



La hipocalcemia en la vaca lechera. Revisión



Carlos Fernando Arechiga-Flores ^{a*}

Zimri Cortés-Vidauri ^a

Pedro Hernández-Briano ^a

Renato Raúl Lozano-Domínguez ^a

Marco Antonio López-Carlos ^a

Ulises Macías-Cruz ^b

Leonel Avendaño-Reyes ^b

^a Universidad Autónoma de Zacatecas. Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. El Cordovel, Enrique Estrada, Zacatecas, México.

^b Universidad Autónoma de Baja California. Instituto de Ciencias Agrícolas. Mexicali, B.C. México.

*Autor de correspondencia: arechiga.uaz@gmail.com

Resumen:

Los niveles de calcio (Ca) disminuyen en sangre y citosol al momento del parto, alterando la transmisión del impulso nervioso, la contracción muscular y la actividad de las células inmunes. En el sistema nervioso el Ca participa en la conducción de estímulos. En el sistema muscular disminuye la contracción causando alteraciones en músculo liso, útero y glándula mamaria. En el útero hay retención y almacenamiento de fluidos y desechos uterinos, con complicaciones bacterianas. En el sistema inmune, es importante la función de los neutrófilos y se manifiesta con una disminución de células dedicadas a la fagocitosis predisponiendo a mastitis y metritis. En la hipocalcemia bovina se distinguen dos presentaciones: clínica y subclínica. En la clínica (valores de Ca inferiores a 5.5 mg/dl) se altera la homeostasis con

pérdida de apetito, decúbito y letargo. La hipocalcemia subclínica es más común (Ca entre 8.0 y 5.5 mg/dl), y no se altera la homeostasis, pero si se reduce la contracción muscular y la función inmune. El tratamiento se basa en la aplicación de calcio vía oral en vacas de pie, y vía endovenosa en las vacas postradas. La prevención depende de la inclusión de raciones que contengan sales aniónicas con lo cual se favorece el estímulo de mantener los niveles de Ca sanguíneos para controlar el nivel de cationes y aniones. Además, se puede administrar Ca vía oral. La homeostasis de calcio en la lactancia es regulada por la hormona serotonina, que estimula a la hormona paratiroidea y la reabsorción ósea en los osteoclastos.

Palabras clave: Hipocalcemia, Vaca lechera, Homeostasis, Calcio, Serotonina, Metritis.

Recibido: 22/02/2019

Aceptado: 12/03/2020

Introducción

El periodo de transición de la vaca lechera comprende 3 semanas antes y 3 semanas después del parto⁽¹⁾ y ocurren varios cambios fisiológicos en la obtención de nutrientes para el proceso de parto, expulsión de membranas fetales y producción de calostro y leche. Por ello, los niveles circulantes de calcio (Ca) disminuyen en sangre y citosol^(2,3). La homeostasis o autorregulación del Ca normalmente utiliza el siguiente mecanismo de retroalimentación: disminuye la concentración del calcio ionizado (iCa^{2+}), estimulando a la glándula paratiroides a secretar la hormona paratiroidea (PTH). La PTH se une a sus receptores hormonales en riñones y tejido óseo. En los riñones, la PTH incrementa la reabsorción renal de Ca así como el incremento en la producción de 1,25-dihidroxitamina D, la forma activa de la vitamina D⁽⁴⁾. La vitamina D, estimula a las células epiteliales del intestino para incrementar el transporte activo de Ca⁽⁵⁾. Si el calcio en la dieta es insuficiente para generar la homeostasis, el mecanismo se dirige al tejido óseo⁽⁴⁾. Las vacas lecheras, inician lentamente la reabsorción del Ca del tejido óseo, pero la demanda acelerada de la glándula mamaria, induce una hipocalcemia clínica⁽²⁾. La glándula paratiroidea (PTH), participa en la homeostasis del Ca, pero existe también la función de la proteína paratiroidea (PTHrP), secretada en glándula mamaria⁽⁶⁾. La hormona serotonina se encarga de estimular la producción de la proteína PTHrP⁽⁷⁾.

El Ca sérico está presente en tres formas: calcio iónico (iCa^{2+}) o libre (50 % del calcio total), unido a proteínas (aproximadamente 40 %) y en forma de complejos con aniones (10 %). El iCa^{2+} es el único calcio biológicamente activo. El calcio participa en la función nerviosa, muscular e inmunitaria⁽⁸⁻¹⁰⁾. A nivel nervioso, participa en la conducción de los estímulos. A

nivel muscular, en la contracción muscular, y en la parte inmunitaria, con la función de las células inmunes. Por lo tanto, las vacas con hipocalcemia alteran estas funciones dependiendo de la severidad en la disminución del calcio. Existen dos tipos de hipocalcemia: 1) clínica y 2) subclínica. El propósito de ésta revisión es evaluar en forma sucinta la incidencia de la hipocalcemia, así como sus consecuencias en la función inmune, metritis y mastitis⁽¹¹⁻¹³⁾.

Hipocalcemia

La hipocalcemia es una enfermedad metabólico-nutricional, causada por la disminución del Ca sanguíneo. Generalmente ocurre después del parto, su presentación puede ser clínica y subclínica.

Hipocalcemia clínica

La hipocalcemia clínica también conocida como fiebre de leche o paresia puerperal, se caracteriza por un desequilibrio momentáneo en la regulación de la concentración del calcio (Ca) en sangre entre 48-72 h postparto. Los niveles séricos de Ca disminuyen hasta 5.5 mg/dl, con la subsiguiente alteración en la homeostasis⁽¹⁴⁻¹⁵⁾. Esta enfermedad ocasiona grandes pérdidas económicas en las unidades de producción lechera, fundamentalmente debido al costo de los tratamientos, las complicaciones secundarias y las muertes que ocasiona⁽¹³⁾. Entre los factores de riesgo de la hipocalcemia se consideran: 1) la edad de la vaca, 2) la demanda elevada de Ca para producir calostro y leche, 3) la dieta consumida durante el periodo de transición. Los animales recuperados de un cuadro de hipocalcemia puerperal, producen 5 a 15 % menos leche en esa lactancia⁽¹⁴⁻¹⁵⁾. Es decir, se altera la homeostasis del Ca⁽¹⁶⁾, afectando principalmente a vacas altas productoras, mostrando pérdida de apetito, decúbito y letargo. Su incidencia varía de 5 a 7 %⁽¹⁴⁻²¹⁾ y se incrementa conforme transcurren las lactancias. El calcio se relaciona con la contracción muscular. Durante la fiebre de leche no se mantienen la contracción y el tono muscular en los sistemas gastrointestinal y cardiovascular, pudiendo causar la muerte del animal. La función inmune disminuye^(2,22), y se incrementa el riesgo de enfermedades del postparto como mastitis, retención de membranas fetales (RMF), metritis y desplazamiento de abomaso^(11-14,23-26). Los signos clínicos de la hipocalcemia se dividen en tres fases⁽¹¹⁾. En la fase I, la vaca no presenta paresia, incluso puede pasar inadvertida, sus signos son tenues y transitorios; se muestra hipersensible, nerviosa, excitable, con temblores musculares, anorexia, ataxia y debilidad general. Algunas vacas pierden peso rápidamente y arrastran sus miembros traseros. El animal evita caminar o desplazarse, no se alimenta, la temperatura corporal puede ser normal y puede permanecer varias horas en ese estado. Algunas vacas presentan signos clínicos de hipocalcemia similares a los descritos, pero sin haber parido. Esta alteración generalmente se presenta después de períodos de estrés o disminución del consumo de materia seca. Esta

condición es más común en vacas en estro o celo, con severos trastornos digestivos o mastitis tóxica severa. Puede presentarse hipocalcemia transitoria en vacas con anorexia y baja motilidad intestinal⁽¹⁷⁾.

La fase II, (podrómica), presenta depresión moderada a severa, parálisis parcial y el signo característico de echarse con el cuello doblado y con la cabeza dirigida hacia el flanco. La tetania observada en la primera fase, avanza a imposibilidad para levantarse, paresia y decúbito prolongado, extremidades frías, hocico seco y temperatura superior a la normal (36.5 a 38 °C); pulso arterial débil, ruidos cardiacos, apenas audibles y moderada frecuencia cardiaca (80/min). Se detecta ausencia de movimientos ruminales que pueden conducir a estados de agotamiento secundario.

La fase III, es la más severa. El animal presenta decúbito lateral completo. Depresión cardiaca severa y pulso irregular (casi imperceptible), respiración superficial disminuida. Los animales sin una terapia establecida, mueren en pocas horas, con presentación de un estado de choque. El diagnóstico de fiebre de leche se basa en la historia del animal, edad de la madre y concentración sérica del calcio. La disminución sérica de los niveles de magnesio y fósforo se pueden asociar con eosinopenia y linfopenia (hiperactividad adrenal), pero estos últimos no son específicos. Es necesario realizar el diagnóstico diferencial con esteatosis hepática, endometritis séptica, mastitis y acidosis ruminal aguda.

Hipocalcemia subclínica

Se presenta al disminuir el Ca sanguíneo a niveles menores de 2.00 a 1.38 nM, pero se mantiene la homeostasis⁽¹⁴⁾. La concentración normal de Ca es de 8.5 a 10 mg/dl (2.1 a 2.5 nM). Puede iniciar 12-24 h después del parto, cuando se registra la menor concentración de Ca, y se incrementa a mayor número de lactancias, llegando a incidir hasta en un 50 % de las vacas^(2,14,20,27-28). Es por ello, que la hipocalcemia subclínica es más costosa⁽²⁹⁻³⁰⁾. La disminución en Ca sanguíneo se relaciona con la transmisión de impulsos nerviosos que conducen a una menor contracción muscular; con menor motilidad ruminal y abomasal, con el subsiguiente desplazamiento del abomaso y menor consumo del alimento^(14,31). Por ejemplo, con la reducción del nivel sanguíneo del Ca a 7.5 y 5 mg/dl, se disminuye la motilidad abomasal de las vacas en un 30 a 70 %, respectivamente⁽³²⁾. Sus efectos en la contracción muscular también previenen el cierre efectivo del conducto del pezón mamario (teta), lo cual contribuye a la presentación de mastitis, y sus consecuencias biológicas y económicas⁽¹³⁻¹⁴⁾. Además de la relación del Ca con la contracción muscular, el Ca también afecta la función inmune y la secreción de insulina⁽¹²⁾. La función de los neutrófilos disminuye, al disminuir la concentración citosólica de calcio ionizado (iCa^{2+}) en las células mononucleares de la sangre periférica^(2,33). Por lo cual, la severidad del problema se manifestará con desórdenes secundarios relacionados con producción y reproducción, como

retención de membranas fetales y metritis^(12,30-33). El iCa^{2+} corresponde aproximadamente al 50 % del calcio total, el restante se encuentra unido a proteínas y es biológicamente inactivo. Las vacas con hipocalcemia subclínica disminuyen la secreción de insulina, e incrementan la concentración sanguínea de glucosa^(3,33-35). Debido a que se reduce el ingreso de glucosa en los tejidos periféricos, como sucede en el período de resistencia a la insulina durante el posparto de la vaca lechera⁽³⁶⁾. El citosol de las células pancreáticas requiere iCa^{2+} , que disminuye durante la hipocalcemia, para la liberación de insulina⁽³⁵⁻³⁷⁾. La disminución de insulina permite la liberación de la hormona lipasa, responsable de participar en la lipólisis. Lo anterior, incrementa la concentración plasmática de ácidos grasos no esterificados (NEFA)^(12,20,23,27,37-39) con su correspondiente riesgo de cetosis⁽²³⁻²⁵⁾ por elevación de los cuerpos cetónicos: acetona, β -hidroxibutirato y ácido acetoacético en el torrente circulatorio.

Función inmune

El sistema inmune contiene células y moléculas con capacidad de reconocer y eliminar a los microorganismos invasores o extraños; es regulado por medio de la concentración citosólica de calcio iónico⁽⁸⁻¹⁰⁾. La unión [Antígeno-Receptor] de la célula inmune, desencadena una serie de eventos que se caracterizan por el aumento de iCa^{2+} en el citosol y agotamiento de las reservas de iCa^{2+} en el retículo endoplásmico; esto se continúa con la obtención de iCa^{2+} adicional proveniente del espacio extracelular⁽⁴⁰⁾. La hipocalcemia reduce la concentración citosólica de iCa^{2+} en las células mononucleares de la sangre, reduciendo también la función inmune⁽²⁾. Las bombas ATPasa para iCa^{2+} de los retículos sarcoplásmico y endoplásmico regulan la entrada y reposición de iCa^{2+} en el retículo endoplásmico⁽⁴¹⁾. El incremento citosólico de iCa^{2+} se necesita para la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales, su trans migración hacia los tejidos, quimiotaxis y fagocitosis⁽⁴²⁾. Esto se podría alterar en los casos de disminución del iCa^{2+} extracelular. Además, para las funciones de las células inmunes también se requiere el control en la magnitud, la amplitud y la duración del destino de iCa^{2+} en la célula inmune⁽⁴³⁾. La inmunidad puede ser innata y específica.

Inmunidad innata

La inmunidad innata se activa rápidamente y constituye la primera defensa inmune al iniciar la infección. Depende de fagocitos como neutrófilos polimorfonucleares, macrófagos y células epiteliales mamarias. Los macrófagos identifican y reconocen los patógenos extraños, producen citocinas (interleucina- 1γ , interleucina-6 y factor de necrosis tumoral- α) para iniciar la respuesta inmune, así también, reclutan neutrófilos polimorfonucleares. Además, fagocitan y eliminan a los patógenos invasores y constituyen un puente entre la respuesta innata y la respuesta específica a través del complejo mayor de histocompatibilidad clase II, para preparar células T⁽⁴⁴⁾. Después del inicio de la respuesta inflamatoria, las células predominantes son los neutrófilos polimorfonucleares, los cuales por medio de la circulación

sanguínea se dirigen por quimiotaxis, a localizar el lugar de invasión⁽⁴⁵⁾. Los neutrófilos polimorfonucleares, así como los macrófagos, engloban y eliminan a los microorganismos extraños. En los fagocitos activados se desencadena el estallido oxidativo (estallido respiratorio) por medio de la activación de la enzima nicotinamida-adenina-dinucleótido fosfato (NADPH) que cataliza la reducción de oxígeno hacia el anión superóxido, extremadamente tóxico para los microorganismos extraños. Finalmente, los microorganismos extraños son eliminados por exocitosis. En la hipocalcemia^(12,22) se reduce la función de los neutrófilos, se disminuye el porcentaje de neutrófilos dedicados a la fagocitosis^(3,12,22,33-34), se debilita la respuesta celular mononuclear al estímulo antígeno-activado⁽²⁾ y se reduce la respuesta del estallido oxidativo después de la incubación con bacterias patógenas⁽³⁾. En los neutrófilos de vacas con hipocalcemia subclínica, se ha observado que el nivel citosólico de iCa^{2+} se reduce más rápidamente que en vacas normocalcémicas, por consiguiente, la afluencia de calcio no es suficiente para mantener y utilizar el iCa^{2+} citosólico, o reaprovisionar los depósitos del retículo endoplásmico, o los dos. Esto conlleva a una disminución de su capacidad para fagocitar y eliminar a las bacterias patógenas⁽³⁾. La reducción de la respuesta inmune conduce a la manifestación de otras infecciones de origen bacteriano como mastitis⁽²³⁻²⁴⁾ y metritis^(12,46-48).

Inmunidad específica

Depende de anticuerpos, macrófagos y linfocitos T y B que reconocen microorganismos específicos⁽⁴⁷⁾. Esta inmunidad se activa en caso de persistir la infección. Las células T se subdividen en linfocitos T colaboradores y linfocitos T citotóxicos. Las células colaboradoras producen citocinas, como interleucina (IL-2) e interferón gamma (IFN- γ), cruciales en la respuesta inmune. Las células T citotóxicas reconocen y eliminan células infectadas con un antígeno, así como a las células inmunes predecesoras o células dañadas, que, al estar presentes, incrementan la susceptibilidad de la infección. Los linfocitos B se diferencian en células plasmáticas que producen anticuerpos o inmunoglobulinas (Igs): IgG₁, IgG₂ e IgM, o células de memoria⁽⁴⁷⁾.

Metritis

La metritis (metritis puerperal) es una complicación bacteriana posparto que puede ser causada por una menor contracción del músculo uterino (miometrio), facilitando el ingreso y proliferación de bacterias en el útero, o por una menor actividad de las células inmunes. Ambos factores causados por la hipocalcemia. Esta infección puede conducir a consecuencias negativas en la función reproductiva durante el período posparto⁽⁴⁸⁻⁴⁹⁾. En los primeros 65 días postparto, el porcentaje de gestación a primer servicio se ha encontrado en 39.4 % en vacas con diagnóstico de metritis, 38.7 % en vacas con endometritis clínica y 51.4 % en las vacas sin infección uterina⁽⁵⁰⁾. La función inmune se compromete antes de la

metritis. Los neutrófilos circulantes en éstas vacas han presentado disminución de glicógeno en el momento del parto, y los monocitos estimulados por la bacteria *Escherichia coli* han reducido la expresión del factor de necrosis tumoral- α ⁽⁵¹⁾.

La metritis se caracteriza por aumento del tamaño uterino, por descargas uterinas acuosas color rojo oscuro y de olor fétido, asociadas con decaimiento, inapetencia, frecuencia cardiaca elevada, fiebre y disminución en la producción de leche⁽⁵²⁻⁵⁴⁾. Existen factores predisponentes como la retención de las membranas fetales (RMF)⁽⁵⁵⁾, la maceración fetal y distocias⁽⁵³⁻⁵⁸⁾. La incidencia de metritis varía de 2.2 a 37.3 %⁽⁵⁹⁾. A nivel de hato, los factores de mayor riesgo para la presentación de la metritis son el tamaño del hato (mayor en hatos grandes), época del año (mayor en noviembre y abril), número de parto (mayor en animales de tres partos o menos), distocia y retención placentaria⁽⁶⁰⁻⁶¹⁾. El proceso de la infección es como sigue: después del parto, el cérvix y el canal cervical permanecen abiertos durante algunos días para la expulsión de los fluidos y los desechos del útero, por medio de la contracción de la musculatura uterina⁽⁶²⁻⁶⁵⁾. Este proceso es más eficiente en vacas normocalcémicas vs hipocalcémicas^(60,66-69). Las vacas hipocalcémicas son más propensas a la retención y al estancamiento de fluidos, y desechos uterinos, y por consiguiente a un mayor riesgo de complicaciones bacterianas^(60,66-69). El estancamiento de fluidos y desechos es un excelente medio para la multiplicación bacteriana⁽⁷⁰⁻⁷³⁾. La abertura del cérvix permite la entrada de bacterias al útero, aunque su presencia no necesariamente desarrollará la infección. En la mayoría de las vacas se han aislado bacterias después del parto^(60,74-75), pero se controla con la acción de los neutrófilos y otros leucocitos^(57-60,67,76-79). Los cuales emigran hacia el lumen uterino como respuesta a la presencia de bacterias, y generalmente son capaces de controlar las poblaciones bacterianas hasta eliminar la infección. La vaca permanece sana y realiza su periodo posparto normal: producción de leche, y una nueva concepción y gestación. Lo anterior, sin embargo, no siempre sucede. En algunas vacas con hipocalcemia subclínica⁽¹²⁾, los neutrófilos no detienen la infección, crecen las poblaciones bacterianas y las hembras presentan descargas purulentas y fétidas, características de metritis⁽⁸⁰⁻⁸¹⁾. En el diagnóstico de gestación por medio de palpación rectal, el útero presenta un aumento de tamaño y la inflamación de éste, suprime el crecimiento y desarrollo folicular postparto⁽⁷⁹⁻⁸²⁾. Las vacas presentan fiebre y permanecen deprimidas e inapetentes. La falta del consumo adecuado de alimento predispone a la presencia de otros desórdenes como desplazamiento de abomaso y el complejo hígado graso/cetosis. Sí la inflamación continua, generalmente progresa hacia una endometritis, la cual compromete enormemente la fertilidad de la vaca. Las vacas con hipocalcemia subclínica presentaron menor tasa de gestación y mayor intervalo del parto a la concepción en comparación a las vacas normocalcémicas; el riesgo de metritis disminuye con niveles altos de Ca en sangre⁽¹²⁾.

Mastitis

Se reconocen dos modelos de transmisión de la mastitis: mastitis ambiental y mastitis contagiosa⁽⁸³⁾.

Mastitis ambiental

Algunos microorganismos normales del ambiente como *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp, *Pseudomona* spp, *Proteus* spp y algunas bacterias gram-positivas como *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae*, son los involucrados en provocar la mastitis ambiental⁽⁸⁴⁻⁸⁷⁾. La vaca utiliza inmunidad innata para combatir a la mastitis ambiental, con barreras físicas como el esfínter del pezón; barreras químicas como la queratina y la lactoferrina, y componentes del sistema inmune como los macrófagos, las células dendríticas, los mastocitos, los neutrófilos, los eosinófilos y las células naturales asesinas (NKC's)⁽⁸⁸⁻⁹³⁾. La hipocalcemia afecta al canal del pezón y a los neutrófilos. Puede influir sobre el sistema inmune a través de la secreción de cortisol durante el parto. El canal del pezón es la primera línea de defensa contra la mastitis debido a que es el camino por el cual los patógenos pueden ingresar a la glándula mamaria. El canal se sella entre los ordeños y durante el período seco mediante un tapón de queratina derivado del revestimiento del epitelio estratificado del canal. Probablemente, la función principal de este tapón ceroso sea establecer una barrera física para prevenir la penetración bacteriana. El pezón dispone de músculos en su esfínter que lo mantienen cerrado entre una ordeña y otra. Después del ordeño, se necesitan dos horas para la contracción del esfínter y cierre del canal del pezón⁽⁹⁴⁾. El calcio, disminuye al momento del parto, tanto en la circulación sanguínea como en los depósitos internos de las células sanguíneas⁽²⁾. Normalmente, el nivel de calcio se reestablece en pocos días. En las vacas con hipocalcemia, se acentúa ésta disminución, lo que conduce a otras alteraciones vinculadas con el Ca. En las vacas con hipocalcemia subclínica probablemente el esfínter del pezón permanece distendido durante más tiempo debido a una ineficiente contracción muscular causada por la deficiencia de Ca. Aunado a ello, al iniciar la lactancia, las vacas permanecen postradas durante periodos largos, en comparación a las vacas normocalcémicas. Esto facilita el ingreso de patógenos ambientales a través del canal del pezón, que llegan a la cisterna de la glándula mamaria, en donde proliferan y por consiguiente inducen la mastitis⁽⁹⁵⁾. La lactoferrina es una proteína que ejerce diferentes funciones relacionadas con la inmunidad innata, se sintetiza en los neutrófilos⁽⁹⁶⁾ y presenta gran afinidad por el hierro (Fe; actividad quelante), por lo que se une al hierro libre y lo reduce. Los microorganismos requieren Fe para su crecimiento⁽⁹⁷⁻⁹⁹⁾, su efecto bacteriostático impide la proliferación bacteriana⁽¹⁰⁰⁻¹⁰¹⁾, aunque la lactoferrina también puede actuar como bactericida⁽¹⁰²⁾. En la hipocalcemia se reduce la función de los neutrófilos^(3,22), y disminuye la actividad de la lactoferrina, generando una mayor incidencia de mastitis en vacas hipocalcémicas.

La hipocalcemia puede reducir la función inmune a través del cortisol al momento del parto. El feto inicia el parto en la vaca, estimulando al eje hipotálamo-hipófisis-adrenal e incrementando la secreción de cortisol. El cortisol cambia la ruta esteroidogénica, en lugar de dirigirla hacia la síntesis de progesterona (P4), la orienta hacia la síntesis de estradiol (E2). Como resultado, se reduce la síntesis de progesterona y se incrementa la de estradiol, induciendo el parto. La secreción de cortisol aumenta considerablemente en las vacas con hipocalcemia. La secreción de cortisol es mayor en vacas hipocalcémicas que en las vacas normocalcémicas⁽¹⁰³⁾. Además, el cortisol es considerado un agente inmuno-supresivo muy potente y probablemente aumente la inmunosupresión observada en la vaca durante el parto⁽¹⁰⁴⁾, con el subsiguiente riesgo de incidencia de mastitis.

Mastitis contagiosa

Los microorganismos involucrados en la mastitis contagiosa son: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Mycoplasma spp*⁽¹⁰⁵⁻¹⁰⁶⁾. La difusión de la bacteria responsable de la infección, se presenta durante el ordeño, por prácticas como el uso compartido de toallas para lavar y secar ubres, por medio de manos contaminadas de los ordeñadores y uso de las pezoneras del ordeño mecánico sin desinfectarse entre vaca y vaca. El empleo de guantes o toallas individuales, así como el ordeño en forma separada y el ordeño de las vacas infectadas hasta el final, con previa desinfección de las unidades de ordeño, ayuda a prevenir la infección⁽¹⁰⁷⁻¹⁰⁹⁾.

Tratamiento

El tratamiento debe aplicarse inmediatamente. La mejor opción es aplicar calcio por vía oral en las vacas que aún permanecen de pie. El nivel de calcio sanguíneo se incrementa en el transcurso de 30 min después de su administración⁽¹¹⁰⁾, y se mantiene elevado durante 4 a 6 h⁽¹¹⁰⁻¹¹¹⁾. El tratamiento endovenoso incrementa rápidamente los niveles de calcio sanguíneo, pero esta elevación puede ser extremosa y potencialmente peligrosa, pudiendo ocasionar complicaciones cardíacas fatales, por lo cual no es recomendable administrarlo en vacas que aún permanecen de pie⁽¹¹²⁾. Posterior al tratamiento endovenoso el nivel de Ca sanguíneo se reduce nuevamente a concentraciones menores a lo normal; por consiguiente la vaca vuelve a mostrar hipocalcemia en un lapso de 12 a 18 h⁽¹¹²⁻¹¹³⁾. Incluso, la dosificación de Ca por vía endovenosa suspende la capacidad del animal para movilizar el Ca necesario y cubrir los requerimientos en los momentos críticos⁽¹¹¹⁻¹¹³⁾. Experimentalmente, la arritmia inducida con atropina se ha revertido alternando estados de hipercalcemia e hipocalcemia en las vacas lecheras⁽¹¹⁴⁾. Para vacas en las fases II y III de la enfermedad clínica, se debe administrar de inmediato, 500 ml de solución de gluconato de calcio al 23 % vía intravenosa lenta. Esto proporciona 10.8 g de calcio elemental, lo cual es suficiente para corregir la deficiencia de calcio total en la vaca (4-6 g). La administración de Ca por vía endovenosa es poco

recomendable⁽¹¹⁵⁾. En vacas que responden favorablemente al tratamiento, es importante reforzarlo con administración vía oral 12 h después de su recuperación, para evitar recaídas⁽¹¹¹⁾.

Prevención

La hipocalcemia se previene manipulando la dieta y administrando calcio por vía oral⁽¹¹³⁻¹¹⁹⁾.

Manipulación de la dieta

Se administran dietas con bajo nivel de calcio (LCD) y se ajusta la ración para cubrir las necesidades nutricionales considerando la diferencia catión-anión en la dieta (DCAD). La alimentación con LCD conduce a una hipocalcemia transitoria, con la subsiguiente reabsorción del tejido óseo e incremento de la absorción del intestino delgado e incrementos en la disponibilidad del calcio⁽¹²⁰⁾. Raciones con 8 a 10 g de calcio por día, producen efectos favorables para el propósito mencionado⁽¹²⁰⁾. La utilización de sales aniónicas para reducir la hipocalcemia se basa en su carácter acidógeno, que provoca acidez digestiva y metabólica, y genera condiciones óptimas para la circulación de Ca en el organismo⁽¹²¹⁻¹²²⁾. Otra estrategia alimenticia, para reducir la incidencia de hipocalcemia consiste en suministrar una ración deficiente en Ca antes del parto. Esto causa un balance negativo de Ca en la vaca antes del parto y estimula la secreción de la hormona paratiroidea (PTH) y de la 1,25-dihidroxitamina D promoviendo la homeostasis del Ca al parto. En campo, se recomienda proporcionar raciones preparto con niveles reducidos de Ca (aproximadamente 0.5 % de Ca)⁽¹²³⁻¹²⁴⁾. La acidificación del pH en rumen e intestino conduce al incremento de la solubilización del Ca; la acidosis promueve la activación de la paratohormona (PTH), y ésta a su vez participa en la absorción del Ca intestinal⁽¹²⁴⁻¹²⁵⁾. La acidez aumenta la función de los osteoclastos, encargados de la resorción ósea, transfiriendo iCa^{2+} de los huesos a la circulación sanguínea e incrementando la excreción de Ca en la orina⁽¹²⁵⁻¹²⁷⁾. Las vacas alimentadas con una dieta DCAD negativa en el preparto, incrementan la concentración sanguínea de iCa^{2+} ⁽¹²⁷⁾. En condiciones normales, el organismo mantiene un pH entre 7.35 y 7.45⁽¹²⁸⁾, a través de diversos mecanismos físico-químicos reguladores, como son: los sistemas amortiguadores (buffer o tampón) del plasma (bicarbonatos y proteínas) y el tejido óseo. Existen otros reguladores fisiológicos como la eliminación de CO_2 por vía respiratoria en detrimento de los bicarbonatos, la eliminación de ácidos por vía renal y la reabsorción de bicarbonatos. La concentración de iones (miliequivalentes), establecen una igualdad en los diferentes medios, la suma de aniones (iones cargados negativamente con carácter ácido) es igual a la suma de cationes (iones cargados positivamente con carácter básico). Con base en que los iones Na^+ , K^+ y Cl^- (iones biodisponibles que no se pueden metabolizar en formas más simples) determinan el equilibrio ácido-base del medio plasmático y la función acidógena de los sulfatos ($SO^=$; acidifican directamente los fluidos biológicos)⁽¹²⁹⁾, estos

cuatro iones se toman en cuenta para el cálculo del balance catión-anión de la materia prima y la formulación de dietas para vacas secas^(117-118,125). Mediante el cálculo de la diferencia catiónica y aniónica en la dieta (DCAD) se puede formular la dieta sobre el equilibrio iónico y pH del medio plasmático⁽¹¹⁷⁻¹¹⁸⁾. La DCAD se define como la diferencia entre los cationes y los aniones. Al alimentar vacas con una dieta DCAD negativa a vacas secas al final de la gestación se incrementan los aniones (SO_4^- y Cl^-), por lo que se altera la capacidad amortiguadora sanguínea y se acidifica la sangre⁽¹²⁵⁾. En respuesta, el organismo libera cationes (H^+) para neutralizar los aniones y mantener la electroneutralidad. Esto provoca la disminución del pH y genera acidez en la orina y mayor excreción de Ca; el nivel de iCa^{2+} en la circulación sanguínea se reduce y estimula la secreción de PTH y ésta a su vez participa en la formación activa de la 1,25 dihidroxivitamina D3 ($1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$) y en la movilización de Ca óseo^(4,130) con el incremento de la concentración de iCa^{2+} en sangre^(123-125,130). Además, las vacas alimentadas con dietas DCAD negativa, incrementan sus concentraciones de serotonina⁽¹²⁷⁾, la cual es importante para la función de la glándula mamaria durante la lactancia. Con base en lo anterior, la utilización de DCAD reduce la incidencia de hipocalcemia^(34,116-118,124,131-132), con el subsiguiente incremento en la función leucocitaria y en la salud reproductiva⁽³⁴⁾. Un problema de las sales aniónicas es su baja palatabilidad, ya que reducen el consumo de alimento y predisponen a otros desórdenes alimenticios como la baja ingestión de energía en el período de transición. Afortunadamente, las nuevas DCAD son más palatables y evitan esta situación. Otra desventaja es su costo, pero se debe analizar el costo-beneficio de su utilización⁽¹³³⁻¹³⁷⁾.

Administración de calcio por vía oral

Se ha demostrado el efecto favorable del calcio vía oral, para la prevención de la hipocalcemia en vacas lecheras, incluso teniendo acceso a raciones con sales aniónicas o en hatos con baja incidencia de casos de fiebre de leche⁽¹¹⁹⁾. Cuando el animal consume menos Ca del requerido, se incrementa la absorción del Ca. Por el contrario, cuando el animal consume más Ca del requerido, la absorción del Ca disminuye⁽¹³⁸⁾. Los eventos que causan los cambios en la absorción eficiente del Ca, se inician con cambios en el Ca plasmático pero dependen del control del metabolito activo de la vitamina D₃, conocido como la 1-25-dihidroxivitamina D₃ [$1-25-(\text{OH})_2 \text{D}_3$]. A pesar de que existe evidencia de la absorción pre-duodenal de Ca, la mayor absorción de Ca ocurre en el duodeno o parte alta del intestino delgado⁽¹³⁹⁾. La transferencia de Ca a través de las vellosidades intestinales ocurre por transporte facilitado y es iniciado por el $1,25-(\text{OH})_2 \text{D}_3$, que entra al enterocito por medio de difusión celular y se une a su receptor en el citoplasma celular⁽¹⁴⁰⁾. El complejo receptor $1,25-(\text{OH})_2 \text{D}_3$ se traslada hacia la fracción de cromatina en el núcleo celular y éste complejo hormona-receptor sintetiza más ARN mensajero y proteínas específicas que regulan el transporte del Ca.

Existen varios componentes que limitan la biodisponibilidad y absorción del Ca. Los oxalatos, que pudieran reducir la cantidad de Ca en henos y alfalfas, o niveles bajos de fósforo (P) en la dieta, así como niveles altos de fluoruro de magnesio, concentración de lípidos en la dieta, o por ácidos nucleicos producidos por bacterias o paredes celulares bacterianas⁽¹³⁸⁾. Existen compuestos como el cloruro de calcio (CaCl_2) que tienen la capacidad de mantener la concentración de calcio sanguíneo⁽¹¹⁰⁻¹¹¹⁾, esto se debe a su biodisponibilidad y su habilidad para estimular la respuesta ácida en la vaca, la cual incrementa su propia movilización de calcio⁽¹¹⁰⁾. Una buena absorción se obtiene con 50 g de calcio elemental disueltos en 250 ml de agua. Sin embargo, se debe tener cuidado con la dosificación del calcio. Existe el riesgo de una aspiración y resulta muy cáustico para los tejidos de las vías respiratorias altas⁽¹¹⁰⁾. El propionato de calcio se absorbe lentamente, probablemente porque no incrementa la acidez. La administración de 75 a 125 g disueltos en agua y propilenglicol, ofrece buenos resultados⁽¹¹⁰⁻¹¹¹⁾. El carbonato de calcio disuelto en agua es otra presentación que se ha evaluado, sin resultados satisfactorios ya que no incrementa el nivel de calcio sanguíneo⁽¹¹⁰⁾, probablemente debido a su baja biodisponibilidad. Además, el carbonato de calcio produce una respuesta alcalogénica, la cual actúa de manera opuesta a las sales aniónicas e impide la movilización de calcio óseo. Para facilitar la dosificación de calcio se ha estudiado el uso de bolos con cloruro y sulfato de calcio. El bolo se administra inmediatamente después del parto y 12 h después. Con este tratamiento se ha incrementado la concentración iónica de calcio plasmático⁽¹³⁴⁻¹³⁶⁾. Este bolo tiene la ventaja de ser palatable, no se desperdicia el Ca, no hay riesgos de aspiración y la liberación del calcio es más lenta y eficaz. La aplicación de calcio por vía subcutánea no se recomienda debido a que causa irritación y necrosis en los tejidos⁽¹¹⁾.

Serotonina

La serotonina regula la fisiología de la glándula mamaria durante la lactancia. Se sintetiza en varios tejidos del organismo a partir del aminoácido L-triptófano, por acción de la enzima triptófano hidroxinasa (TPH) para transformarlo en 5-hidroxitriptófano (5-HTP). La descarboxilasa convierte el 5-HTP en serotonina⁽¹³⁷⁻¹⁴⁰⁾. En roedores, la serotonina se sintetiza en intestino y otros tejidos⁽¹⁴¹⁻¹⁴⁴⁾, viaja por torrente circulatorio y actúa en la glándula mamaria. La glándula mamaria posee receptores para serotonina⁽¹⁴⁵⁻¹⁴⁸⁾. Además, expresa a la enzima TPH⁽¹⁴⁷⁾ y sintetiza serotonina durante la lactancia⁽¹⁴⁸⁻¹⁵¹⁾. La serotonina estimula la síntesis y secreción de la proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PTHrP) en glándula mamaria^(145-146;151-157) y participa en la expresión de los receptores sensibles al calcio (CaSR) durante la lactancia⁽¹⁵⁸⁻¹⁶⁰⁾. La PTHrP se secreta en la circulación materna y actúa sobre las células óseas para estimular la reabsorción ósea en los osteoclastos, liberando calcio en la circulación sistémica⁽¹⁴²⁾, con destino hacia glándula mamaria⁽¹⁶⁰⁾. La adición de 5-HTP, el precursor de serotonina, a la ración alimenticia, durante el período de transición gestación-lactación en roedores, incrementa la concentración circulante de

serotonina, PTHrP y Ca, así como el contenido de Ca en leche⁽¹⁵¹⁾. La PTHrP, a diferencia de la PTH, actúa como un regulador parácrino y se ubica en la circulación durante la lactancia o hipercalcemia humoral⁽¹⁶⁰⁾. Por lo tanto, al igual que la PTH, la PTHrP actúa como un regulador hormonal del Ca y es importante para la homeostasis y movilización de Ca durante el parto y lactancia⁽¹⁶¹⁻¹⁶²⁾. Además, el PTHrP se detecta en sangre únicamente durante la lactancia. Disminuye su producción, su concentración plasmática y la preservación de la masa ósea⁽¹⁵⁹⁾. La nula concentración sérica de PTHrP durante la lactancia, se restaura con la aplicación de 5-HTP en el transcurso de 1 h⁽¹⁴⁶⁾. Ello demuestra la importancia de 5-HTP en la producción de PTHrP durante la lactancia y en el incremento del Ca sanguíneo⁽¹⁵²⁻¹⁵³⁾. La CaSR identifica variaciones del calcio libre extracelular, se unen sus iones y se establece el vínculo para la respuesta celular en varios órganos⁽¹⁶³⁻¹⁶⁷⁾. Durante la lactancia, se inhibe la producción de PTHrP y se estimula el transporte de calcio hacia la leche, se activa con el incremento de calcio en la circulación^(158,168). Por lo tanto, la glándula mamaria actúa como un órgano sensible al calcio durante la lactancia, que responde a los cambios en su concentración extracelular, principalmente a través del receptor sensible al calcio. El cual identifica la concentración de Ca en la circulación sanguínea y en conjunto con la PTHrP regula su nivel en la sangre⁽¹⁵⁹⁾. La serotonina ayuda a mantener la homeostasis del calcio en la lactancia. La PTHrP libera el calcio del tejido óseo hacia la circulación, y activa a los CaSR, que presentan retroalimentación negativa sobre la PTHrP. En consecuencia, se suspende la estimulación sobre los osteoclastos, es decir, se disminuye su liberación del tejido óseo. La CaSR también promueve el transporte de calcio sanguíneo a leche. Por consiguiente, reduce el Ca en sangre y causa una mayor secreción de PTHrP en las células epiteliales mamarias, aumentando la reabsorción de calcio. Por lo tanto, la glándula mamaria regula sus propios requerimientos de calcio bajo un sistema de retroalimentación negativa⁽¹⁵⁹⁾ que le permite mantener sus requerimientos de calcio durante la producción láctea. En el ganado bovino productor de leche, puede presentarse un proceso similar a los roedores. Hay expresión de receptores de serotonina en el epitelio mamario^(144,169). La concentración circulante de serotonina en el primer día de la lactancia se ha correlacionado positivamente con el nivel circulante de Ca en vacas lecheras⁽¹⁵³⁻¹⁵⁶⁾, así como en la mayor parte de la lactancia⁽¹⁷⁰⁾. La aplicación intravenosa de 5-HTP, el precursor de la serotonina, administrado al final de la lactancia en vacas Holstein no gestantes⁽¹⁵⁷⁾ y al final de la gestación en vacas preñadas⁽¹⁴⁸⁻¹⁵¹⁾, ha incrementado el nivel sistémico de serotonina y calcio, y ha disminuido la eliminación de calcio por orina, aumentando la concentración de calcio en leche y calostro. El efecto de la serotonina es independiente a la hormona paratiroidea⁽¹⁵¹⁾. Además, la PTHrP ha sido identificada previamente en el sistema circulatorio de la vaca⁽¹⁷⁰⁻¹⁷²⁾.

Conclusiones

La hipocalcemia puede presentarse en el periparto por alteraciones en la homeostasis del calcio, cuando la concentración sanguínea y citosólica del Ca disminuye. La hipocalcemia

puede presentarse en forma clínica y subclínica. La reducción del calcio conlleva a una disminución de la función inmune, y de las contracciones del músculo liso, incrementando el riesgo de metritis y mastitis, entre otras alteraciones. La hipocalcemia clínica se trata con calcio vía endovenosa y la hipocalcemia subclínica con calcio vía oral. La prevención requiere de la adición de sales aniónicas en la ración y la adición de calcio por vía oral. Además de inducir una leve hipocalcemia preparto para estimular la secreción de la hormona paratiroidea (PTH) y de la 1,25-dihidroxitamina D y así inducir la homeostasis del Ca después del parto. La absorción eficiente del Ca depende del nivel de Ca plasmático y del metabolito activo de la vitamina D₃, denominado 1,25-dihidroxitamina D₃ [1-25-(OH)₂D₃]. Durante la lactancia, la serotonina participa en mantener la homeostasis del calcio por medio de la síntesis y secreción de la proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PTHrP), y este efecto es independiente a la acción de la hormona paratiroidea.

Literatura citada:

1. Drackey JK. Biology of dairy cows during the transition period the final frontier? J Dairy Sci 1999;82:2259-2273.
2. Kimura K, Reinhardt TA, Goff JP. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. J Dairy Sci 2006;89:2588-2595.
3. Martinez N, Sinedino LDP, Bisinotto RS, Ribeiro ES, Gomes GC, Lima FS, *et al.* Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. J Dairy Sci 2014;97:874-887.
4. Horst RL, Reinhardt TA. Vitamin D metabolism in ruminants and its relevance to the periparturient cow. J Dairy Sci 1983;66:661-678.
5. Goff JP. Calcium and magnesium disorders. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2014;30:359-381.
6. Moseley JM, Kubota M, Diefenbach-Jagger H, Wetthenhall RE, Kemp BE, Suva LJ, *et al.* Parathyroid hormone-related protein purified from a human lung cancer cell line. Proc Natl Acad Sci USA 1987;84:5048-5052.
7. Horseman ND, Hernandez LL. New concepts of breast cell communication to bone. Trends Endocrinol Metab 2014;25:34-41.
8. Saris NE, Carafoli E. A historical review of cellular calcium handling, with emphasis of mitochondria. Biochem (Mosc) 2005;70:187-194.
9. Parekh AB. Cell biology. Cracking the calcium entry code. Nature 2006;441:163-165.
10. Vig M, Kinet JP. Calcium signal in immune cell. Nat Immunol 2009;10:21-27.

11. Goff JP. Treatment of calcium, phosphorus, and magnesium balance disorders. *Vet Clin North Am Food Animal Pract* 1999;15:619-639.
12. Martinez N, Risco CA, Lima FS, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, *et al.* Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine diseases. *J Dairy Sci* 2012;95:7158-7172.
13. Doehring C, Sundrum A. The informative value of an overview on antibiotic consumption, treatment efficacy and cost of clinical mastitis at farm level. *Prevent Vet Med* 2019;165:63-70.
14. Goff JP. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet J* 2008;176:50-57.
15. DeGaris PJ, Lean IJ. Milk fever in dairy cows: a review of pathophysiology and control principles. *The Vet J* 2008;176(1):58-69.
16. Goff JP, Horst RL. Effects of addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows. *J Dairy Sci* 1997;80:176-186.
17. Esslemont RJ, Kossaibati MA. Incidence of production diseases and other health problems in a group of dairy herds in England. *Vet Rec* 1996;139:486-490.
18. Hansen SS, Ersboll AK, Blom JY, Jorgensen RJ. Preventive strategies and risk factors for milk fever in Danish dairy herds a questionnaire survey. *Prev Vet Med* 2007;80:271-286.
19. Mulligan FJ, Doherty ML. Production diseases of the transition cow. *The Vet J* 2008;176(1):3-9.
20. Reinhardt TA, Lippolis JD, McCluskey BJ, Goff JP, Horst RL. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *Vet J* 2011;188:122-124.
21. Bhanugopan MS, Lievaart J. Survey on the occurrence of milk fever in dairy cows and the current preventive strategies adopted by farmers in New South Wales, Australia. *Aust Vet J* 2014;92:200-205.
22. Ducusin RJ, Uzuka Y, Satoh E, Otani M, Nishimura M, Tanabe S, Sarashina T. Effects of extracellular Ca²⁺ on phagocytosis and intracellular Ca²⁺ concentrations in polymorphonuclear leukocytes of postpartum dairy cows. *Res Vet* 2003;75:27-32.
23. Curtis RA, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD, Powers PA, Smith MC, White ME, Hillman RB, Pearson EJ. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *JAVMA* 1983;183:559-561.

24. Curtis RA, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD, Kronfeld DS. Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. *J Dairy Sci* 1985;68:2347-2360.
5. Goff JP, Horst RL. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci* 1997;80:1260-1268.
26. Mulligan FJ, O'Grady L, Rice DA, Doherty ML. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Anim Reprod Sci* 2006;96(3-4):331-353.
27. Horst RL, Goff JP, McCluskey B. Prevalence of sub-clinical hypocalcemia in US dairy operations. US Department of Agriculture (USDA) Agr Res Serv. Washington, DC. 2003a.
28. Horst RL, Goff JP, McCluskey BJ. Prevalence of subclinical hypocalcemia in US dairy operations. *J Dairy Sci* 2003b;86 (Suppl 1):247.
29. Guard CL. Fresh cow problems are costly: culling hurts the most. *Hoard's Dairyman* 1996;141:8-11.
30. Chapinal N, Carson ME, LeBlank SJ, Leslie KE, Godden S, Capel M, Santos JE, Overton MW, Duffield TF. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *J Dairy Sci* 2012;95:1301-1309.
31. Chapinal N, Carson M, Duffield TF, Capel M, Godden S, Overton M, Santos JE, LeBlank SJ. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *J Dairy Sci* 2011;94:4897-4903.
32. Daniel RCW. Motility of the rumen and abomasum during hypocalcemia. *Can J Comp Med* 1983;47:276-280.
33. Martinez N, Sinedino LDP, Bisinotto RS, Ribeiro ES, Gomes GC, Lima FS, *et al.* Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *J Dairy Sci* 2014;97(2):874-887.
34. Martinez N, Rodney RM, Block E, Hernandez LL, Nelson CD, Lean IJ, Santos JEP. Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Health and reproductive responses. *J Dairy Sci* 2018;101:2563-2578.
35. Hayirili A. The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. *Vet Res Commun* 2006;30:749-774.

36. Witzel DA, Littledike ET. Suppression of insulin secretion during induced hypocalcemia. *Endocrinol* 1973;93:761-766.
37. Rorsman P, Braun M, Zhang Q. Regulation of calcium in pancreatic α - and β -cells in health and disease. *Cell Calcium* 2012;51(3-4):300-308.
38. Spain J, Vogel RJ, Sampson JD. The effects of supplemental anionic salt fed during the periparturient period: Implications of milk production and feed intake for high producing dairy cows. *J Dairy Sci* 2004;87(Suppl 1):345.
39. Chamberlin WG, Middleton JR, Spain JN, Johnson GC, Ellersieck MR, Pithua P. Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 2013;96(11):7001-7013.
40. Br  chard S, Tschirhart EJ. Regulation of superoxide production in neutrophils: role of calcium influx. *J Leuk Biol* 2008;84(5):1223-1237.
41. Burgos RA, Conejeros I, Hidalgo MA, Werling D, Hermosilla C. Calcium influx, a new potential therapeutic target in the control of neutrophil-dependent inflammatory diseases in bovines. *Veterin Immunol Immunopathol* 2011;143(1-2):1-10.
42. Cohen MS. Molecular events in the activation of human neutrophils for microbial killing. *Clin Infect Dis* 1994;18:S170-S179.
43. Quah BJ, Parish CR. New and improved methods for measuring lymphocyte proliferation *in vitro* and *in vivo* using CFSE-like fluorescent dyes. *J Immunol Meth* 2012;379(1-2):1-14.
44. Rainard P, Roillet C. Innate immunity of the bovine mammary gland. *Vet Res* 2006;37:369-400.
45. Suriyasathaporn W, Daemen AJ, Noordhuizen-Stassen EN, Dieleman SJ, Nielen M, Schukken YH. β -hydroxybutyrate levels in peripheral blood and ketone bodies supplemented in culture media affect the *in vitro* chemotaxis of bovine leukocytes. *Vet Immunol Immunopath* 1999;68:177-186.
46. Ribeiro ES, Lima FS, Greco LF, Bisinotto RS, Monteiro AP, Favoreto M, *et al.* Prevalence of periparturient diseases and effects of fertility of seasonality calving grassing dairy cows supplemented with concentrates. *J Dairy Sci* 2013;96:5682-5697.
47. Sordillo LM, Shafer-Weaver K, DeRosa D. Immunology of the mammary gland. *J Dairy Sci* 1997;80:1851-1865.

48. Kasimanickam R, Duffield T, Foster R, Gartey C, Leslie K, Walton J, Johnson W. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 2004;62:9-26.
49. Dobson H, Walker SL, Morris MJ, Routly JE, Smith RF. Why is it getting more difficult to successfully artificially inseminate dairy cows? *Animal* 2008;2(8):1104-1111.
50. Santos J, Bisinotto R, Ribeiro E, Lima F, Greco L, Staples C, Thatcher W. Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. *Soc Reprod Fertil* 2010;67(Suppl):387-403.
51. Galvao K, Felipe M, Brittin S, Sper R, Fraga M, Galvao J, Caixeta L, Guard C, Ricci A, Gilbert R. Evaluation of cytokine expression by blood monocytes of lactating Holstein cows with or without postpartum uterine diseases. *Theriogenology* 2012;77:356-372.
52. Benzanquen ME, Risco CA, Archbald LF, Melendez P, Thatcher MJ, Thatcher WW. Rectal temperature, calving-related factors, and their incidence of puerperal metritis in postpartum dairy cows. *J Dairy Sci* 2007;90:2804-2814.
53. Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. Defining postpartum uterine diseases in cattle. *Theriogenology* 2006;65:1516-1530.
54. Sheldon IM, Wathers DC, Dobson H. The management of bovine reproduction in elite herds. *Vet J* 2006;171:70-78.
55. Arechiga CF, Ortiz O, Hansen PJ. Effect of prepartum injection of vitamin E and selenium on postpartum reproductive function of dairy cattle. *Theriogenology* 1994;41(6):1251-1258.
56. Földi J, Kulcsar M, Pecsí A, Huyghe B, De Sa C, Lohuis J, Cox P, Huezenicza G. Bacterial complication of postpartum uterine involution in cattle. *Anim Reprod Sci* 2006;96:265-281.
57. Kimura K, Goff JP, Kehrli ME Jr, Reinhardt TA. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2002;85:544-550.
58. Gunnink JW. Pre-partum leucocytic activity and retained placenta. *Vet Q* 1984;6:52-54.
59. Kelton DF, Lissemore KD, Martin RE. Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *J Dairy Sci* 1998;81:2502-2509.
60. Sheldon IM, Dobson H. Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci* 2004;82/83:295-306.

61. Bruun J, Ersboll AK, Alban L. Risk factors for metritis in Danish dairy cows. *Prev Vet Med* 2002;54:179-190.
62. Bajcsy AC, Szenci O, Doornenbal A, van der Weijden GC, Csorba C, Kocsis L, Szucs I, Ostgard S, Taverne AM. Characteristics of bovine early puerperal uterine contractility recorder under farm conditions. *Theriogenology* 2005;64:99-111.
63. Burton MJ, Dziuk HE, Fahning ML, Zemjanis R. Myometrial activity during natural and dexamethasone-induced parturition in the cow. *Am J Vet Res* 1987;48:37-44.
64. Gajewski Z, Thun R, Faundez R, Boryczko Z. Uterine motility in the cow during puerperium. *Reprod Domest Anim* 1999;34:185-191.
65. Paisley LG, Mickelsen WD, Anderson PB. Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infection of cows: a review. *Theriogenology* 1986;25:353-381.
66. Kamgarpour R, Daniel RCW, Fenwick DC, McGuigan K, Murphy G. Postpartum subclinical hypocalcemia and effects on ovarian function and uterine involution in a dairy herd. *Vet J* 1999;158:59-67.
67. Lewis GS. Uterine health and disorders. *J Dairy Sci* 1997;80:984-994.
68. Al-Eknaah MM, Noakes DE. A preliminary study on the effect of induced hypocalcemia and nifedipine on uterine activity in the parturient cow. *J Vet Pharmacol Ther* 1989;12:237-239.
69. Martin LR, Williams WF, Russek E, Gross TS. Postpartum uterine motility measurement in dairy cows retaining their fetal membranes. *Theriogenology* 1981;15:513-524.
70. Peter AT, Bosu WTK, Lucker CV. Plasma endotoxin and concentrations of stable metabolites of prostacyclin thromboxane A2 and prostaglandin E2 in postpartum dairy cows. *Prostaglandins* 1987;34:15-28.
71. Peter AT, Bosu WTK, Gilbert RO. Absorption of *E coli* endotoxin (lipopolysaccharide) from the uteri of postpartum dairy cows. *Theriogenology* 1990;33:1011-1020.
72. Dohmen MJW, Joop K, Sturk A, Bols PEJ, Lohuis JACM. Relationship between intrauterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with dystocia or retained placenta. *Theriogenology* 2000;54:1019-1032.
73. Mateus L, Lope de Costa L, Diniz P, Ziecik AJ. Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE₂ and PGFM) concentrations and ovarian function in dairy cows with puerperal endometritis. *Anim Reprod Sci* 2003;76:143-154.

74. Hussain AM, Daniel RCW, O'Boyle D. Postpartum uterine flora following normal and abnormal puerperium cows. *Theriogenology* 1990;34:291-302.
75. Elliot L, McMahon KJ, Gier HT, Marion GB. Uterus of the cow after parturition: bacterial content. *Am J Vet Res* 1968;29:77-81.
76. Cai TQ, Weston P, Lund LA, Brodie B, McKenna D, Wanger WC. Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. *Am J Vet Res* 1994;55:934-943.
77. Lewis GS. Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Anim Reprod Sci* 2004;82/83:281-294.
78. Bondurant RH. Inflammation in the bovine reproductive tract. *J Dairy Sci* 1999;82(Suppl 2):101-110.
79. Mateus L, Lope de Costa L, Robalo Silvia J. Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reprod Domest Anim* 2002;37:31-35.
80. Kim IH, Na KJ, Yang MP. Immune response during the peripartum period in dairy cows with postpartum endometritis. *J Reprod Dev* 2005;51:757-764.
81. Hammon DS, Evjen IM, Dhiman TR, Goff JP, Walters JL. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Vet Immunol Immunopathol* 2006;113:21-29.
82. Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Pfeiffer DU, Dobson H. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction* 2002;123:837-845.
83. Zadoks R. Understanding the sources, transmission routes and prognoses for mastitis pathogens. *WCDS Adv Dairy Technol* 2014;26:91-100.
84. Smith KL, Hogan JS. Environmental mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1993;9:489-498.
85. Hogan J, Smith KL. Coliform mastitis. *Vet Res* 2003;34:507-519.
86. Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res* 2003;34(5):475-491.
87. Muñoz MA, Welcome FL, Schukken YH, Zadoks RN. Molecular epidemiology of two *Klebsiella pneumoniae* mastitis outbreaks on a dairy farm in New York State. *J Clin Microbiol* 2007;45:3964-3971.

88. Craven N. Do rising fat-globules assist microbial invasion via the teat duct between milking? *Kieler Milch Forschung* 1985;37:554-558.
89. Craven N, Williams MR. Defenses of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement. *Vet Immunol Immunopathol* 1985;10:71-127.
90. Riollet C, Rainard P, Poutrel B. Cells and cytokines in inflammatory secretions of bovine mammary gland. *Biol Mamm Gland* 2000;480:247-258.
91. Kelley J, Walter L, Trowsdale J. Comparative genomics of natural killer cell receptor gene clusters. *PLoS Genetics* 2005;1:129-139.
92. O'Connor GM, Hart OM, Gardiner CM. Putting the natural killer cells in its place. *Immunol* 2006;117:1-10.
93. Werling D, Piercy J, Coffey TJ. Expression of TOLL-like receptors (TLR) by bovine antigen-presenting cells-potential role in pathogen discrimination? *Vet Immunol Immunopath* 2006;112:2-11.
94. Schultze WD, Bright SC. Changes in penetrability of bovine papillary duct to endotoxin after milking. *Am J Vet Res* 1983;44(12):2373-2375.
95. Goff JP, Horst RL, Jardon PW, Borelli C, Wedam J. Field trails of an oral calcium propionate paste as an aid to prevent milk fever in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 1996;79:378-383.
96. Harmon RJ, Newbould FHS. Neutrophil leukocyte as a source of lactoferrin in bovine milk. *Am J Vet Res* 1980;41:1603-1606.
97. Rainard P. Bacteriostasis of *Escherichia coli* by bovine lactoferrin, transferrin and immunoglobulins (IgG1, IgG2, IgM) acting alone or in combination. *Vet Microbiol* 1986;11:103-115.
98. Olever SP, Bouche T. Growth inhibition of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during involution of the bovine mammary gland: relation to secretion composition. *Am J Vet Res* 1987;48:1669-1673.
99. Legrand D, Ellass E, Pierce A, Mazurier L. Lactoferrin and host defence: an overview of its immune-modulating and anti-inflammatory properties. *Biometals* 2004;17:225-229.
100. Smith KL, Schanbacher FL. Lactoferrin as a factor of resistance to infection of the bovine mammary gland. *J Am Vet Med Assoc* 1977;170:1224-1227.
101. Rainard P. Bacteriostatic activity of bovine milk lactoferrin against mastitic bacteria. *Vet Microbiol* 1986;11:387-392.

102. Orsi N. The antimicrobial activity of lactoferrin: current status and prespectives. *Biometals* 2004;17:189-196.
103. Horst RL, Jorgensen NA. Elevated plasma cortisol during induced and spontaneous hypocalcemia in ruminants. *J Dairy Sci* 1982;65(12):2332-2337.
104. Kehril ME Jr, Nonnecke BJ, Roth JA. Alterations in bovine lymphocyte function during periparturient period. *Am J Vet Res* 1989;50:215-220.
105. Bradley A. Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet J* 2002;164:116-128.
106. White LJ, Lam TJGM, Schukken YH, Green LE, Medley GF, Chappell MJ. The transmission and control of mastitis in dairy cows: a theoretical approach. *Prev Vet Med* 2006;74(1):67-83.
107. Halasa T, Huijps K, Østerås O, Hogeveen H. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: a review. *Vet Quart* 2007;29(1):18-31.
108. Venjakob PL, Borchardt S, Heuwieser W. Hypocalcemia-Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. *J Dairy Sci* 2017;100(11):9258-9266. doi: 10.3168/jds.2016-12494.
109. Contreras GA, Rodriguez JM. Mastitis: comparative etiology and epidemiology. *J Mamm Gl Biol Neoplasia* 2011;16:339-356.
110. Goff JP, Horst RL. Oral administration of calcium salts for treatment of hypocalcemia in cattle. *J Dairy Sci* 1993;76:101-108.
111. Goff JP, Horst RL. Calcium salts for treating hypocalcemia: carrier effects, acid-base balance, and oral versus rectal administration. *J Dairy Sci* 1994;77:1451-1456.
112. Thilsing-Hansen T, Jorgensen RJ, Ostergaard S. Milk fever control and principles: a review. *Acta Vet Scand* 2002;43:1-19.
113. Curtis RA, Cote JF, McLennan MC, Smart JF, Rowe RC. Relationship of methods of treatment of relapse rate and serum levels of calcium and phosphorus in parturient hypocalcemia. *Can Vet J* 1978;19:155-158.
114. Littledike ET, Glazier D, Cook HM. Electrocardiographic changes after induced hypercalcemia and hypocalcemia in cattle: reversal of the induced arrhythmia with atropine. *Am J Vet Res* 1976;37(4):383-388.

115. Doze JG, Donders R, van der Kolk JH. Effects of intravenous administration of two volumes of calcium solution on plasma ionized calcium concentration and recovery from naturally occurring hypocalcemia in lactating dairy cows. *Am J Vet Res* 2008;69:1346-1350.
116. Oetzel GR, Olson JO, Cartis CR, Fettmen M. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *J Dairy Sci* 1988;71:3302-3309.
117. Tucker WB, Houge JF, Waterman DF, Swenson TS, Xing Z. Role of sulfur and chloride in the dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. *J Anim Sci* 1991;69:1205-1213.
118. Moore SJ, Vandehaar MG, Sharma BK. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in periparturient cows. *J Dairy Sci* 2000;83:2095-2104.
119. Oetzel GR, Miller BE. Effect of oral calcium bolus supplementation on early lactation health and milk yield in commercial dairy herds. *J Dairy Sci* 2012;95:7051-7065.
120. Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA, Buxton DR. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1997;80:1269-1280.
121. Block E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. *J Dairy Sci* 1994;77:1437-1450.
122. Block E. Manipulating dietary cations and anions for preparturient dairy cows to reduce incidence of milk fever. *J Dairy Sci* 1984;67:2939-2948.
123. Goff JP. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Vet J* 2008;176(1):50-57.
124. Goff JP, Koszewski NJ. Comparison of 0.46% calcium diets with and without added anions with a 0.7% calcium anionic diet as a means to reduce periparturient hypocalcemia. *J Dairy Sci* 2018;101(6):5033-5045.
125. Muhammad SH, Muhammad AS, Mahr-Un-Nisa, Muhammad S. Dietary cation anion difference: impact on reproductive and productive performance in animal agriculture. *Afr J Biotechnol* 2010;9:7976-7988.
126. Goff JP, Horst RL. Role of acid-base physiology on the pathogenesis of parturient hypocalcemia (milk fever)-the DECAD theory in principle and practice. *Acta Vet Scand* 2003;97:51-56.

127. Rodney RM, Martinez N, Block E, Hernandez LL, Celi P, Nelson CD, Santos EP, Lean IJ. Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: vitamin D, mineral, and bone metabolism. *J Dairy Sci* 2018;101:2519-2543.
128. Nagy O, Kovác G, Seidel H, Weissová T. The effect of arterial blood sampling sites on blood gases and acid-base balance parameters in calves. *Acta Vet Hung* 2001;49:331-340.
129. Whiting SJ, Drapper HH. Effect of a chronic acid load as sulfate or sulfur amino acid on bone metabolism in adult rats. *J Nutr* 1981;111:1721-1726.
130. Horst RL, Littledike ET, Patridge TA. Plasma concentrations of 1,25-dihydroxivitamin D, 1,24R,25-trihydroxivitamin D₃ and 1,25,26-trihydroxivitamin D₃ after administration to dairy cows. *J Dairy Sci* 1983;66:1455-1460.
131. Gaynor PJ, Mueller FJ, Miller JK, Ramsey N, Goff JF, Horst RL. Parturient hypocalcemia in Jersey cows fed alfalfa haylage based-based diets with different cation to anion ratios. *J Dairy Sci* 1989;72:2525-2531.
132. Goff JP, Horst RL, Mueller FJ, Miller JK, Kiess GA, Dowlen HH. Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxivitamin response to hypocalcemia preventing milk fever. *J Dairy Sci* 1991;74:3863-3871.
133. Lean IJ, DeGaris PJ, McNeil DM, Block E. Hypocalcemia in dairy cows: meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *J Dairy Sci* 2006;89(2):669-684.
134. Lean IJ, Santos JEP, Block E, Golder HM Effects of prepartum dietary cation-anion difference intake on production and health of dairy cows: A meta-analysis. *J Dairy Sci* 2019;102(3):2013-2133.
135. Santos JEP, Lean IJ, Golder H, Block E. Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. *J Dairy Sci* 2019;102(3):2134-2154.
136. Charbonneau E, Pellerin D, Oetzel GR. Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: A meta-analysis. *J Dairy Sci* 2006;89(2):537-548.
137. Goff JP. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Vet J* 2008;176(1):50-57.
138. Horst RL. Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in the dairy cow. *J Dairy Sci* 1986;69(2):604-616.
139. Braithwaite GD. Calcium and phosphorus metabolism in ruminants with special reference to parturient paresis. *J Dairy Res* 1976;43(3):501-520.

140. Wasserman RH, Fullmer CS. Vitamin D and intestinal calcium transport: facts, speculations and hypotheses. *The Journal of Nutrition* 1995;125(suppl 7):1971S-1979S.
141. Sampson JD, Spain JN, Jones C, Castensen L. Effects of calcium chloride and calcium sulfate in an oral bolus given as a supplement to postpartum dairy cows. *Vet Ther* 2009;10:131-139.
142. Wang L, Erlandsen H, Haavik J, Knappskog PM, Stevens RC. Three-dimensional structure of human tryptophan hydroxylase and its implications for the biosynthesis of the neurotransmitters serotonin and melatonin. *Biochem* 2002;41:12569-12574.
143. Ormsbee HS, Fondacaro JD. Action of serotonin on the gastrointestinal tract. *Proc Exp Biol Med* 1985;178:333-338.
144. Berger M, Gray JA, Roth BL. The expanded biology of serotonin. *Annu Rev Med* 2009;60:1514-1529.
145. Wysolmerski JJ. Parathyroid hormone-related protein: an uptake. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:2947-2952.
146. Wyler SC, Lord CC, Lee S, Elmquist JK, Liu C. Serotonergic control of metabolic homeostasis. *Front Cell Neurosci* 2017;11:277.
147. Hernandez LL, Limesand SW, Collier JL, Horseman ND, Collier RJ. The bovine mammary gland expressed multiple functional isoforms of serotonin receptors. *J Endocrinol* 2009;203:123-131.
148. Hernandez LL, Gregerson KA, Horseman ND. Mammary gland serotonin regulates parathyroid hormone-related protein and other bone-related signals. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012;302:E1009-1015.
149. Matsuda M, Imaoka T, Vomachka AJ, Gudelsky GA, Hou Z, Mistry M, Bailey JP, Nieport KM, Walter DJ, Bader M, Horseman ND. Serotonin regulated mammary gland development via an autocrine- paracrine loop. *Dev Cell* 2004;6:193-203.
150. Weaver SR, Prichard AP, Endres EL, Newhouse SA, Peters PL, Crump PM, Akins MS, Crenshaw TD, Bruckmaier RM, Hernandez-Castelam LL. Elevates of circulating serotonin improves calcium dynamics in the prepartum dairy cows. *J Endocrinol* 2016;230:105-123.
151. Weaver SR, Jury NJ, Gregerson KA, Horseman ND, Hernandez L. Characterization of mammary-specific disruptions for *Tph1* and *Lrp5* during murine lactation. *Scientific Reports* 2017;7:151-155.

152. Hernández-Castellano LE, Hernandez LL, Sauerwein H, Bruckmaier RM. Endocrine and metabolic changes in transition dairy cows are affected by prepartum infusion of a serotonin precursor. *J Dairy Sci* 2017;100(6):5050-5057.
153. Hernández-Castellano LE, Hernandez LL, Weaver S, Bruckmaier RM. Increased serum serotonin improves parturient calcium homeostasis in dairy cows. *J Dairy Sci* 2017;100:1580-1587.
154. Laporta J, Peters TL, Weaver SR, Merriman KE, Hernandez LL. Feeding 5-hydroxy-L-tryptophan during transition from pregnancy to lactation increases calcium mobilization from the bone in rats. *Domest Anim Endocrinol* 2013;44:176-184.
155. Laporta J, Moore SAE, Peters NW, Peters TL, Hernandez LL. Short communication: circulating serotonin (5-HT) concentrations on day 1 of lactation as a potential predictor of transition-related disorders. *J Dairy Sci* 2013;96:5146-5150.
156. Laporta J, Keil KP, Vezina CM, Hernandez LL. Peripheral serotonin regulates maternal calcium trafficking in mammary epithelial cells during lactation in mice. *PLoS One* 2014a 9:E110190.
157. Laporta J, Keil KP, Weaver SR, Cronick CM, Prichard AP, Crenshaw TD, *et al.* Serotonin regulates calcium homeostasis in lactation by epigenetic activation of hedgehog signaling. *Mol Endocrinol* 2014;11:1866-1874.
158. Laporta J, Gross JJ, Crenshaw TD, Bruckmaier RM, Hernandez LL. Short communication: Timing of first milking affects serotonin concentrations. *J Dairy Sci* 2014;97:2944-2948.
159. Laporta J, Moore SAE, Weaver SR, Cronick CM, Olsen M, Prichard AP, *et al.* Increasing serotonin (5-HT) alters calcium and energy metabolism in late-lactation dairy cows. *J Endocrinol* 2015;226:43-55.
160. VanHoultten JN, Dann P, McGeoch G, Brown EM. Calcium sensing receptor regulates mammary gland parathyroid hormone-related protein production and calcium transport. *J Clin Invest* 2004;113:598-608.
161. VanHoultten JN. Calcium sensing by the mammary gland. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2005;10:129-139.
162. Wysolmerski JJ. Interactions between breast, bone, and brain regulate mineral and skeletal metabolism during lactation. *Ann NY Acad Sci* 2010;1192:161-169.
163. Rakoupoulos M, Vargas SJ, Gillespie MT, Ho PW, Diefenbach-Jagger H, Leaver DD, *et al.* Production of parathyroid hormone-related protein by the rat mammary gland in pregnancy and lactation. *Am J Physiol* 1992;263:E1077-E1085.

164. Ratcliffe WA, Thompson GE, Care AD, Peaker M. Production of parathyroid hormone related protein by the mammary gland of the goat. *J Endocrinol* 1992;133:87-93.
165. Brown EM, Gamba G, Riccardi D, Lombardi M, Butters R, Kifor O, Sun A, Hediger MA, Litton J, Hebert SC. Cloning and characterization of an extracellular Ca(2+)-sensing receptor form bovine parathyroid. *Nature* 1993;366:575-580.
166. Hoffer AM, Brown EM. Extracellular calcium sensing and signaling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003;4:530-538.
167. Brown EM, Conigrave AD. Regulation of cellular signal transduction pathway by extracellular calcium-sensing receptor. *Curr Pharm Biol* 2009;10:270-281.
168. Quinn SJ, Kifor O, Kifor I, Butters RR Jr. Role of the cytoskeleton in extracellular calcium-regulated PTH release. *Biochem Biophys Res Comm* 2007;354:8-13.
169. Brennan SC, Thiem U, Roth S, Agarwal A, Fetahu ISh, Tennakon S, *et al.* Calcium sensing receptor signaling in physiology and cancer. *Biochem Biophys Acta* 2013;1833:1732-1744.
170. Ardeshirpour L, Dann P, Polland M, Wysolmerski J, VanHulten J. The calcium-sensing receptor regulates PTHrP production and calcium transport in the lactating mammary gland. *Bone* 2006;38:787-793.
171. Suárez-Trujillo A, Argüello A, Rivero MA, Capote J, Castro N. Differences in distribution of serotonin receptor subtypes in the mammary gland of sheep, goats, and cows during lactation and involution. *J Dairy Sci* 2019;102(3):2703-2707.
172. More SA, Laporta J, Crenshaw TD, Hernandez LL. Plasma of circulating serotonin and related metabolites in multiparous dairy cows in the peripartum period. *J Dairy Sci* 2015;98:3754-3765.
173. Corbellini CN. Etiopatogenia e controle da hipocalcemia e hipomagnesemia em vacas leiteiras. *Seminário internacional sobre deficiências minerais em ruminantes*, 1998;28.
174. Beede DK, Wang C, Donovan GA, Archbald LF, Sanchez WK. Dietary cation-anion difference (electrolyte balance) in late pregnancy. In: *Florida Dairy Production Conference Proc* 1991:1-6.
175. Hernández EGS, Bouda J, Cecilio AA, Doubek J, Forero FHV. Efecto de la aplicación de prostaglandina F2 α en las primeras horas posparto sobre las concentraciones séricas de calcio en vacas lecheras. *Vet Méx* 2014;1(2):1-13.

176. Albornoz L, Albornoz JP, Cruz JC, Fidalgo LE, Espino L, Morales, *et al.* Estudio comparativo de los niveles de calcio, fósforo y magnesio durante el parto en vacas lecheras en diferentes sistemas de producción en Uruguay y España. *Veterinaria (Montevideo)*, 2017;53(205):1-11.
177. Wittwer F, Heuer G, Contreras PA, Böhmwald TM. Valores bioquímicos clínicos sanguíneos de vacas cursando con parto en el sur de Chile. *Arch Med Vet* 1993;15:83-88.
178. Wagemann C, Wittwer F, Chihuailaf R, Noro M. Estudio retrospectivo de la prevalencia de desbalances minerales en grupos de vacas lecheras en el sur de Chile: a retrospective study. *Arch Med Vet* 2014;46(3):363-373.
179. Sánchez JM, Saborío-Montero A. Hipocalcemia e hipomagnesemia en un hato de vacas Holstein, Jersey y Guernsey en pastoreo. *Agronom Costarric* 2014;38(2):55-65.
180. Ceballos-Márquez A, Villa NA, Betancourth TE, Roncancio DV. Determinación de la concentración de calcio, fósforo y magnesio en el parto de vacas lecheras en Manizales, Colombia. *Rev Colomb Cienc Pec* 2004;17(2):125-133.
181. Sánchez JM, Saborío-Montero A. Prevalencia de hipocalcemia en cuatro hatos Jersey en pastoreo en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 2014;38(2):33-41
182. Reinhardt TA, Lippolis JD, McCluskey BJ, Goff JP, Horst RL. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Vet J* 2011;188(1):122-124.
183. Reyes C, Mellado M. Ocurrencia de desórdenes derivados del parto y mastitis en vacas Holstein, en función del número de partos y meses del año. *Vet Méx* 1994;25(2):133-135.

Cuadro 1: Niveles sanguíneos de calcio (Ca) en vacas lecheras expuestas a distintos tratamientos y condiciones del sistema de producción

País	Tratamiento	No. de animales	Ca (mg/dl)	Hipo-calcemia subclínica	Hipo-calcemia clínica	RMF ¹ (%)	Vacas caídas (%)	Ref ²
Argentina	Control	240	7.11			9.4	12.5	173
	Tratamiento ³	280	9.32			6.0	0.6	
Estados Unidos de América	Control ⁴		3.8		82 %			174
	Tratamiento ⁵		4.3		30 %			
México	Control	10		80 % (8/10)	0 % (0/10)			175
	Tratamiento	10		40 % (4/10)	0 % (0/10)			
España y Uruguay	Sistema: Intensivo	256	10.96 ± 0.06					176
	Silvo-pastoril	354	9.35 ± 0.09					
Chile		76	2.0-2.6 mmol/L		51 %		26	177
Chile	Preparto:							178
	1986-2002 ⁶	471	2.37 ± 0.14					
	2003-2011	270	2.29 ± 0.18					
	Posparto:							
	1986-2002	1041	2.35 ± 0.14					
	2003-2011	766	2.27 ± 0.12					
Costa Rica	Raza:							179
	Holstein	49	7.85	27 (55 %)	2 (4 %)			
	Jersey	62	7.49	31 (50 %)	8 (13 %)			
	Guernsey	41	8.06	18 (44 %)	0 (0 %)			
Colombia	Producción láctea:	Etapa:						180
	Baja	Preparto	2.14 ± 0.10					
		Posparto	2.39 ± 0.10					
	Alta	Preparto	2.42 ± 0.11					
		Posparto	2.40 ± 0.12					

¹RMF= Retención de membranas fetales (%).²Ref=Referencias bibliográficas.³ Tratamiento: mezcla de sales minerales (150g Cl₂Ca, 150g NH₄SO₄, 29g MgO₂).⁴Control= Dieta con +50 meq/kg; ⁵Dieta con -250meq/kg. ⁶Periodos (años).

Cuadro 2: Comparación de incidencia de casos de hipocalcemia subclínica e hipocalcemia clínica en hatos lecheros de distintos países

País	Raza	No. de animales	Niveles plasmáticos de calcio (mg/dl)	Hipocalcemia subclínica (%)	Hipocalcemia clínica (%)	Ref. ¹	
Costa Rica (Pastoreo)	Holstein	49	7.85	27 (55)	2 (4)	180	
	Jersey	62	7.49	31 (50)	8 (13)		
	Guernsey	41	8.06	18 (44)	0 (0)		
Costa Rica (Pastoreo)	Raza: Jersey	No. de animales	No. de partos	Hipocalcemia subclínica (%)	Hipocalcemia clínica (%)	181	
		454	1	25	1		
		447	2	41	4		
		291	3	49	6		
		166	4	51	10		
		72	5	54	8		
		32	6	42	13		
Estados Unidos (Estabulado)	Holstein		No. de partos	Hipocalcemia subclínica (%)	Hipocalcemia clínica (%)	182	
			1	53	6		
			2	42	13		
			3	78	2		
			4	44	29		
			5	47	29		
			6	63	25		
México (Estabulado)	Holstein		No. de partos	Índices de riesgo		183	
				RFM ²	Hipocalcemia		
				1-2	0.68		0.31
				3-4	1.33		0.32
				5-6	1.57		5.80
				7-8	1.65		3.37
>9	1.12	2.14					

¹Ref= Referencia bibliográfica.²RMF=Retención de membranas fetales.