



Uso de un precursor glucogénico en el parto y su efecto sobre indicadores de energía y parámetros reproductivos en vacas lecheras



Carlos Leyva Orasma ^a

Jesús Jaime Benítez-Rivas ^b

Juan Luis Morales Cruz ^c

Cesar Alberto Meza-Herrera ^d

Oscar Ángel-García^a

Fernando Arellano-Rodríguez ^c

Guadalupe Calderón-Leyva ^c

Dalia Ivette Carrillo-Moreno ^c

Francisco Veliz Deras ^{a*}

^a Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Ciencias Médico Veterinarias, Torreón, Coahuila, México.

^b Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Posgrado en Ciencias en Producción Agropecuaria, Torreón, Coahuila, México.

^c Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Producción Animal, Torreón, Coahuila, México.

^d Universidad Autónoma Chapingo. Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Bermejillo, Durango, México.

* Autor de correspondencia: velizderas@gmail.com

Resumen:

El objetivo fue evaluar si la suplementación del 1-2 propanodiol más propionato de calcio (precursores glucogénicos) durante el periodo de transición en vacas altas productoras disminuye la incidencia de enfermedades metabólicas y reproductivas durante el inicio de la lactancia. Las vacas se dividieron en dos grupos homogéneos respecto al número de lactancias, y condición corporal. 1) Grupo tratado (GG; n= 112): por 15 días durante el periodo de transición se les administraron 60 g/vaca/día del precursor glucogénico, el cual fue adicionado en la dieta. 2) Grupo control (GC; n= 90): no se le administro ningún tratamiento. Los niveles de beta hidroxibutirato (BHB) (GG= 0.9 ± 0.2 mmol/L vs GC= 1.3 ± 0.2 mmol/L; $P < 0.05$), y ácidos grasos no esterificados (AGNES) (GG= 0.6 ± 0.1 mEq/L vs GC= 0.8 ± 0.1 mEq/L; $P < 0.05$) posparto fueron más altos en el GC que en el GG. Igualmente el GC (23 %) tuvo mayor porcentaje de hembras con retención de placenta que el GG (GG= 13 %; $P \leq 0.06$). Mientras que no existió diferencia en metritis, distocia y aborto entre grupos ($P > 0.05$). Sin embargo, la cetosis subclínica (GG= 10 %, GC= 56 %; $P < 0.05$), y la mastitis (GG= 8 %, GC= 16 %; $P < 0.05$) fueron más altas en GC que en el GG. Mientras que, para cetosis clínica, hipocalcemia y acidosis ruminal no existió diferencia entre los grupos ($P > 0.05$). La administración del precursor redujo los niveles de BHB y AGNES, así como el porcentaje de cetosis subclínica y retención de placenta, lo cual puede ser una alternativa para mejorar la eficiencia reproductiva.

Palabras clave: BHB, AGNES, BEN, Cetosis subclínica, Posparto.

Recibido: 27/08/2018

Aceptado: 11/03/2019

Introducción

Durante las primeras semanas de lactancia, las vacas con una elevada producción de leche enfrentan un balance energético negativo (BEN) debido que utilizan una gran cantidad de energía cuando tienen una adaptación inadecuada durante el periodo de transición y una baja ingesta de materia seca al comienzo de la lactancia^(1,2). Esta situación favorece la movilización de los lípidos hepáticos que eleva los niveles en sangre de ácidos grasos no esterificados (AGNES) y de beta hidroxibutirato (BHB), los cuales se consideran indicadores sensibles de BEN^(3,4). Esta condición fisiológica y metabólica puede dar lugar a lesiones hepáticas que conduzcan a una alta probabilidad de padecer otros trastornos relacionados con

disfunciones metabólicas tales como cetosis, mastitis, metritis, hipocalcemia, desplazamiento de abomaso y retención de placenta⁽²⁾. De hecho, al inicio de la lactancia, se registran concentraciones de BHB superiores a 1.2 mmol/L que se relacionan con la presencia de cetosis subclínica⁽⁵⁾, y los niveles de AGNES permiten predecir problemas de salud posparto⁽⁶⁾. Considerando todos los procesos que tienen lugar durante el periodo de transición y con el objeto de mantener la normoglucemia, se han utilizado diversas alternativas metabólicas para mantener la glucemia requerida para satisfacer los requisitos de los tejidos periféricos⁽⁷⁾ esto último, durante todo el proceso de glucogénesis, que permite la producción de la glucosa a partir de los precursores glucogénicos tales como el propionato o el propilenglicol⁽⁸⁻¹¹⁾. Con base en los hallazgos previos, el propósito de este estudio fue evaluar el efecto del uso de un precursor glucogénico durante el periodo de transición en los niveles de BEN (AGNES y BHB) en sangre y la incidencia de enfermedades metabólicas y reproductivas al inicio de la lactancia en las vacas lecheras de alto rendimiento.

Material y métodos

Sitio de estudio, animales y manejo

La investigación se llevó a cabo de agosto a septiembre de 2015 en la Comarca Lagunera (25° 44 36 N, 103° 10 15 O; 1,111 msnm). Esta región norteña de México se caracteriza por un clima extremadamente cálido y seco, con temperaturas que van de 23 °C a 43 °C en el verano, y de 2 °C a 9 °C en el invierno, y con una precipitación anual promedio de 240 mm y una humedad relativa de entre 29 y 83 %. El estudio se realizó en un rebaño lechero comercial con un hato de 1,600 vacas Holstein, manejado con un sistema intensivo de producción en corral abierto. Las vacas fueron alimentadas con una dieta totalmente mixta (50 % de forraje y 50 % de concentrado, en base de materia seca 1.62 Mcal/Kg de ENL, 18 % PB), formulada para satisfacer los requerimientos nutricionales de las vacas en lactancia con una producción de leche > 33 kg/día⁽¹²⁾. Se alimentó a las vacas con pienso cuatro veces al día (a las 0600, 1000, 1200 y 1600 h) y además se les ofreció un 10 % diario adicional para consumo a voluntad.

Salud y manejo reproductivo

Todas las vacas recibieron cuatro infusiones intramamarias de 375 mg de cefalexina (Rilexine®, Virbac, México) durante el periodo seco. Asimismo, las vacas recibieron un bolo de liberación prolongada de microminerales y vitaminas A, D y E (Megabric®, Laboratorio Neolait, Francia). El control rutinario de la mastitis incluyó la desinfección de los pezones

antes y después de la ordeña, la aplicación de la prueba de mastitis de California y un conteo regular de células somáticas.

En este estudio se sometió a vacas frescas a un manejo reproductivo desde el día 0 hasta el día 10; a fin de lograr una involución uterina adecuada, se administró una inyección de 25 mg de PGF2 α en los días 35 y 47 posteriores al parto. Además, se vacunó a cada una de las vacas de acuerdo con el programa preventivo de vacunación de rebaño, enfocado principalmente en enfermedades como la diarrea viral bovina, la rinotraqueítis infecciosa bovina, el virus respiratorio sincitial bovino, la parainfluenza tipo 3 y la leptoespirosis (5 variedades).

Diseño experimental y variables de respuesta

Se seleccionaron vacas (n= 202) sin problemas reproductivos, las cuales fueron divididas en dos grupos homogéneos en cuanto al número de lactancias previas (3.2 ± 1.17) y al puntaje de condición corporal (3.3 ± 0.5 ; en una escala de 1-5). Mientras que la producción promedio de leche en el día 305 fue de $12,200 \pm 147$ kg, el número promedio de inseminaciones fue de 3.7 ± 2.4 (en un rango de 1-10 inseminaciones). Un primer grupo de vacas (n= 112; GG; 41.1 ± 0.7 L diarios) recibió 60 g/vaca de un precursor glucogénico (1-2 propanodiol y propionato de calcio, Lipofeed®, México), los cuales se añadieron a la dieta, durante los primeros 15 días del periodo de transición, mientras que el segundo grupo (n= 90; GC; 40.1 ± 0.7 L diarios) no recibió ningún tratamiento.

Ácidos grasos y ácido beta hidroxibutírico

Se determinaron las concentraciones séricas (media \pm EE) de ácidos grasos no esterificados (AGNES) recolectando una muestra de sangre de la vena coccígea con tubos de extracción vacíos (BD Vacutainer®) en los días 7, 14 y 21 del posparto; las muestras obtenidas fueron identificadas y refrigeradas hasta que llegaron al laboratorio, donde se las centrifugó (450 g x 20 min) y posteriormente se las congeló y almacenó a -20 °C hasta el momento de someterlas a análisis. Se cuantificaron *in vitro* los AGNES en sangre utilizando un analizador automático (Randox RX Monza®, E.E.U.U.) y se determinaron las concentraciones (media \pm EE) de ácido beta-hidroxibutírico (BHB) en los días 7, 14 y 21 días después del parto, utilizando un medidor portátil de BHB (sistema de monitoreo Precision Xtra®), el cual emplea tiras reactivas para cuantificar los cuerpos cetónicos en la sangre^(3,13).

Enfermedades metabólicas

Se calculó el porcentaje de vacas con cetosis clínica, la cual se diagnosticó con base en un bajo rendimiento de leche y una disminución del apetito, y se determinó el porcentaje de cetosis subclínica sumergiendo en la leche tiras reactivas durante los primeros 21 días. Además se evaluó su relación con otras enfermedades clínicas durante los primeros 35 días después del parto⁽¹⁴⁾. Se detectó la presencia de mastitis clínica durante la ordeña con base en la determinación del calor y la inflamación, palpando la ubre y evaluando los cambios de consistencia de la leche (acuosa-sanguinolenta, secreciones y coágulos de sangre); esto se hizo diariamente durante las primeras tres semanas posteriores al parto⁽¹⁵⁾.

Enfermedades reproductivas

Se cuantificó en ambos grupos el porcentaje de vacas con retención de placenta (RP), la cual se definió como la incapacidad de expulsar las membranas fetales en las primeras 24 hs después del alumbramiento⁽¹⁶⁾ y se diagnosticó mediante la observación de la presencia de membranas fetales sobresaliendo de la vulva durante más de 24 h después del parto. Se definió la metritis como la inflamación de toda la pared uterina⁽¹⁷⁾. Ésta se confirmó al evaluar, mediante la palpación rectal, el tamaño del útero en relación con el momento del parto, el grosor de la pared uterina y la presencia de líquido en un cuerno uterino o en ambos. Se definió el aborto como la muerte y expulsión fetal entre los 50 y los 260 días de embarazo.

Análisis estadísticos

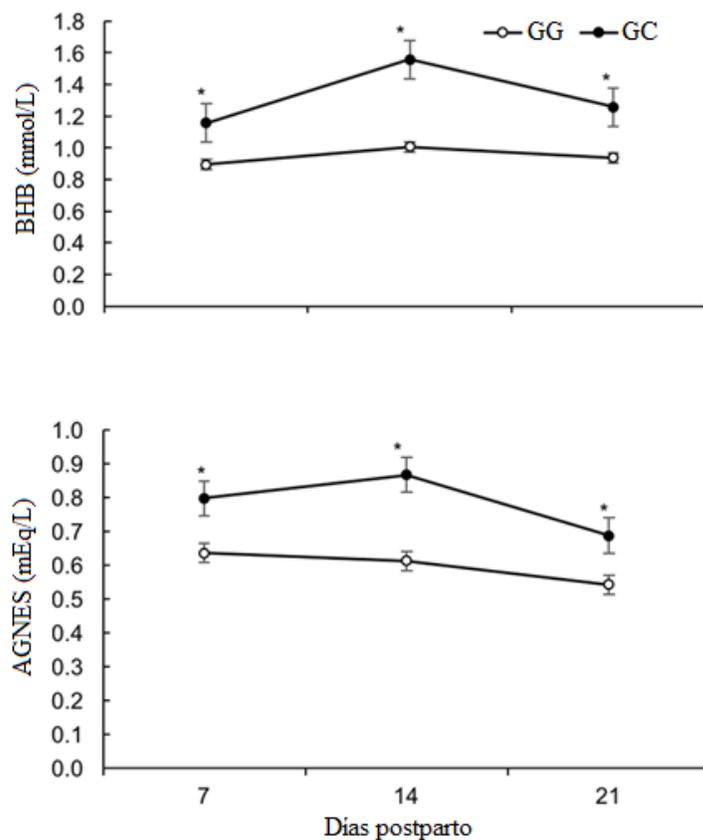
Se analizaron las concentraciones de BHB y AGNES en la sangre utilizando el procedimiento GLM y la prueba t de comparación de medias de Student. El porcentaje de vacas que mostraron enfermedades reproductivas (retención de placenta, metritis, aborto y distocia) y metabólicas (cetosis clínica y subclínica, hipocalcemia, mastitis y acidosis ruminal) fue calculado y comparado mediante una prueba de Ji cuadrada. En todos los análisis se utilizó el programa SAS y se consideró un nivel de significancia de $P < 0.05$, y de $P > 0.05$ y $P \leq 0.10$ para la tendencia estadística.

Resultados

Concentraciones de BHB y AGNES

La Figura 1 muestra los resultados de las concentraciones de BHB y AGNES para ambos grupos en los días 7, 14 y 21 posteriores al parto. Los niveles de BHB durante las primeras tres semanas de lactancia fueron superiores en las vacas GC (1.3 ± 0.2 vs 0.9 ± 0.2 mmol/L; $P < 0.05$). No se encontraron diferencias en el tiempo ni en el tratamiento al séptimo día después del parto. No obstante, se halló una diferencia entre el tiempo y el tratamiento en los días 14 y 21 posteriores al parto ($P < 0.05$). Además, los niveles de AGNES fueron superiores para las vacas GC (0.8 ± 0.1 vs 0.6 ± 0.1 mEq/L; $P < 0.05$). Se dio un efecto de la interacción entre el tratamiento y el tiempo en los días 7, 14 y 21 posteriores al parto ($P < 0.05$).

Figura 1: Niveles de ácidos grasos no esterificados (AGNES) y BHB (media \pm EE) en vacas lecheras de alto rendimiento tratadas (GG) o no (GC) con precursor de glucosa durante 15 días en el periodo de transición



*Diferencia significativa ($P < 0.05$)

Incidencia de disfunción reproductiva y metabólica

El Cuadro 1 concentra el porcentaje de enfermedades reproductivas y metabólicas en ambos grupos experimentales. Se detectó retención de placenta en el 13 % de las vacas GG (15/112) y en el 23 % de las vacas GC (21/90), ($P \geq 0.06$). No se encontraron diferencias entre los grupos experimentales ($P > 0.05$) en cuanto a porcentajes de metritis, distocia o aborto. En relación con las enfermedades metabólicas, se observó un porcentaje mayor ($P < 0.05$) para la cetosis subclínica en las vacas GC (56 %; 50/90 vs 10 %; 12/112), así como para la mastitis (18 %; 16/90 vs 8 %; 9/112, respectivamente). No se observaron diferencias entre los grupos experimentales ($P > 0.05$) para las demás enfermedades metabólicas.

Tabla 1: Porcentaje de enfermedades reproductivas y metabólicas posparto de las vacas lecheras tratadas (GG) y no (GC) con un precursor de glucosa por 15 días durante el periodo de transición (%)

Variables	Grupos		Valor de <i>P</i>
	GG (n= 112)	GC (n =90)	
Enfermedades reproductivas:			
Placenta retenida	13 (15/112)	23 (21/90)	0.067
Metritis	5 (6/112)	11 (10/90)	0.132
Distocia	7 (8/112)	11 (10/90)	0.325
Aborto	1 (1/112)	2 (2/90)	0.438
Enfermedades metabólicas:			
Cetosis clínica	1 (1/112)	3 (3/90)	0.216
Cetosis subclínica	10 (12/112)	56 (50/90)	0.000
Hipocalcemia	1 (1/112)	1 (1/90)	0.864
Mastitis	8 (9/112)	18 (16/90)	0.037
Acidosis ruminal	6 (10/112)	10 (9/90)	0.467

Discusión

Los resultados demuestran que las vacas tratadas con un precursor glucogénico durante el periodo de transición presentaron un menor BEN que las vacas no tratadas. De hecho, las hembras que presentan BEN tienen niveles más elevados de BHB⁽¹⁸⁾; al inicio de la lactancia, las vacas lecheras de alto rendimiento incrementan sus requerimientos de glucosa para la producción de lactosa y, cuando ésta falta, el animal moviliza los sustratos glucogénicos que dan origen a cuerpos cetónicos⁽¹⁹⁾. Esto último puede deberse al hecho de que ese precursor glucogénico es un importante sustrato para la gluconeogénesis, que puede haber estimulado la dinámica del glucógeno hepático necesario para satisfacer los requerimientos de glucosa hepática durante el periodo de transición⁽¹⁹⁾. De hecho, algunos estudios han demostrado que el uso de propionato^(10,11) o de propilenglicol^(8,9) estimula la síntesis de glucosa en las vacas lecheras al principio de la lactancia⁽²⁰⁾. Esto probablemente contribuyó a reducir los niveles de BHB en la sangre en las vacas GC; se ha afirmado que los precursores glucogénicos reducen la concentración de cuerpos cetónicos⁽²⁰⁾. Por otra parte, la administración de un precursor glucogénico redujo las concentraciones de AGNES en la sangre en las vacas GG (0.6 ± 0.1 mEq/L) en comparación con las vacas GC (0.8 ± 0.01 mEq/L), lo que sugiere que las vacas GG probablemente tenían un menor BEN que las vacas del grupo de testigo⁽⁶⁾. Ciertamente, al comienzo de la lactancia, las vacas se enfrentan a un BEN debido a su elevado rendimiento de leche paralelo a una reducción del consumo de pienso, lo que provoca un incremento en la movilización de lípidos de la grasa corporal al hígado a fin de proveer los niveles de glucosa requeridos para compensar el déficit de energía observado durante el BEN^(1,6,21).

Por lo tanto, en las vacas tratadas con el precursor glucogénico durante el periodo de transición se redujo la incidencia de hembras con trastornos metabólicos. De hecho, las vacas GG tuvieron menos cetosis subclínica que las vacas del grupo testigo (10 % vs 56 %). Según McArt *et al.*⁽¹⁸⁾, el nivel medio de BHB en la sangre que hace suponer la presencia de una cetosis subclínica es 1.2 mmol/L, el cual es cercano al promedio del grupo no tratado (1.3 mmol/L). En efecto, más del 50 % de las vacas del grupo de control, o GC, presentaron cetosis subclínica, misma que constituye un factor de riesgo para la salud de los animales y aumenta la incidencia de enfermedades reproductivas durante el periodo de frialdad. Además, la cetosis subclínica también incrementa el intervalo de retorno al estro y eleva la tasa de vacas de desecho en el hato a la vez que reduce la producción de leche, lo cual ocasiona pérdidas económicas^(3,4,14). Esto se debe probablemente a que la administración del precursor glucogénico, que asimismo redujo las concentraciones circulantes de BHB (0.9 mmol/L en las vacas GG), lo que sugiere fallas en la capacidad de adaptarse durante el periodo de

transición⁽²²⁾. Ciertamente, una vaca lechera de alto rendimiento requiere de una gran cantidad de glucosa para producir lactosa. Sin embargo, las vacas presentan una deficiencia de glucosa en la sangre, por lo que intentan compensar este reto metabólico movilizándolo desde el hígado. Es probable que este panorama fisiológico y metabólico haya provocado en las vacas del grupo de control un incremento del nivel de BHB en la sangre y que éste, a su vez, haya causado un alto porcentaje de cetosis subclínica^(6,19,20). Esto último puede también haber favorecido un mayor riesgo de enfermedades como el hígado graso y la cetosis^(6,10,20).

Por otra parte, las vacas GG tuvieron 50 % menos mastitis que las vacas del grupo de control. Esto puede obedecer a que las vacas del grupo de control tenían concentraciones de BHB en la sangre de ≥ 0.6 mmol/L desde el parto hasta el inicio de la lactancia, lo cual ha sido reportado como un factor que incrementa la probabilidad de que las vacas presenten enfermedades preparto y por consiguiente una reducción en la producción de leche^(6,23). Es probable que esto haya ocurrido porque la cetosis se ha asociado como un factor que incrementa el riesgo de mastitis clínica^(14,24). Es más, el incremento de los AGNES (≥ 0.8 mEq/L) es otro factor de riesgo asociado con otras enfermedades como la metritis, la mastitis y la cetosis clínica^(4,6). Ciertamente, cualquier desequilibrio en los niveles de energía y la condición de salud reduce la respuesta inmune compensatoria de las vacas y puede impedir que contrarresten suficientemente cualquier agravio a la salud que las ponga en riesgo⁽²⁵⁾. Hay estudios que han demostrado una relación entre las concentraciones altas de AGNES y ciertas enfermedades metabólicas e inflamatorias que afectan al sistema inmune^(26,27). Por otra parte, el reducido porcentaje de vacas que presentaron retención de placenta, comparado con el de las vacas del grupo de control, podría explicarse por el hecho de que las vacas tratadas tuvieron un metabolismo energético mejor, lo cual a su vez incrementó la funcionalidad de su sistema inmune y, por ende, llevó a una reducción de los procesos inflamatorios⁽²⁸⁾. Se sabe que las bajas concentraciones de AGNES de las vacas GG elevan el contenido de lípidos en la sangre, mientras que las concentraciones altas de AGNES en la sangre se asocian con una mayor incidencia de enfermedades del periparto (retención de placenta y desplazamiento de abomaso), así como con una predisposición a las enfermedades inflamatorias (mastitis y metritis)^(29,30); esto puede haber elevado el porcentaje de incidencia de retención de placenta^(22,31). Además, una mayor concentración de BHB en la sangre incrementa el riesgo de enfermedades reproductivas en las vacas^(3,4).

Conclusiones e implicaciones

Las vacas tratadas con un precursor glucogénico durante el periodo de transición redujeron el impacto del balance energético negativo y, en consecuencia, disminuyeron algunos

problemas de salud, tales como retención de placenta, cetosis subclínica y mastitis al inicio de la lactancia. Los resultados también indican que esa estrategia de suplementación podría ser una alternativa interesante para influir de manera positiva en el equilibrio energético durante el periodo de transición de las vacas lecheras y a la vez mejorar su condición de salud. Todas estas respuestas metabólicas y sanitarias deben contribuir a mejorar la eficiencia reproductiva de las vacas lecheras de alto rendimiento.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para cursar la Maestría en Ciencias, y a los estudiantes del Programa de Posgrado en Ciencias de la Producción Agrícola por el apoyo técnico durante la realización de la presente investigación.

Literatura citada:

1. Duffield TF, Sandals D, Leslie KE, Lissemore K, McBride BW, Lumsden JH, *et al.* Effect of prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on postpartum energy indicators in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1998;81(9):2354-2361.
2. González FD, Muiño R, Pereira V, Campos R, Benedito JL. Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function during early lactation in high-yielding dairy cows. *J Vet Sci* 2011; 2(3):251-255.
3. Oetzel GR. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet Clin North Food Anim Pract* 2004;20(3):651-674.
4. Suthar VS, Canelas-Raposo J, Deniz A, Heuwieser W. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *J Dairy Sci* 2013;96(5):2925-2938.
5. Schallenberger GR, Cardoso F, De Souza GF, Reyes CLJ, Gonzalez F. Administration of early post-partum orlan drench in dairy cows: effect on metabolic profile. *Rev Med Vet Zoot* 2015;62(3):10-17.
6. McArt JA, Nydam DV, Oetzel GR, Overton TR, Ospina PA. Elevated non-esterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *Vet J* 2013;98(3):560-570.

7. Patton RS, Sorenson CE, Hippen AR. Effects of dietary glucogenic precursors and fat on feed intake and carbohydrate status of transition dairy cows. *J Dairy Sci* 2004;87(7):2122-2129.
8. Butler ST, Pelton SH, Butler WR. Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol. *J Dairy Sci* 2006;89(8):2938-2951.
9. Lien TF, Chang LB, Horng YM, Wu CP. Effects of propylene glycol on milk production, serum metabolites and reproductive performance during the transition period of dairy cows. *Asian-Australas J Anim Sci* 2010;23(3):372-378.
10. Reynolds CK, Aikman PC, Lupoli B, Humphries DJ, Beaver DE. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J Dairy Sci* 2003;86(4):1201-1217.
11. Larsen M, Kristensen NB. Precursors for liver gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *Animal* 2013;7(10):1640-1650.
12. National Research Council. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition*. 2001.
13. Iwersen M, Falkenberg U, Voigtsberger R, Forderung D, Heuwieser W. Evaluation of an electronic cow side test to detect subclinical ketosis in dairy cows. *J Dairy Sci* 2009;92(6):2618-2624.
14. Berge AC, Vertenten G. A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *J Dairy Sci* 2014;97(4):2145-2154.
15. Mellado M, Antonio-Chirino E, Meza-Herrera C, Veliz FG, Arevalo JR, Mellado J, *et al.* Effect of lactation number, year, and season of initiation of lactation on milk yield of cows hormonally induced into lactation and treated with recombinant bovine somatotropin. *J Dairy Sci* 2011;94(9):4524-4530.
16. Dervishi E, Zhang G, Hailemariam D, Dunn SM, Ametaj BN. Occurrence of retained placenta is preceded by an inflammatory state and alterations of energy metabolism in transition dairy cows. *J Anim Sci Biotechnol* 2016;7(1):26.
17. Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 2006;65(8):1516-1530.

18. McArt JAA, Nydam DV, Oetzel GR. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *J Dairy Sci* 2012;95(9):5056-5066.
19. Aschenbach JR, Kristensen NB, Donkin SS, Hammon HM, Penner GB. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. *IUBMB life* 2010;62(12):869-877.
20. Bjerre-Harpøth V, Storm AC, Vestergaard M, Larsen M, Larsen T. Effect of postpartum propylene glycol allocation to over-conditioned Holstein cows on concentrations of milk metabolites. *J Dairy Res* 2016;83(2):156-164.
21. Tóthová C, Nagy O, Kováč G. Relationship between some variables of protein profile and indicators of lipomobilization in dairy cows after calving. *Archiv Tierzucht* 2014;57(1):1-9.
22. Duffield TF, LeBlanc SJ. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. In: *Southwest Nutrition and Management Conference*; 2009:106-114.
23. Chapinal N, Carson ME, LeBlanc SJ, Leslie KE, Godden S, Capel M, et al. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *J Dairy Sci* 2012;95(3):1301-1309.
24. Leslie KE, Duffield TF, Schukken YH, LeBlanc SJ. The influence of negative energy balance on udder health. In: *Proc National Mastitis Council Regional Meeting*; 2000:25-33.
25. Berry DP, Lee JM, Macdonald KA, Stafford K, Matthews L, Roche JR. Associations among body condition score, body weight, somatic cell count, and clinical mastitis in seasonally calving dairy cattle. *J Dairy Sci* 2007;90(2):637-648.
26. Zhang WY, Schwartz E, Wang Y, Attrep J, Li Z, Reaven P. Elevated concentrations of nonesterified fatty acids increase monocyte expression of CD11b and adhesion to endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26(3):514-519.
27. Yaqoob P, Calder PC. Fatty acids and immune function: new insights into mechanisms. *Br J Nut* 2007;98(S1):41-45.
28. Roche JR, Berry DP. Periparturient climatic, animal, and management factors influencing the incidence of milk fever in grazing systems. *J Dairy Sci* 2006;89(7):2775-2783.

29. Dyk PB, Emery RS, Liesman JL, Bucholtz HF, Vandehaar MJ. Prepartum non-esterified fatty acids in plasma are higher in cows developing periparturient health problems. *J Dairy Sci* 1995;78(1):264.
30. Sordillo LM, Contreras GA, Aitken SL. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. *Anim Health Res Rev* 2009;10(1):53-63.
31. LeBlanc SJ, Leslie KE, Duffield TF. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2005;88(1):159-170.