolism. *Vet. Clin. N. Am.-Food. Anim. Pract.* 8(1):91-106
68. Hermes Toros X (2005). Farmacología do Fibratos. *Arq. Bras. Cardiol.* 85(5):15-16.
69. Hunt E R (1976). Treatment of pregnancy toxemia in ewes by induction of parturition. *Aust. Vet. J.* 52:338-339
70. INAC (2013). Cierre, evolución, indicadores y determinantes del consumo de carnes en Uruguay – 2012. Disponible en: http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/8174/1/cierre_2012_mercado_interno.pdf
71. Jeffrey M, Higgins R J (1992). Brain lesions of naturally occurring pregnancy toxemia of sheep. *Vet. Pathol.* 29(4):301-307
72. Koenig M V, Contreras P A (1984). Alteraciones del metabolismo energético en Rumiantes y sus principales manifestaciones clínicas. *Arch. Med. Vet.* 16(1):7-13
73. Kulcsár M, Dankó G, Delavaud C, Mircu C, Nikolic A J, Gáspárdy A, Cernescu H, Chilliard Y, Cseh S, Rudas P, Huszenisza G (2006). Endocrine characteristics of late pregnant hyperketonaemic ewes and their reproductive performance following the induction of ovarian cyclicity out of breeding season. *Acta Vet. Hung.* 54(2):235-249
74. Lapitz R, Evia G y Gudynas E (2004). Soja y Carne en el MERCOSUR, Comercio, ambiente y desarrollo agropecuario. CLAES, FFLA y D3E. Montevideo, 192p.
75. Latruffe N, CherkaouiMalki M, Nicolas Frances V, Jannin B, Clemencet M, Hansmannel F, Passilly.Degrace P, Berlot J (2001). Peroxisome Proliferator -activated receptors as physiological sensors of fatty acid metabolism: molecular regulation in peroxisomes. *Biochem. Soc. Trans.* 29(2):305-309
76. Lyndsay D B, Setchell B P (1976). The oxydation of glucose, ketone bodies and acetate by the brain of normal and ketonaemic sheep. *J. Physiol.* 259(3):801-823
77. Manazza, J (2006). Manejo de carneros y ovejas en servicio “a campo”. INTA EEA, Balcarce, Argentina. Disponible en:

www.produccion_animal.com.ar/produccion_ovina/produccion_ovina88-manejo_carneros_y_ovejas_en_servicio.pdf.

78. Manns J G (1972). Separation of pancreatic and gut glucagon-like immunoreactivity (G.L.I.) with observations on plasma concentrations of these hormones during lactation. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 50:554-560
79. Marteniuk J V, Herdt T H (1988). Pregnancy toxemia and ketosis of ewes and does. *Vet. Clin. N. Am.-Food Anim. Pract* 4(2):307-315
80. Martin W B (2002). *Enfermedades de la oveja*. Ed. Acribia, Zaragoza, 648 pp.
81. McCann J P, Ullmann M B, Temple M R, Reimers T j, Bergman E N (1986). Insulin and glucose responses to glucose injection in fed and fasted obese and lean sheep. *J. Nutr.* 116(7):1287-1297
82. McMullen S, Osgerby J, Milne J, Wallace J, Wathes D. (2005) The Effects of Acute Nutrient Restriction in the Mid-gestational Ewe on Maternal and Fetal Nutrient Status, the Expression of Placental Growth Factors and Fetal Growth. *Placenta* 26:25-33
83. MacSween R N, Burt D (1986). Histologic spectrum of alcoholic liver disease. *Semin. Liver Dis.* 6:221-232
84. Michaux J M, Fondeur S, Romdane M N, Mouthon G (1981). Les troubles du Métabolisme des corps cétoniques chez les mammifères Domestiques. *Rec. Méd. Vét.* 157(6):471-478
85. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) (2013). Disponible en: www.mgap.gub.uy/diea/anuario2013 [consultado el 10/07/2014]
86. Mitchell G M, Stratford B F (1987). The morphology of the ovine placenta in pregnancy toxemia. *Aust. Vet. J.* 64(7):221-223
87. Montossi F, De Barbieri I, Digiero A, Martinez H, Nolla M, Luzardo S, Mederos A, San Julián R, Saint W, Levratto J, Furgón J, Lima G, Costales J. (2005b). La esquila parto temprana: Una nueva opción para la mejora reproductiva ovina. En: Seminario de actualización técnica. Reproducción ovina: recientes avances realizados por el INIA, Treinta y Tres, Uruguay, p. 85-102
88. Montossi F, Digiero A, De Barbieri I, Nolla M, San Julian R, Brito G, Mederos A, Luzardo S, Castro L, Robaina R (2004). Producción de carne ovina de calidad del Uruguay: Una alternativa rentable y una apuesta para el futuro. En: Seminario de Producción Ovina, Propuestas para el negocio ovino, Paysandú, Uruguay, p. 62-84
89. Montossi F, Ganzabal A, De Barbieri I, Nolla M, Luzardo S (2005a). La mejora de la eficiencia reproductiva de la majada nacional: Un desafío posible, necesario e impostergable. En: Seminario de actualización

- técnica reproducción ovina: recientes avances realizados por el INIA, Treinta y tres, Uruguay, p. 1-16
90. Ndi bualonji B B, Godeau J M (1993). La neoglucogenese et les acides amines chez les ruminants: revue. *Ann. Med. Vet.* 137:537-554
 91. Oficialdegui R (2004). El negocio ovino en nuestros sistemas ganaderos. En: Seminario de Producción Ovina, Propuestas para el negocio ovino, Paysandú, 29 y 30 de julio de 2004, p. 134-144
 92. Orcasberro R (1985). Nutrición de la oveja de cria. En: Seminario Técnico de Producción Ovina N°. II, Salto, Uruguay, p. 91-107
 93. Ortolani E L, Benesi F J (1989). Ocorrência de toxemia de prenhez em cabras e ovelhas criadas no estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Fbc. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 26(2):229-234
 94. Osgerby J C, Wathes D C, Howard D, Gadd T S (2002). The effect of maternal undernutrition on ovine fetal growth. *J. Endocrinol.* 1:131–141
 95. Osmunsen H, Bremer J, Pedersen J L (1991). Metabolic aspects of peroxisomal betaoxidation. *Biochim. Biophys. Acta* 1085:141-148
 96. Pasquini A, Luchetti E, Cardini G (2008). Plasma lipoprotein concentration in the dog: the effects of gender, age, breed and diet. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 92(6):718-722
 97. Pastor J, Loste A, Sáez T (2001). La toxemia de la gestación en la oveja. *Pequeños Rumiantes* 2(3):18-24
 98. Payne J M (1977). *Metabolic diseases in farm animals*. London, Ed. Heinemann Medical Books, 206 p.
 99. Pell J M, Bergman E N (1983). Cerebral metabolism of amino acids and glucose in fed and fasted sheep. *Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 244:282-289
 100. Pethick D W, Lindsay D B (1982). Metabolism of ketone bodies in pregnant sheep. *Br. J. Nutr.* 48:549-563
 101. Petterson J A, Dunshea F R, Ehrhardt R A, Bell A W (1993). Pregnancy and undernutrition alter glucose metabolic responses to insulin in sheep. *J. Nutr.* 123:1286-1295.
 102. Prieto F (1994). Toxemia de la gestación. En: López Sebastián A. *Ovis, Tratado de Patología y Producción ovina*, Madrid. Ed. Sebastian A. p. 63-72.
 103. Radostits O M, Gay C C, Blood D C, Hinchcliff K W (2002). *Medicina Veterinaria Vol. II*, Ed. McGraw-Hill – Interamericana, 9a. ed. p. 1724-1736

104. Ranaweera A, Ford E J, Samad A R (1979). The effect of triamcinolone acetone on plasma glucose and ketone concentration and the total entry rate of glucose in twin pregnant hypoglycaemic ketotic sheep. *Res. Vet. Sci.* 26(1):12-16
105. Recabarren S E (2000). Sensibilidad tisular a la insulina antes, durante y después de un ayuno en ovejas prepúberes. *Arch. Med. Vet.* 32(2): 139-146
106. Reid L (1960). Studies on the carbohydrate metabolism of sheep. Further studies on hypoglycaemia and hyperketonaemia in undernourished pregnant ewes and in ewes with pregnancy toxemia. *Aust. J. Agric. Res.* 11(3):346-363
107. Reid R L (1968). The physiopathology of undernourishment in pregnant sheep, with particular reference to pregnancy toxemia. En: Brandly C, Cornelius C E. *Advances in Veterinary Science*. London, New York. Academic Press 12:163-238
108. Reid I M (1980). Incidence and severity of fatty liver in dairy cows. *Vet. Rec.* 107:281-284
109. Relling A, MAattioli G (2003). Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. Ed. Universidad de la Plata, Argentina, p. 40-50.
110. Rhind S H (2004). Effects of maternal nutrition on fetal and neonatal reproductive development and function. *Anim. Reprod. Sci.* 82:169-181
111. Robinson J J (1996). Nutrition and reproduction. *Anim. Reprod. Sci.* 42:25-34.
112. Rodriguez N R, Prigge E C, lough D S (1985). Glucogenic and hormonal responses to abomasal casein and ruminal volatile fatty acids infusions in lactating goats. *J. Dairy Sci.* 68:1968-1975
113. Romano J E, Rodas E, Lago I, Benech A, Ferreira A, Fernández F (1993). Efecto del progestágeno, PMSG y momento de la inseminación artificial a tiempo fijo en ovejas Corriedale durante la estación de cría. En: I Jornada Uruguay y II Latinoamericana de Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Salto, Uruguay.
114. Rook J S (2000). Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. *Vet. Clin. N. Am.-Food Anim. Pract.* 16(2):293-317
115. Ros E, Laguna J C (2006). Tratamiento de la hipertrigliceridemia: fibratos frente a ácidos grasos omega 3. *Rev. Esp. Cardiol.* 5:52-61
116. Russel A (1984). Means of assessing the adequacy of nutrition of pregnant ewes. *Livest. Prod. Sci.* 11:429-436.

117. Russel A Doney J M, Reid R L. (1977). The use of biochemical parameters in controlling nutrition state in pregnancy ewes and the effect of undernourishment during pregnancy of lamb birth weight. *J. Agric. Sci.* 68:351-358.
118. Salgado C (2004). Producción Ovina: Situación actual y perspectivas. En: Seminario de Producción Ovina. Propuestas para el negocio ovino,. SUL, Paysandú, p.7-13
119. Sargison N, Scott P, Penny C, Pirie R, Kelly J (1994). Plasma enzymes and metabolites as potential prognosis indices of ovine pregnancy toxemia. A preliminary study. *Br. Vet. J.* 150:271-276
120. Schlumbohm C, Harmeyer J (2004). Hyperketonemia impairs glucose metabolism in pregnant and nonpregnant ewes. *J. Dairy Sci.* 87:350-358
121. Schütze-Segen (2008). Receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPAR). Disponible en: www.schutze-segen.com/site/doctos/z_hepagen.pdf fecha de consulta: 24/11/2012.
122. Scott P, Woodman M P (1993). An outbreak of pregnancy toxemia in a flock of Scottish Blackface shepp. *Vet. Rec.* 133:(24):597-598
123. Scott, P. (1995). Differential diagnosis of common metabolic disorders of sheep. *In Practice*, 17:266–269
124. Secretariado Uruguayo de la Lana (SUL) (2006). Disponible en: www.sul.org.uy/uruguay.htm [consultado el 18/04/2012].
125. Siegel, S (1956). *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*. New York: McGraw-Hill, 312 p.
126. Sienra R, Bonino J, Larregui V, Echeguía M (1984). Toxemia de la preñez II. Inducción experimental y respuesta a la terapia con glicerol – propilenglicol. *Veterinaria (Montevideo)* 20(88-89):78-83
127. Sigurdsson H (1988a). The effects of pregnancy and feeding on the insulin and glucose concentrations in blood of ewes in late pregnancy. *Acta Vet. Scand.* 29:401-405
128. Sigurdsson H (1988b). Susceptibility to pregnancy disease in ewes and its relation to gestational diabetes. *Acta Vet. Scand.* 29:407-414
129. Sigurdsson H (1988c). The effects of flock, number of fetuses and age on some biochemical blood constituents in ewes in late pregnancy under field conditions. *J. Vet. Med.* 35:417-423
130. Sotillo Mesanza J (1992). Aportaciones al conocimiento de la cetosis caprina. Tesis doctoral. Universidad de Murcia, España, 164 p.

131. Steel R, Torrie J (1988). *Bioestadística: Principios y procedimientos*. 1a. ed. México, Ed. Mc Graw-Hill 622p.
132. Steiner G (2005). Fibrates and coronary risk reduction. *Atherosclerosis* 182:199–207
133. Stockhaus C, Van Den Ingh T, Rothuizen J (2004). A multistep approach in the cytologic evaluation of liver biopsy samples of dogs with hepatic diseases. *Vet. Pathol.* 41:461-470
134. Symonds E, Bryant J, Shepherd D, Lomax M. (1988) Glucose metabolism in shorn and unshorn pregnant sheep. *Br. J. Nutr.* 60:249-263
135. Tontis A, Zwahlen R (1987). Pregnancy toxemia of small ruminants with special reference to pathomorphology. *Tierarztl. Prax.* 15(1):25-29
136. Uauy R, Martínez J, Rojas C (2000). Nutrición molecular, papel del sistema PPAR en el metabolismo lipídico y su importancia en obesidad y diabetes mellitus. *Rev. Méd. Chile* 128(4):1-14
137. Unger R H (1972). Insulin/glucagon ratio. *Isr. J. Med. Sci.* 8:252-257.
138. Van Saun R J (2000). Pregnancy toxemia in a flock of sheep. *JAVMA*, 217, 10, 1536-1539.
139. Van Saun R J (2000). Pregnancy toxemia in a flock of sheep. *JAVMA* 217(10):1536-1539
140. Wastney M E, Wolff J E, Bickerstaffe R (1983). Glucose turnover and hepatocyte glucose production of starved and Toxaemic Pregnant sheep. *Aust. J. Biol. Sci.* 36:271-284
141. West H J (1996). Maternal undernutrition during late pregnancy in sheep. Its relationship to maternal condition, pregnancy length, hepatic physiology and glucose metabolism. *Br. J. Nutr.* 75:593-605
142. Wierda A, Verhoeff J, Van Dijk S, Dorresteyn J, Wensing T (1985). Effects of Trembolone acetate and propilene glycol on pregnancy toxemia in ewes. *Vet. Rec.* 116:284-287
143. Wierzbicki A S (2007). Peroxisomal disorders affecting phytanic acid alpha oxidation: a review. *Biochem. Soc. Trans.* 35(5):881-886