



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVP/MA

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

CUAUTITLAN

SEMINARIOS DE CORRELACION

BIOQUIMICA - MEDICINA VETERINARIA

T E S I S

Que para obtener el título de :

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

p r e s e n t a :

EDUARDO JOSE GUILLEN DE LA SERNA

Director de la tesis:

M.V.Z. CARMEN GUARDIOLA DE MICHEL, M. Sc.

1 9 8 0



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*D. J. Guillen*



ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

C U A U T I L A N

**seminarios de correlación  
bioquímica-medicina veterinaria**

**TESIS PROFESIONAL**

**1980**

EDUARDO JOSE GUILLEN DE LA SERNA

J U R A D O

Presidente: M.V.Z. Othón Enrique Straffon Muris

Vocal: M.V.Z. Carmen Guardiola de Michel

Secretario: M.V.Z. Eduardo Muñoz Delgado

1er. Suplente: M.V.Z. Raúl Arturo Mar Cruz

2o. Suplente: M.V.Z. J. Fernando Altamirano Abarca



## INDICE

	pág.
Introducción.....	1
Intoxicación por urea.....	5
Intoxicación por arsénico.....	17
Aflatoxicosis.....	25
Acidosis láctica.....	40
Intoxicación por cianuro.....	50
Hipoglucemia en lechones.....	58
Síndrome hígado graso y hemorrágico.....	70
Gota en aves.....	84
Cetosis de los rumiantes.....	99

## INTRODUCCION

Utilizar los principios aprendidos en clase para analizar los problemas más frecuentes en la práctica profesional...

El objetivo de la enseñanza de la Bioquímica en nuestra carrera no debe restringirse exclusivamente al conocimiento básico en forma abstracta, sino darle una orientación hacia su aplicación en los problemas a los cuales nos enfrentaremos en la práctica profesional.

La Bioquímica es una de las pocas ciencias básicas en donde se conjugan los reinos vegetal y animal. En la educación e investigación veterinarias, la Bioquímica es muy relevante en sus aspectos de metabolismo y función de los animales en la salud y enfermedad, y forma parte de las bases para un mejor entendimiento de los principales aspectos de las ciencias veterinaria y producción animal. Es por esto que surge la necesidad de un adecuado reconocimiento del lugar de la Bioquímica en la educación veterinaria. Únicamente a través de un sólido conocimiento de esta materia estaremos capacitados para estudiar, o para seguir una línea de investigación, en las áreas tales como nutrición animal, producción de leche, farmacología, fisiología animal, genética animal, patología clínica y otras. En ausencia de las bases aportadas por la Bioquímica es difícil obtener un conocimiento claro en las áreas de estudio citadas.

En el campo de la enseñanza, se debe proveer al estudiante de Medicina Veterinaria y Zootecnia de un entendimiento básico de los eventos bioquímicos en los animales sanos y enfermos, los aspectos bioquímicos de la producción animal y el significado de las pruebas de laboratorio. Para llevar a cabo los objetivos mencionados se propone el presente tra-

bajo, en el cual se analizan desde el punto de vista bioquímico algunas de las enfermedades de los animales domésticos. Se propone que estos seminarios sean una parte importante del curso de Bioquímica, ya que permiten aplicar los nuevos conocimientos aprendidos. Por medio de esta metodología de la enseñanza, el alumno aprende nuevos principios y conceptos, los repasa y, tal vez lo más importante, entiende el por qué la Bioquímica es una asignatura fundamental en las ciencias de la salud y como se involucran sus principios en la práctica profesional cotidiana.

Quienes cursamos la Bioquímica en la forma tradicional, en la cual solo en contadas ocasiones se mencionan las aplicaciones prácticas de estos conocimientos, frecuentemente nos preguntamos ¿Por qué tenemos que aprender esto? ¿Qué relación tiene esta materia con la Medicina Veterinaria y Zootecnia? Lo que generalmente sucede es que estas preguntas quedan sin respuestas y los alumnos dedican sus mejores esfuerzos a otras materias, tal vez más objetivas, más fáciles de constatar con sus sentidos, y el resultado es una elevada tasa de reprobados y quienes logran aprobar lo hacen únicamente por memorización previa al examen final, olvidando rápidamente los conceptos al no encontrarles aplicación. Al avanzar en las demás asignaturas de la carrera nos damos cuenta de la importancia de la Bioquímica para poder comprender y "disfrutar" de los nuevos conocimientos que se nos ofrecen, los cuales por falta de bases sólidas no asimilamos totalmente o, algo que por desgracia sucede frecuentemente, esos conceptos son vertidos en forma trunca o incorrecta ya que tampoco los profesores tuvieron una buena enseñanza de esta materia.

Al igual que las demás materias básicas de nuestra carrera, la Bioquímica debe cursarse en los primeros semestres ya que nos brinda los cimientos sobre los cuales se han de edificar nuestros conocimientos y desarrollo de la práctica profesional.

Utilizando el sistema de análisis de los seminarios, - los principios bioquímicos pueden ser extractados y aplicados para explicar los eventos fisiológicos y las alteraciones en términos químicos, ya que considero que muchas enfermedades no son más que el reflejo celular, tisular y - orgánico de las alteraciones a nivel molecular y metabólico que afectan al individuo y obviamente, para poder corregirlas o prevenirlas debemos conocer los mecanismos y funciones básicas, todo esto fundamentado en el conocimiento sólido de la Bioquímica y Fisiología de los animales domésticos.

Debe aclararse que la intención de este trabajo no es - describir la patología, la práctica clínica ni el manejo de los animales, ya que estos aspectos serán tratados debidamente en sus respectivas asignaturas. El objetivo de estos seminarios es, como lo indica su nombre, brindar al alumno una correlación de la materia básica, abstracta, con sus - aplicaciones en la clínica y en la producción. Es por esto que los seminarios se han desarrollado dentro del siguiente esquema general: Introducción, Cambios Bioquímicos, Signos Clínicos, Prevención y Tratamiento y Bibliografía, donde - la parte medular corresponde a los Cambios Bioquímicos y las otras secciones son solo complementarias, por lo cual solo se tratan en forma superficial.

La serie de referencias citadas, que a primera vista tal vez parezcan excesivas, son las fuentes de los conocimientos vertidos en los seminarios y deben manejarse y entenderse como un banco de datos para aumentar y continuar la educación. Es imperativo que los estudiantes sean acostumbrados desde los primeros semestres a la metodología e incalculable valor de la investigación bibliográfica, la cual - debe adoptar para aumentar sus conocimientos y despertar - su curiosidad científica.

En el último de los seminarios, cetosis de los rumiantes, se trata de manejar un problema en el cual el alumno integre todos los conocimientos adquiridos en el semestre y de esta forma repase tales principios y visualice en forma integral que el conocimiento de todas las áreas de la Bioquímica son útiles, fundamentales y ciento por ciento aplicables en la Medicina Veterinaria y en la Producción Animal.

Deseo que este trabajo realizado con el interés de ayudar a la superación académica de nuestra profesión de sus frutos y los Medicos Veterinarios Zootecnistas de las futuras generaciones sean más científicos, más investigadores y mejores profesionistas representantes de nuestra escuela.

# INTOXICACION POR UREA

## INTRODUCCION.

La urea puede ser utilizada como fuente de nitrógeno no proteico (NNF) en la dieta para los rumiantes, ya que estos animales cuentan con una microflora capaz de hidrolizar a la urea, por medio de la enzima ureasa, y liberar amoniaco. El amoniaco desprendido es utilizado para sintetizar aminoácidos, proteínas y otras sustancias nitrogenadas en el rumen. Normalmente, los aminoácidos de la dieta son desaminados ya que, según Bryant (8), el 80% de 44 cepas de bacterias ruminales estudiadas por él utilizan al amoniaco como única fuente de nitrógeno y el 26% de dichas cepas no se desarrollan si no está presente en el medio esta sustancia. Si se les suministra una fuente de nitrógeno, aunque no sea de origen proteico, esos microorganismos pueden sintetizar proteínas microbianas, las cuales serán digeridas por el rumiante en su abomaso e intestino para, posteriormente, absorber los aminoácidos hacia la sangre y utilizarlos en la síntesis de sus proteínas, entre ellas las de la lana, músculo y leche (Fig. 1).

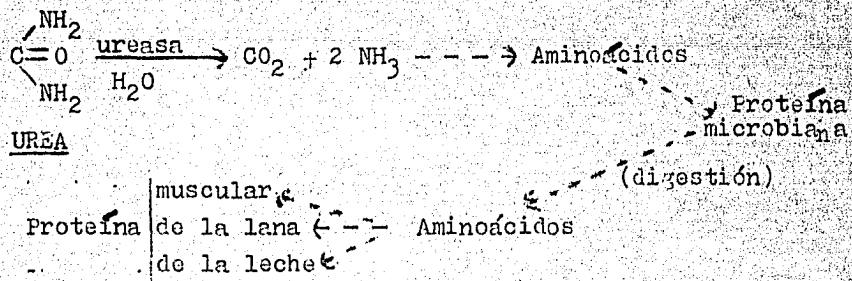


Fig. 1.- Utilización del N de la urea por los microorganismos ruminales y su posterior aprovechamiento por los rumiantes.

La intoxicación a la que se hará referencia es causada por el amoniaco que se libera en grandes cantidades debido a una excesiva hidrólisis de la urea por los microorganismos del rumen, por esto es que el término "intoxicación por urea" es engañoso, ya que la intoxicación es causada por el amoniaco que penetra a la sangre y por la incapacidad del hígado para meta-



bolizarlo rapidamente.

En vista de que el reemplazo parcial o total de la proteina preformada con nitrógeno no proteico tiene grandes ventajas económicas en la explotación de los rumiantes, se han investigado un gran número de fuentes diferentes a la urea para su incorporación como ingredientes del alimento; entre ellos estan el biuret, dicianodiamida y ultimamente una mezcla de granos y urea (Starea) procesados por calentamiento a grandes presiones y extrusión (17,27). El principal propósito de estas investigaciones ha sido el de disminuir la tasa de desprendimiento del amoniaco a un límite tal que la microflora ruminal sea capaz de incorporarlo a su citoplasma y así disminuir la potencial toxicidad del amoniaco, evitando además la pérdida de nitrógeno utilizable. En el caso de la Starea, ésta proporciona a los microorganismos carbohidratos como fuente de energía y esqueletos carbonados necesarios para incorporar el amoniaco y así formar los aminoácidos (14,16).

#### CAMBIOS BIOQUIMICOS.

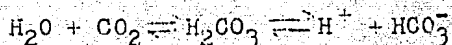
##### 1.- Hidrólisis de la urea.

Uno de los mayores problemas en la eficiente utilización de la urea como fuente de NNP es la rápida liberación del amoniaco, ya que la hidrólisis de la urea ocurre cuatro veces mas rápido que la utilización del amoniaco y por lo tanto, el resultado es una eventual pérdida de nitrógeno útil para la síntesis de proteina microbiana. Si la tasa de liberación del amoniaco fuera mas lenta y/o si se tuvieran esqueletos de carbono facilmente disponibles para la incorporación de dicho amoniaco y formar aminoácidos, todo podría ser convertido en proteina microbiana (4,10).

##### 2.- Comportamiento del amoniaco en solución.

El amoniaco pertenece a la clase de sustancias llamadas ácidos débiles o bases, las cuales existen en parte como moléculas disociadas. Muchos importantes agentes fisiológicos y farmacológicos pertenecen a esta clase de sustancias. El ácido carbónico, uno de los ácidos débiles más universalmente distribuidos, es conocido por su importante papel en la respira-

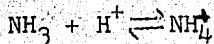
ción de los animales superiores. Otros ácidos débiles orgánicos son el acético, láctico y hidroxibutírico, los cuales son productos comunes del metabolismo. En todos los casos, la cantidad en que se encuentran disociados depende mucho del pH. Los electrolitos débiles existen en estado de equilibrio como diferentes especies moleculares e iónicas en el medio fisiológico y su comportamiento se rige por la Ley de Acción de las Masas (38). Como un ejemplo tenemos al ácido carbónico ( $H_2CO_3$ ) que es un ácido débil, el cual en agua se ioniza para formar algunos protones ( $H^+$ ) y algunos iones bicarbonato ( $HCO_3^-$ ):



Sus respectivas concentraciones dan un producto, el cual siempre da una relación fija a la concentración de moléculas no disociadas ( $H_2CO_3$ ). Esta relación es la llamada constante de disociación ( $K_a$ ):

$$K_a = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

El amoníaco ( $NH_3$ ), en contraste con el ácido carbónico, es una base débil, la cual puede tomar  $H^+$  y formar el ión amonio ( $NH_4^+$ ). En solución el ión amonio se comporta como un ácido débil y da solo algunos  $H^+$  y algunas moléculas de amoníaco:



Esta interrelación puede ser expresada en forma cuantitativa:

$$K_a = \frac{[H^+][NH_3]}{[NH_4^+]}$$

Es aparente que estas interrelaciones para ambos, un ácido débil o una base débil, pueden ser expresadas en términos cuantitativos como su afinidad por los  $H^+$ . Los valores de la concentración de protones y de  $K_a$  en cualquier circunstancia son muy precisas pero extremadamente pequeñas e inconvenientes. Por esto, sus respectivos logaritmos negativos, pH y  $pK_a$ , son los términos que más se utilizan.

El  $pK_a$  varía con las condiciones y por lo tanto, se le denomina  $pK'_a$ . El  $pK'_a$  para el amoníaco en plasma es de 9.02 a  $-37^\circ\text{C}$  (20) y de 8.8 a  $40^\circ\text{C}$  en el líquido ruminal (6,10,19). La interrelación del  $pK_a$  con el pH puede expresarse con la bien conocida ecuación de Henderson-Hasselbach, para colocar la concentración de la base conjugada ( $\text{NH}_3$ ) en el numerador y la concentración de su ácido conjugado ( $\text{NH}_4^+$ ) en el denominador:

$$\text{pH} = pK'_a + \log \frac{[\text{NH}_3]}{[\text{NH}_4^+]}$$

El pH de cualquier solución determinado por un electrodo (potenciómetro) no es estrictamente un reflejo de la actividad de los iones hidrógeno, sino el resultado neto de las actividades de los electrolitos en todas sus formas (38). La fuerza de un ácido está indicada por lo bajo de su  $pK_a$  y la fuerza de una base por lo grande de su  $pK_a$ . El pH al cual un ácido o una base están la mitad ionizados es igual a su  $pK_a$ . Cuando el pH está una unidad por debajo del  $pK_a$ , un ácido está 9% ionizado y una base lo está en un 91%. Por otra parte, cuando un ácido está ionizado 91% o una base lo está el 9%, el pH está una unidad por encima de su  $pK_a$ . Es por esto que cualquier ácido débil o base débil, si está parcialmente ionizado, es un buffer efectivo en el rango de pH de una unidad por debajo hasta una unidad por encima de su valor de  $pK_a$ .

Es aparente que la concentración del amoníaco no ionizado, que existe en equilibrio con la forma ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ), puede calcularse utilizando la siguiente ecuación, si se conocen el pH y la concentración total del amoníaco ( $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ). Esto se maneja así ya que ni el  $\text{NH}_3$  ni los protones pueden determinarse por métodos directos.

$$\% \text{ ionizado} = \frac{100}{1 + \text{antilog}(\text{pH} - pK'_a)}$$

Los cálculos utilizando esta ecuación muestran que el porcentaje de ionización sigue una curva sigmoidea en función del

pH, como se muestra en la Fig. 2, para el ácido carbónico ( $pK'_a$  6.1) y para el amoniaco ( $pK'_a$  9.02) en el plasma.

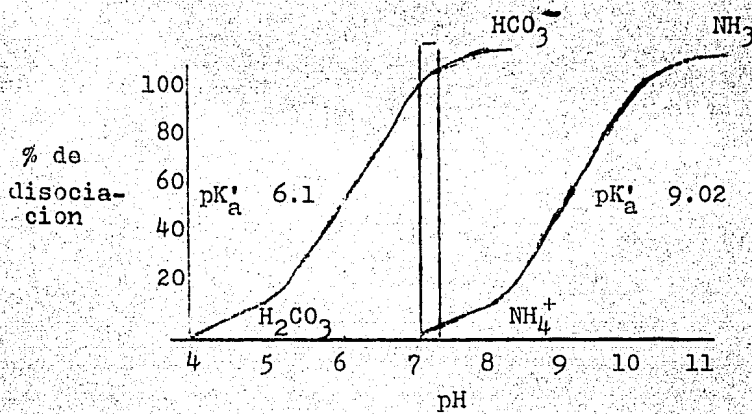


Fig. 2.- Porcentaje de disociación del ácido carbónico y del ión amonio en función del pH. La barra vertical indica el rango del pH fisiológico de 7.2 a 7.4 para los mamíferos. Tomado de Visek (36).

Un pequeño cambio de pH cercano al  $pK'_a$  puede causar un gran cambio en el porcentaje de ionización, como se muestra en la tabla siguiente:

TABLA 1

pH	pH - $pK'_a$	% $NH_3$	% $NH_4^+$
9.02	0	50.00	50.00
8.72	-0.30	33.38	66.62
8.42	-0.60	20.07	79.93
8.12	-0.90	11.18	88.82
8.02	-1.00	9.09	90.91
7.82	-1.20	5.93	94.07
7.52	-1.50	3.06	96.93
7.42	-1.60	2.50	97.50
7.22	-1.80	1.56	98.44
6.92	-2.10	0.75	99.25
6.62	-2.40	0.38	99.62

Relación del pH y la ionización del amoniaco en plasma a  $37^\circ C$  ( $pK'_a$  9.02). Tomado de Visek (36).

En general, hay una duplicación en la concentración de los iones hidrógeno por cada cambio de 0.3 unidades en el pH cercano al pH fisiológico (pH 7.4). Dado que la cantidad de amoniaco no iónico en solución es inversamente proporcional a la concentración de los iones hidrógeno, aproximadamente una duplicación en el amoniaco libre puede esperarse por cada elevación de 0.3 unidades en el valor del pH.

El amoniaco no iónico en el líquido ruminal y en el plasma ejerce una presión parcial ( $pNH_3$ ) y difunde de las áreas de mayor  $pNH_3$  a las de menor. Las diferencias de pH a través de las membranas celulares influyen en esta difusión y tienden a mover al amoniaco a través de éstas, aún si las concentraciones del ión amonio en ambos lados es igual.

### 3.- Absorción del amoniaco.

El amoniaco atraviesa la pared ruminal encontrándose en concentraciones significativas en el drenaje venoso del rumen (22,23). Los niveles normales de amoniaco en rumen son de 8 a 10 mg % (1,13,14). Al estudiar la toxicidad se ha descubierto que la absorción del amoniaco ruminal no solo depende del gradiente de concentración sino también del pH. Se ha observado que se absorbe 3 veces más amoniaco a pH 6.5 que a pH 4.5 y es absorbida preferentemente la forma no ionizada, liposoluble, más que el ión amonio (5,19). Además, el pH óptimo para la actividad ureolítica es de 7.7 a 8.5 (13,26,28,29). Es por esto que no existe una relación directa entre la concentración del amoniaco en rumen y su toxicidad, sino que esta última depende más del pH ruminal y la concentración del amoniaco sanguíneo (1,13,14). Se pueden encontrar concentraciones tóxicas de amoniaco en sangre aunque en rumen sean bajas, siempre y cuando el pH ruminal este alcalino (el pH ruminal normal va de 5.5 a 6.5, siendo variable en función del tipo de dieta). En los casos de intoxicación por urea llega a ser de 7.4 (13,36).

La rápida hidrólisis de la urea provoca una elevación del pH ruminal ya que, desafortunadamente, la capacidad buffer del fluido ruminal ante álcalis no es tan grande como ante los ácidos (6).

#### 4.- Niveles tóxicos.

Cuando la concentración de amoniaco en sangre pasa de los 0,8 mg% se presentan los signos clínicos (1,10,21,37,39). Como ya se mencionó antes el mecanismo para la absorción del amoniaco, se comprenderá que no se puede establecer una dosis tóxica oral, ya que depende mucho del pH ruminal. Lewis y col. (22) indicaron que dicha sustancia en el rumen a una concentración de 84 mg% provocaba una elevación del amoniaco sanguíneo. Recientemente, Davidovich y col (13) encontraron que a los cinco minutos de administrar urea por vía oral y alcanzar una concentración ruminal de 19.89 mg/100 ml, en plasma esta sustancia ya promediaba 0.711 mg%, lo cual indica que el hígado es incapaz de detoxificarlo aún cuando en rumen la concentración sea baja. Bartley y col. (1) indican que en sus experimentos no se presentaron signos de toxicidad mientras el pH ruminal no fuera mayor de 7.2.

#### 5.- Compensación.

Los mamíferos y las aves tienen sistemas efectivos para excretar el amoniaco o convertirlo en productos no tóxicos. Al pasar la sangre por el hígado se remueve el amoniaco y es convertido a urea (en los mamíferos), la cual es llevada por la sangre a los riñones donde es excretada (24). En los rumiantes, la urea sanguínea también es captada por las glándulas salivales, reciclando de esta forma al nitrógeno (32,33). Los riñones pueden captar el amoniaco de la sangre e incorporarlo al ácido glutámico para sintetizar la glutamina. El cerebro y otros tejidos también son capaces de utilizar al amoniaco en esta forma (2,3).

La elevación del pH sanguíneo de su valor normal de 7.4 a 7.5 en casos de intoxicación, mientras que la  $pCO_2$  no es alterada, indica que se trata de una alcalosis metabólica (13). La compensación pulmonar (hipoventilación) mostrada por los animales intoxicados, especialmente cerca de la muerte, indican una acidosis respiratoria compensatoria (30). También se ha reportado un incremento en el ácido láctico sanguíneo, lo cual incrementa el efecto acidótico (Lloyd, citado por Davidovich y col., 13).



## SIGNOS CLINICOS.

Los signos clínicos de la intoxicación por un consumo excesivo de urea se desarrollan rápidamente, en un intervalo de 30 a 60 minutos después de la ingestión. Esto pone de manifiesto la elevada actividad ureásica de los microorganismos ruminales y la inhabilidad del hígado para convertir todo el amoniaco absorbido a urea (1,10). Los principales signos de esta intoxicación son neurológicos y totalmente reversibles sin evidencia de daño estructural, por lo cual se enfatiza en posibles desarreglos del metabolismo cerebral (36). En forma progresiva los signos son: inquietud, embotamiento, temblores musculares y de la piel, excesiva salivación, respiración dificultosa, incoordinación, postración, rigidez de miembros anteriores, tetania (temblores musculares seguidos de espasmos) y en ocasiones timpanismo. El pulso y la respiración se tornan cada vez mas lentos y los animales mueren en un lapso de  $1\frac{1}{2}$  a  $2\frac{1}{2}$  horas después de la aparición de los signos (1,17,25,34).

Lewis, citado por Chalupa (10), indica que la toxicidad del amoniaco en los rumiantes es un problema que involucra: a) un efecto tóxico directo del ión amonio en los centros nerviosos; b) un disturbio en el equilibrio ácido-base y c) un cambio en el balance electrolítico.

## PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO.

Como se vió anteriormente, la cantidad de urea necesaria para producir una intoxicación esta influenciada por varios factores. Los animales acostumbrados a una dieta que contenga urea tienen menos probabilidades de intoxicarse, ya que su microflora ruminal estará adaptada para aprovechar más rápidamente el amoniaco desprendido (21). Existen otras hipótesis para explicar la tolerancia hacia concentraciones altas de urea dietética: mayor conversión del amoniaco a urea por el hígado, mayor utilización del amoniaco por la mucosa ruminal o una más rápida excreción de urea por el riñón (10). Church (11) señala que esa adaptación lograda con pequeños incrementos diarios de urea en la ración se pierde rápidamente si se deja

de suplementar urea.

Otra importante medida preventiva es que al suministrar urea, la microflora ruminal cuente con un adecuado aporte de carbohidratos de fácil fermentación, tales como melazas o almidón, como fuente de cadenas hidrocarbonadas necesarias para la síntesis de aminoácidos; para producir una fermentación más ácida en rumen, lo cual a su vez reduce la tasa de absorción del amoníaco (7,14,36) y también como fuente de energía para los procesos biosintéticos (10,18).

Se debe señalar que en los experimentos que han estudiado la toxicidad de la urea, las dosis se han suministrado en una sola toma. De ahí que en la práctica, Preston y Willis (27) con dosis repartidas a lo largo de todo el día, han logrado suministrar en una dieta miel/urea en ganado de carne hasta 75 g de urea/100 Kg de peso vivo (p.v.) y cantidades tan elevadas como 200 g de urea/100 Kg de p.v./día en vacas lecheras, en ambos casos sin manifestarse signos de toxicidad. Se ha reportado el reemplazo total del nitrógeno proteico por NNP en vacas lecheras sin influir en su producción (35), aunque existen algunos argumentos que indican la necesidad de un mínimo de proteína en el alimento (9,18).

Como tratamiento de esta intoxicación se ha propuesto la infusión de soluciones al 5% v/v de ácido acético al rumen (12, 31), pero recientemente se ha demostrado que la mejor medida terapéutica es la de vaciar el rumen-retículo por medio de una rumenotomía, ya que por este método se han obtenido un 100% de recuperaciones, aún en animales ya tetanizados. Se deben tomar las medidas preventivas necesarias para evitar una peritonitis (1,13). Con este procedimiento se ha encontrado que el amoníaco sanguíneo se elimina rápidamente y la tetania cesa en 30 minutos. Se recomienda rellenar el rumen con agua tibia y repoblar la flora y fauna ruminales introduciendo fluido ruminal fresco de animales sanos o bolos (1,13). Los animales así tratados han mostrado una rápida recuperación y una buena fermentación ruminal en un término de 48 horas.

## PREGUNTAS BIOQUIMICAS.

- 1.- Utilizando los datos de la tabla 1, indique cuales serán las concentraciones de amoniaco y de amonio en plasma, a un pH 7.52, si la concentración total de amoniaco ( $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ) es de 0.8 mg %.
- 2.- ¿Por qué si se suministra una dosis de urea de 0.5 g/Kg de p.v. a animales con un pH ruminal de 5.5 no se presentan signos de intoxicación, mientras que en animales bajo el mismo tratamiento pero con pH ruminal de 7.0 si los presentan?
- 3.- ¿Que importancia tiene el suplementar junto con la urea carbohidratos de fácil fermentación?
- 4.- ¿Cuál es el razonamiento para tratar a los animales intoxicados con ácido acético por vía oral? ¿Que relación molar (2:1, 4:1, etc) de ácido acético utilizaría para tratar a un animal que ingirió un mol de urea?
- 5.- Explique los mecanismos de compensación ante esta alcalosis.

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Bartley, E.E., A.D. Davidovich, G.W. Barr, G.W. Griffel, A.D. Dayton, C.W. Devoe and R. Bechtle. (1976) Ammonia toxicity in cattle. I. - Ruminal and blood changes associated with toxicity and treatment methods. J. Anim. Sci. 43(4):835-841.
- 2.- Bessman, S.P. and A.N. Bessman. (1955) The cerebral and peripheral uptake of ammonia in liver disease with an hypothesis for the mechanism of hepatic coma. J. Clin. Invest. 34:662.
- 3.- Bessman, S.P. and J.E. Bradley. (1955) Uptake of ammonia by muscle, its implications in ammoniagenic coma. New England J. Med. 253:1143.
- 4.- Bloomfield, R.A., G.B. Garper and M.E. Muhrer. (1960) Kinetics of urea metabolism in sheep. J. Anim. Sci. 19:1248.
- 5.- Bloomfield, R.A., E.O. Kearley, D.O. Creech and M.E. Muhrer. (1961) Ruminal pH and absorption of ammonia and VFA. J. Anim. Sci. 22:8336.
- 6.- Bloomfield, R.A., E.G. Komer, R.P. Wilson and M.E. Muhrer. (1966) Alkaline buffering capacity of rumen fluid. J. Anim. Sci. 25:1276.
- 7.- Bloomfield, R.A., R.P. Wilson and G.B. Thompson. (1964) Influence of energy levels on urea utilization. J. Anim. Sci. 23:888.
- 8.- Bryant, M.P. (1963) Symposium on microbial digestion in ruminants: identification of groups of anaerobic bacteria active in rumen. J. Anim. Sci. 22:801.
- 9.- Bryant, M.P. and I.M. Robinson. (1962) Some nutritional characteristics of predominant culturable ruminal bacteria. J. Fact. 84:605.

- 10.- Chalupa, W. (1968) Problems in feeding urea to ruminants. *J. Anim. Sci.* 27:207-219.
- 11.- Church, D.C. (1974) *Fisiologia digestiva y nutricion de los rumiantes*. Vol. 1, Ed. Acribia, España.
- 12.- Clark, R. W. Ovaert and J.I. Quinn. (1951) Studies on the alimentary tract of the merino sheep in South Africa. xii. The toxicity of urea to sheep under different conditions. *Onderstepoort J. Vet. Sci.* 25:73.
- 13.- Davidovich, A.; E.F. Bartley, T.E. Chapman, R.M. Bechtle, A.D. Dayton and R.A. Frey. (1977) Ammonia toxicity in cattle. III. Changes in carotid and jugular blood components associated with toxicity. *J. Anim. Sci.* 44(4):702-709.
- 14.- Davidovich, A.; E.F. Bartley, G.A. Milliken, A.D. Dayton, C.W. Devoe and R.M. Bechtle. (1977) Ammonia toxicity in cattle. IV. Effects of unprocessed or extrusion-cooked mixtures of grain and urea, biuret or dicyanodiamide and liquid supplements on rumen and blood changes associated with toxicity. *J. Anim. Sci.* 45(8):1397-1408.
- 15.- Davis, G.K. and H.F. Roberts. (1959) Urea toxicity in cattle. *Fla. Agr. Exp. Sta. Bull.* 611
- 16.- Hale, W.H. (1956) Rumen metabolism of non-protein nitrogen. *J. Agr. Food Chem* 4:948.
- 17.- Halmer, I.G. and E.E. Bartley. (1971) Progress in the utilization of urea as a protein replacer for ruminants. A review. *J. Dairy Sci.* 54:25-51.
- 18.- Henderickx, H.K. (1976) Aspectos cuantitativos del uso del nitrógeno no-proteico en la alimentación de los rumiantes. *Rev. Cubana de Cienc. Agric.* 10:1-19.
- 19.- Hogan, J.P. (1961) The absorption of ammonia through the rumen of the sheep. *Australian J. Biol. Sci.* 14:448.
- 20.- Jacques, J.A., J.W. Poppell and R. Jeltsch. (1959) Solubility of ammonia in human plasma. *J. Appl. Physiol.* 14:255.
- 21.- Lewis, D. (1960) Ammonia toxicity in the ruminant. *J. Agr. Sci.* 55:111
- 22.- Lewis, D., K.J. Hill and E.F. Annison. (1957) Absorption of ammonia from the rumen of the sheep. *Biochem. J.* 66:587.
- 23.- McDonald, I.W. (1948) The absorption of ammonia from the rumen of the sheep. *Biochem. J.* 42:387.
- 24.- Mazur, A. y B. Harrow. (1973) *Bioquímica básica*. 10<sup>a</sup> ed. Editorial Interamericana, México.
- 25.- Oltjen, R.R., G.R. Waller, A.B. Nelson and A.D. Tillman. (1963) Ruminant studies with diammonium phosphate and urea. *J. Anim. Sci.* 22:36.
- 26.- Pearson, R.M. and J.A.B. Smith. (1943) The utilization of urea in the bovine rumen. 2. The conversion of urea to ammonia. *Biochem. J.* 37:148.
- 27.- Preston, T.R. y M.B. Willis. (1975) *Produccion intensiva de carne*. Ed. Diana. Mexico.
- 28.- Prokop, M.J., W. Woods and T.J. Klopfenstein. (1971) Factors affecting ruminal urease activity. *J. Anim. Sci.* 33:1169. (abst).
- 29.- Rahman, S.A. and P. Decker. (1966) Comparative study of the urease in the rumen wall and rumen content. *Nature* 209:618.
- 30.- Rash, J.J., M. Muhrer and R.A. Bloomfield. (1968) Identification of respiratory acidosis during ammonia toxicity. *J. Anim. Sci.* - 26:1488 (abst.).

- 31.-- Repp, W.W., W.H. Hale, E.W. Cheng and W. Burroughs. (1955) Influence of oral administration of non-protein nitrogen feeding compound upon blood ammonia and urea levels in lambs. *J. Anim. Sci.* 14:118.
- 32.-- Schmidt-Nielson, B. and Osaki, H. (1958) Renal responses to changes in nitrogen metabolism in sheep. *Am. J. Physiol.* 193:657.
- 33.-- Schmidt-Nielson, B., H. Osaki, H.V. Murdaugh Jr. and R. O'Dell. (1958) Renal regulation of urea excretion in sheep. *Am. J. Physiol.* 194:221.
- 34.-- Singer, R.H. and R.T. McCarthy. (1971) Acute ammonium salt poisoning in sheep. *Am. J. Vet. Res.* 32:1229.
- 35.-- Virtanen, A.I. (1966) Milk production of cows on protein-free feed. *Science* 153:1603.
- 36.-- Vissek, W.J. (1968) Some aspects of ammonia toxicity in animal cells. *J. Dairy Sci.* 51:286-295.
- 37.-- Webb, D.W., E.E. Bartley and R.M. Meyer. (1972) A comparison of nitrogen metabolism and ammonia toxicity from ammonium acetate and urea in cattle. *J. Anim. Sci.* 35:1263.
- 38.-- West, F.S., W.R. Todd, H.S. Mason and J.T. Van Bruggen. (1969) - *Bioquímica Médica*, 4<sup>th</sup> ed. Editorial Interamericana, Mexico.
- 39.-- Word, J.D., L.C. Martin, D.L. Williams, E.I. Williams, R.J. Panciera, T.E. Nelson and A.D. Tillman. (1969) Urea toxicity studies in the bovine. *J. Anim. Sci.* 29:786.

# INTOXICACION POR ARSENICO

## INTRODUCCION.

Se suele considerar al arsénico (As) como un metal, aunque por sus propiedades químicas y su posición en la tabla periódica de los elementos es un cuerpo no metálico. Este elemento existe en tres estados de oxidación:  $3^-$  (elemental),  $3^+$  (trivalente o arsenitos) y  $5^+$  (pentavalente o arsenatos), pudiendo encontrarse estas dos últimas formas tanto en los arsenicales orgánicos como en los inorgánicos.

Hubo una época en la cual el arsénico ocupó un lugar prominente como agente terapéutico, pero en la actualidad el uso de los arsenicales tiene una marcada tendencia a desaparecer.

Casi todos los arsenicales inorgánicos se pueden considerar sales del trióxido de arsénico ( $As_2O_3$ ), teniendo como ejemplos a los arsenitos de sodio, potasio y cobre, y a los tioarsenitos, a los arsenatos de sodio, potasio, plomo y calcio. Algunas de las sustancias antes mencionadas fueron utilizadas como insecticidas, defoliantes, herbicidas, baños garrapaticidas y rodenticidas.

El arsénico esta ampliamente distribuido en la naturaleza, siendo las principales fuentes naturales el sulfuro amarillo (orpimente,  $As_2S_3$ ) y el anaranjado (rejalgar,  $As_2S_2$ ). Además, el arsénico está combinado con muchos otros sulfuros metálicos. Cuando se funden los minerales, principalmente los de hierro y cobre, para beneficiar los metales, el arsénico presente como impureza es oxidado a trióxido de arsénico y sale como un polvo muy fino en los humos, contaminando los pastizales cercanos. Se han presentado frecuentes envenenamientos por arsénico en el ganado que pasta cerca de las fundiciones (12).

El arsénico es una impureza muy común en muchos compuestos químicos. En mayo de 1976 se presentó una intoxicación masiva del ganado lechero de Gómez Palacio, Dgo., al ser confundido mineral arsenioso (piritas) con rocas fosfóricas y ser suministra-



das como fuente de fósforo en el concentrado. Por esta intoxicación murieron 1364 animales de los 5886 expuestos (4,15). Por lo anterior, el médico veterinario debe estar siempre alerta, ya que el arsénico es un constante riesgo de envenenamiento.

Otro gran grupo de compuestos arsenicales son los orgánicos, la mayoría derivados del ácido bencenarsónico. Estos arsenicales bencénicos son muy estables y liberan su arsénico muy lentamente in vivo. El envenenamiento con este tipo de arsenicales se manifiesta generalmente en forma diferente a la causada por los arsenicales inorgánicos. Las principales fuentes de arsenicales orgánicos para los animales domésticos son algunos aditivos del alimento, parasiticidas o compuestos para mejorar las ganancias de peso (ácido arsanílico, ácido 4 nitrofenilarsonico, etc.) (7,15).

Los arsenicales que no poseen grupos altamente polares son liposolubles y atraviezan con facilidad la piel. Cualquiera que sea la forma de un arsenical, todas sus acciones tóxicas pueden atribuirse a la forma arsenosa trivalente, ya sea que la tenga originalmente o que haya sido convertida a ella en el organismo (2,3).

La toxicidad del arsénico y sus compuestos depende principalmente de su solubilidad. En general, los arsenicales orgánicos son mucho menos tóxicos que los inorgánicos, y de estos últimos los arsenatos son menos tóxicos que los arsenitos. Los sulfuros y otros compuestos arsenicales naturales son insolubles y por lo tanto menos tóxicos, pero pueden ser oxidados y convertirse a la forma tóxica del trióxido de arsénico (7).

Además de la naturaleza química de estos compuestos, su estado físico (roca, pulverizado o en solución), la condición de los órganos digestivos, la naturaleza de la ingesta, etc., son factores que afectan la dosis tóxica para cualquier especie. La dosis letal oral de arsenito de sodio varía de 1 a 25 mg/Kg de p.v. según la especie, edad y otros factores (2,7).

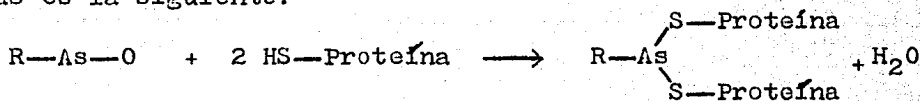
## CAMBIOS BIOQUIMICOS.

En los últimos años se han llevado a cabo muchas investigaciones para determinar que grupos son los responsables de la actividad enzimática (10). Entre los primeros grupos reconocidos como esenciales para la actividad enzimática estuvieron los grupos sulfhidrilo (-SH), gracias al trabajo realizado por Sumner y Poland, citados por Johnstone (9), en 1933, quienes demostraron la presencia de estos grupos en la ureasa cristalina.

Las evidencias acumuladas hasta ahora indican que los arsenicales deben sus efectos tóxicos a su habilidad para combinarse con los grupos sulfhidrilo, como lo sugirió Ehrlich desde 1909. Además, se ha establecido que los compuestos trivalentes arsenosos reaccionan en forma reversible con los grupos SH (9).

Hoy en día se sabe que el principal daño a nivel molecular es debido a la combinación del arsénico trivalente con los dos grupos SH del ácido lipóico. Esto ocurre antes de que se presente cualquier otro cambio bioquímico o estructural en las células (7). El ácido lipóico es un cofactor esencial para la descarboxilación oxidativa enzimática de cetoácidos (13,14), tales como piruvato, cetoglutarato y cetobutirato. Al inhibir a estas enzimas se evita la formación de Acetil CoA (Fig. 1), Succinil CoA y Propionil CoA, importantes intermediarios del metabolismo. Las consecuencias más importantes de la inhibición de este cofactor enzimático es una inhibición o disminución de la glucólisis y ciclo de Krebs. Los arsenicales pentavalentes pueden desacoplar la fosforilación oxidativa (6).

La segunda acción a nivel molecular de los arsenicales trivalentes es que reaccionan con los grupos sulfhidrilos de las proteínas, de modo que inhiben los sistemas enzimáticos esenciales para el metabolismo celular (6,9). La ecuación general de la reacción de un óxido de arsénico con los sulfhidrilos de las proteínas es la siguiente:



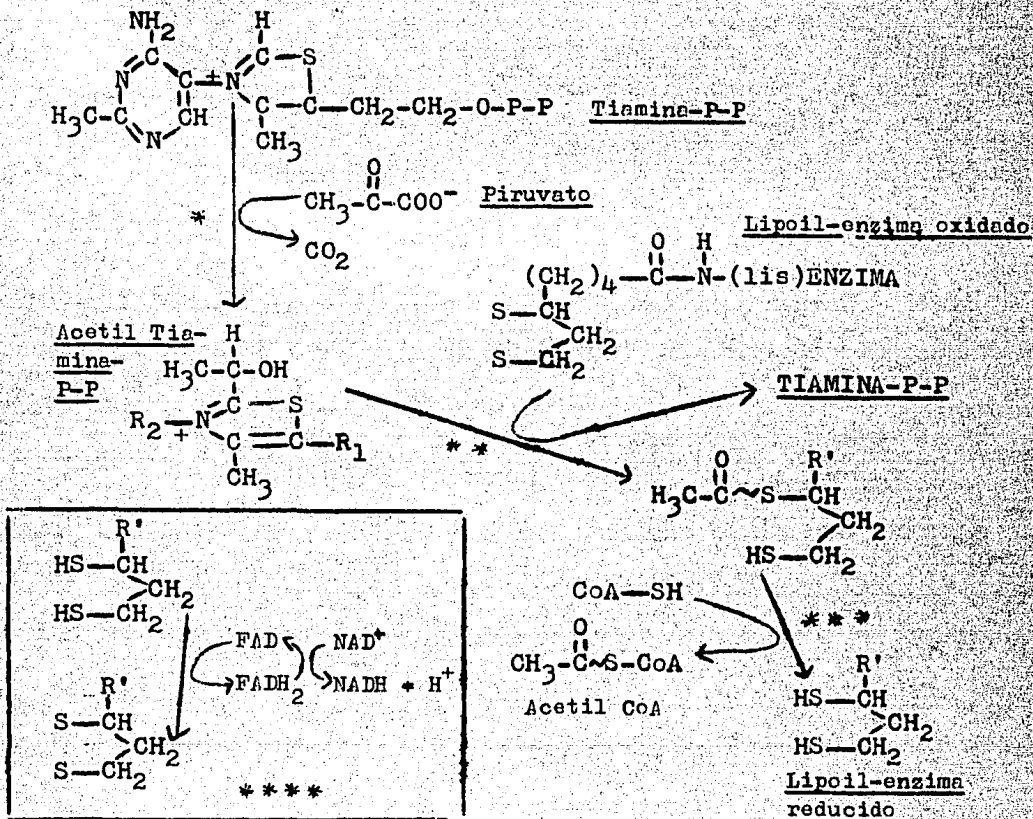


Fig. 1.- Descarboxilación oxidativa del piruvato. Esta reacción es catalizada por el complejo multienzimático de la deshidrogenasa piruvica. Los pasos esquematizados son los siguientes: \* Transferecia de dos átomos de carbono del piruvato a la coenzima tiamina pirofosfato (Tiamina-P-P) con producción de una molécula de CO<sub>2</sub> \*\* Transferecia del grupo acetyl de la acetyl tiamina-P-P a la coenzima ácido lipóico oxidado, la cual esta unida a la apoenzima por medio de un enlace peptídico al grupo épsilon amino de la lisina. \*\*\* Conjugación de la coenzima A con el grupo acetyl para dar lugar a la Acetyl CoA y reducir el segundo azufre del ácido lipóico. En el recuadro inferior se esquematiza la reoxidación del ácido lipóico, por reducción acoplada del NAD<sup>+</sup>, reacción catalizada por la enzima deshidrogenasa de flavoproteína del ácido lipóico. Tomado y adaptado de Bhagavan (1) y Mazur (11).

La absorción de los arsenicales inorgánicos en el tubo digestivo depende de su solubilidad, cuando es menor ésta, mayor cantidad de arsénico aparece en las heces. Los arsenicales solubles se absorben lentamente por la piel intacta, pero rapidamente por heridas recientes (3).

Como ya se mencionó, el arsénico forma complejos con los SH de las proteínas, acumulándose principalmente en el hígado, riñones, intestino, bazo y pulmones, o sea en tejidos ricos en enzimas oxidativas (7). En el pelo y tejidos queratinizados el arsénico aparece 2 semanas después de la exposición, quedando fijo en los SH de la queratina (5,16).

El arsénico es rápidamente excretado por orina, heces, bilis, sudor, saliva y leche. La excreción del arsénico se ve disminuída conforme progresa la deshidratación, exaltándose la toxicidad (7).

**SIGNOS CLINICOS.** Tomados de Blood (2), González (4) y Rosiles (15).

Esta intoxicación se debe siempre al descuido del hombre y generalmente causa un 100% de mortalidad. Puede presentarse en forma hiperaguda provocando la muerte con tal rapidez que no da tiempo al desarrollo de signos muy claros. Solo se observa intenso dolor abdominal, postración, parálisis y muerte.

En los casos agudos hay una excesiva salivación, descargas nasales, sed, vómito en las especies en que es posible; dolor abdominal agudo, agalactia, diarrea posiblemente sanguinolenta, deshidratación, debilidad, parálisis posterior, postración y muerte en 1 a 3 días. Puede presentarse el aborto en hembras gestantes.

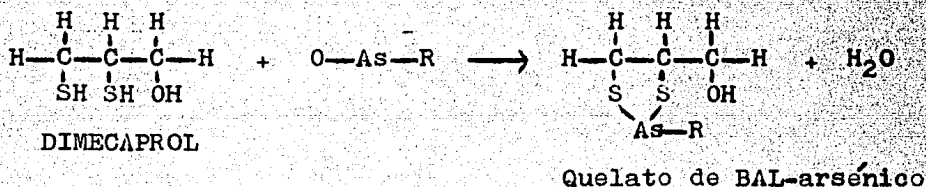
En los casos subagudos, en los cuales los animales viven más días, además de los signos antes mencionados se presentan anorexia, depresión, incoordinación, temblores, estupor, hematuria, hipotermia, convulsiones en algunos casos y muerte.

Los casos crónicos son raros, en ellos se observa un adelgazamiento progresivo, incoordinación, pelo hirsuto, hiperqueratosis y descamación de la piel.

**PREVENCION Y TRATAMIENTO.**

La prevención de esta intoxicación esta determinada principalmente por el análisis de los minerales que se suplementen, para evitar las confusiones antes mencionadas y si se utilizan medicamentos que contengan arsénico no exceder nunca las dosis recomendadas.

El tratamiento de esta enfermedad consiste en efectuar lavados gástricos para extraer el arsénico no absorbido. En herbívoros es necesario dar un purgante salino y agentes que recubran las mucosas gastrointestinales. Debe corregirse la deshidratación aplicando flúidos parenterales (7). La interacción del arsénico con el ácido lipóico, donde se forman complejos entre los grupos SH y el arsénico, es la base teórica para la utilización del dimecaprol (dimercaptopropanol, BAL) en el tratamiento de la intoxicación aguda. El dimecaprol es un agente quelante que contiene dos grupos sulfhidrilo, los cuales al combinarse con el arsénico forman un quelato poco dissociable, relativamente atóxico y fácil de excretar:



El tratamiento se dispone de forma que se asegure la continúa presencia de dimecaprol libre en los líquidos orgánicos hasta la completa eliminación del arsénico. Teóricamente, cualquier molécula de compuestos arsenicales que se libere de los tejidos será quelada y excretada, pero en la práctica, no obstante, la respuesta al tratamiento con BAL no es tan efectiva como lo señala el mecanismo antidotal antes mencionado. El dimecaprol no puede reparar el daño celular y además, si se exceden las dosis terapéuticas de este medicamento se presenta intoxicación por él (7, 17).

Otra sustancia utilizada como antídoto de la intoxicación por arsénico es el tiosulfato de sodio, pero su efectividad ha sido muy discutida (7,8,17). Se ha probado, con buenos resultados, el uso del ácido lipóico exógeno como antídoto (8).

El tratamiento de los casos agudos generalmente fracasa debido a las elevadas dosis de arsénico consumido. La carne de los animales intoxicados no debe consumirse, ya que la cantidad de arsénico presente puede ser tóxica para el humano. Los animales que se salvan en esta intoxicación deben ser retenidos sin mandar al rastro por varios meses. En el caso de la intoxicación del ganado lechero de Durango, antes citado, las autoridades sanitarias no permitieron la entrada de dichas reses al rastro sino hasta seis meses después (4).

### PREGUNTAS BIOQUIMICAS.

1.- ¿Cuál es el efecto tóxico del arsénico en ciertos procesos metabólicos? Explique.

2.- ¿Que tipo de inhibición enzimática es causada por el arsénico?

3.- ¿Por qué se deposita el arsénico en la piel, pezuñas y pelo?

4.- ¿Cuál es el razonamiento para el tratamiento con el dimecaprol?

5.- ¿Por qué deben mantenerse niveles constantes de dimecaprol en los líquidos orgánicos hasta la total excreción del arsénico?

### BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Bhagavan, N.V. (1978) Bioquímica. 1a. edición. Editorial Interamericana. México.
- 2.- Blood, D.C., J.A. Henderson and O.M. Radostits, (1979) Veterinary Medicine. 5th. edition. Lea and Febiger, Philadelphia, U.S.A.
- 3.- Garner, R.J. y D.S. Papworth (1970) Garner, Toxicología Veterinaria. 3a. edición. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- 4.- González, S. (1977) Intoxicación aguda por arsénico en ganado lechero de la Comarca Lagunera. Memorias del I Simposium Internacional de Laboratorios de Diagnóstico. Tomo III, Guanajuato, México.
- 5.- Ham, E.W., E.A. Klim and M.E. Ensminger, (1949) Residual arsenic and strychnine in the tissues of drug-treated cattle. Am. J. Vet. Res. 10:190-193.



- 6.- Harvey, S.C. (1970) Heavy metals. In L.S. Goodman and A. Gilman, eds. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 4th. edition. Macmillan, New York, U.S.A.
  - 7.- Hatch, R.C. (1977) Poisons causing abdominal distress or liver or kidney damage. In L.M. Jones, N.H. Booth and L.E. McDonald eds. - Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Ames, Iowa State University Press, U.S.A.
  - 8.- Hatch, R.C., J. Derrall Clark and A.V. Jain. (1978) Use of thiols - and thiosulfates for treatment of experimentally induced acute arsenite toxicosis in cattle. Am. J. Vet. Res. 39(9):1411-1414.
  - 10.- Koshland, D.E. Jr. (1960) The active site and enzyme action. Advances in enzymol. 22:45-97.
  - 11.- Mazur, A. y B. Harrow. (1973) Bioquímica Básica. 10a. edición. Editorial Intereamericana. México.
  - 12.- Meyer Jones, L. (1975) Farmacología y Terapéutica Veterinarias. Ed. U.T.E.H.A., 2a. edición. México.
  - 13.- Reis, O.K. (1958) Piruvate metabolism, II. - Restoration of piruvate utilization in heart sarcosomes by (+)-lipoic acid. J. Biol. Chem 233:789-793.
  - 14.- Reis, O.K. and L. Hellerman. (1958) Piruvate utilization in heart sarcosomes. Inhibition by an arsenoso compound and reactivation by lipoic acid. J. Biol. Chem. 231:557-569.
  - 15.- Bosiles, R. (1977) Niveles de arsénico detectados en bovinos en diferentes periodos despues de una intoxicación accidental. Veterinaria Mex. 8:119-122.
  - 16.- Underwood, E.J. (1971) Trace elements in human and animal nutrition. Academic Press, New York, U.S.A.
  - 17.- Zvirblis, P. and R.I. Ellin. (1976) Acute systemic toxicity of pure dimercaptopropyl and trimercaptopropyl. Toxicol. and Applied Pharmacol. 36:297-299.
- 
- 9.- Johnstone, R.M. (1963) Sulfhydryl Agents: Arsenicals. In Metabolic - Inhibitors. Vol. 2. Academic Press Inc. New York, U.S.A.

## AFLATOXICOSIS

### INTRODUCCION.

En 1960 se presentó en Inglaterra una enfermedad nueva que tuvo como consecuencia la muerte de más de cien mil pavitos. Como la causa de la enfermedad era desconocida se le denominó "enfermedad X de los pavos". Al poco tiempo se presentaron brotes similares en patitos y faisanes jóvenes. Las investigaciones llevadas a cabo reportaron la presencia de pasta de cacahuete importada del Brasil en el alimento de estos animales, y ciertas lesiones hepáticas, pero no se identificó la causa exacta de esta intoxicación (4,8). Durante ese año se hicieron muchas especulaciones acerca de la naturaleza del factor tóxico, sugiriéndose que tal vez fuera producido por un hongo. En 1961 se demostró que el agente productor de la toxina era el hongo común Aspergillus flavus (47), de ahí que se le nombrara "aflatoxina" (31). Posteriormente se ha demostrado que en realidad no es solo una aflatoxina sino varias.

Las aflatoxinas son un grupo de metabolitos de algunos hongos del género *Aspergillus* y del *Penicillium*. Las aflatoxinas más importantes son la B<sub>1</sub> y G<sub>1</sub>, así como sus derivados B<sub>2</sub> y G<sub>2</sub>. Las letras B y G se refieren al color de la fluorescencia emitida, azul (blue) o verde (green), al separarlas por cromatografía en placa fina y exponerlas a la luz ultravioleta; los subíndices 1 y 2 indican su posición en los cromatogramas (11). Existen otros derivados de las principales aflatoxinas, los cuales generalmente son productos del metabolismo de las mismas, y se describen como M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, B<sub>2a</sub>, G<sub>2a</sub>, etc. La letra M se refiere a "milk", ya que se aisló por primera vez de la leche (3). El miembro más abundante de este grupo de toxinas, en contaminaciones naturales, es la aflatoxina B<sub>1</sub>, cuya estructura se presenta en la Fig. 1. Las otras aflatoxinas tienen estructuras semejantes, variando principalmente en la localización de las dobles ligaduras o del oxígeno (Fig. 1). Todas son coumarinas altamente sustituidas, denominadas difuranocoumarinas (11).

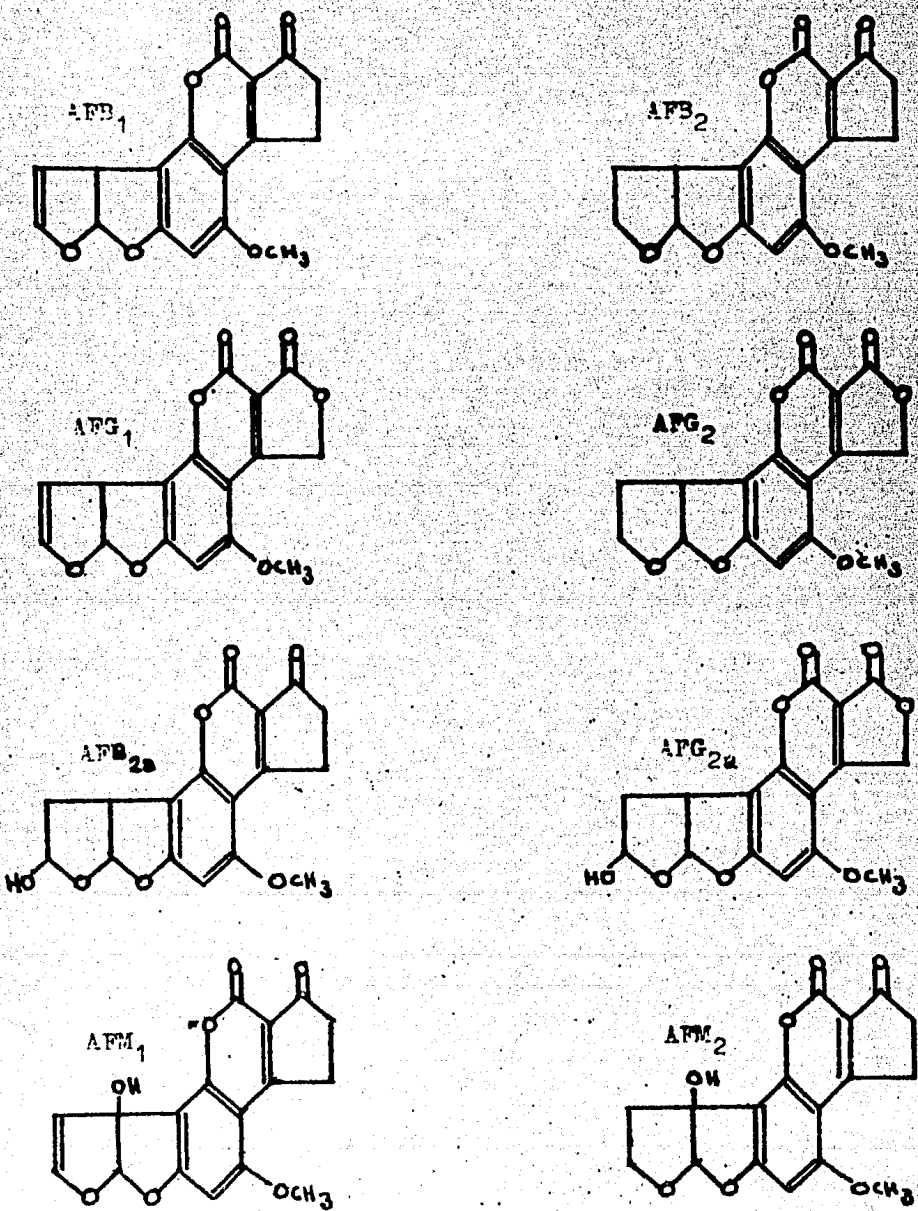


Fig. 1.- Estructuras de las aflatoxinas más comunes. Tomado de Buck (11) y Goldblatt (25). AF = aflatoxina.

Los hongos productores de aflatoxinas se desarrollan frecuentemente en los granos o alimentos para animales que están almacenados en bodegas con una humedad relativa elevada (mayor del 70%) y temperaturas de 20-25°C (11,36).

Los efectos tóxicos de las aflatoxinas dependen de las dosis, tiempo de exposición y susceptibilidad particular de cada especie. En general, las aves son más sensibles a las aflatoxinas que los mamíferos. Entre las aves, la susceptibilidad de mayor a menor es la siguiente: patitos > pavitos > faisanes jóvenes > pollos. Entre los mamíferos el orden es: perros > cerdos jóvenes > cerdas gestantes > becerros > cerdos maduros > bovinos adultos > borregos. No existe una explicación clara de la relativa resistencia de los borregos hacia esta toxina (2,11).

Las aflatoxinas son un tóxico agudo en algunas especies, tales como las aves (48), mientras que en otras es un agente carcinogénico, como en las ratas (60); pero en todos los casos las aflatoxinas son principalmente hepatotóxicas y causan una depresión de las proteínas plasmáticas, las cuales son producidas por el hígado. Se han reportado depresiones de las proteínas plasmáticas en gallinas ponedoras (23), de las proteínas séricas en gallos (62) y cerdos (26) e hipoproteinemia en patitos y pollitos (9). Debido a que los factores de la coagulación sanguínea son proteínas sintetizadas por el hígado, es de esperarse que los efectos hepatotóxicos de las aflatoxinas produzcan una concomitante reducción de dichos factores. Esto es apoyado por la observación de que durante la aflatoxicosis hay una prolongación del tiempo de protrombina en los perros (40), ratas (5) y pollos (17,18); y que en esta intoxicación se presentan hemorragias en diversos órganos.

#### CAMBIOS BIOQUIMICOS.

La mayoría de las investigaciones realizadas sobre los efectos bioquímicos de las aflatoxinas han utilizado principalmente la aflatoxina B<sub>1</sub>, la cual parece ser el miembro más

potente de este grupo de toxinas.

La información disponible hasta el momento no permite definir una secuencia completa de cambios bioquímicos que explique totalmente sus efectos tóxicos agudos y su carcinogenicidad (58). Basándose en el conocimiento actual sobre los mecanismos de la síntesis de proteínas en las células animales y los papeles de la transcripción del DNA y traducción del RNA en este proceso, se ha desarrollado una hipótesis acerca del mecanismo de acción por el cual las aflatoxinas interfieren las actividades celulares. La secuencia de eventos podría ser la siguiente:

a) Interacción de las aflatoxinas con el DNA, lo cual resultaría en una falla en el proceso de duplicación y transcripción de este ácido, y:

b) Inhibición de la síntesis de proteínas debida a la falla en la transcripción (58).

#### 1.- Metabolismo del DNA.

Los estudios in vitro sugieren un efecto inhibitorio de la aflatoxina B<sub>1</sub> sobre la síntesis del RNA como resultado de la unión de ésta toxina al DNA (12). Las evidencias presentadas por algunos investigadores (14,38,44) indican que la interacción de la aflatoxina B<sub>1</sub> con el DNA es muy débil, pero Prasanna y colaboradores (43) hacen notar que en estos experimentos utilizan DNA aislado, mientras que ellos han demostrado una fuerte unión de las aflatoxinas a la cromatina íntegra (DNA, RNA, histonas y otras proteínas) de ratas. Esta observación puede tener gran relevancia para explicar los efectos tóxicos agudos y la carcinogenicidad de estas sustancias.

Se ha demostrado que los efectos de las aflatoxinas son específicos, afectando unicamente al hígado, salvo algunas excepciones (57). Esta generalización es aplicable a la aflatoxicosis aguda, en la cual se observa una necrosis y acumulación de lípidos en el hígado, y a la intoxicación crónica en la que hay carcinogénesis en ciertas especies (58).

Mucha de la información acerca de los efectos de la aflatoxina B<sub>1</sub> en el metabolismo del DNA se ha obtenido de experimentos en los cuales se estimula la síntesis de este ácido por una hepatectomía parcial en ratas. Este procedimiento quirúrgico inicia la regeneración del hígado, lo que involucra una rápida síntesis de todos los constituyentes celulares. La inhibición de dicha regeneración es el resultado que se ha obtenido al tratar con aflatoxina B<sub>1</sub> a estos animales hepatectomizados, como resultado de una disminución en la síntesis del DNA (15,16,20). Este efecto es atribuido a la inhabilidad del DNA para actuar como molde en su duplicación.

Los estudios realizados con bacterias crecidas en presencia de la aflatoxina B<sub>1</sub> demuestran que además de inhibirse la síntesis del DNA y de las proteínas en estos microorganismos, el DNA aislado de ellos pierde su habilidad para actuar como molde en estudios in vitro (61).

## 2.- Metabolismo del RNA.

La administración de aflatoxina B<sub>1</sub> a ratas provoca una dramática inhibición de la incorporación de precursores en el RNA nuclear (12,21,22,35,50). Esta interferencia en la transcripción es debida principalmente a la unión de estas toxinas al DNA (37). La alteración en el metabolismo del RNA nuclear se acompaña de cambios en la morfología del nucleolo, como se ha observado al estudiar con el microscopio electrónico las células hepáticas de ratas tratadas con aflatoxina B<sub>1</sub> (6,51). Estos cambios morfológicos solo se presentan en las intoxicaciones agudas (58).

## 3.- Metabolismo de la proteínas.

Obviamente, la alteración en la transcripción repercute en el proceso de síntesis de las proteínas. Se ha demostrado que la síntesis de ciertas proteínas hepáticas se inhibe al administrar la aflatoxina B<sub>1</sub>. Las características de esta inhibición reflejan que el efecto sobre la síntesis de proteínas es secundario a la inhibición de la transcripción. Estas conclusiones se han obtenido al estudiar los efectos de la aflatoxina B<sub>1</sub> sobre la enzima inducible triptófano pirrolasa, la -

cual está presente en pequeñas cantidades en el hígado de los mamíferos. La actividad de esta enzima puede incrementarse por varios medios, incluyendo la inyección de grandes dosis de hormonas corticoadrenales (por ejemplo, cortisona) o de triptófano, el sustrato de la enzima. Cualquiera de estos tratamientos provocan un incremento de 5 a 15 veces la actividad de la enzima (19). Aunque ambos tratamientos producen un resultado similar, ahora se sabe que actúan por mecanismos diferentes. La inducción de la enzima por los corticosteroides provoca la síntesis de nuevas proteínas enzimáticas mientras que el triptófano incrementa la actividad estabilizando a las enzimas ya presentes, previniendo su degradación.

El aumento en la actividad de la triptófano pirrolasa al inducirla por la cortisona se observa de 4 a 6 horas después de la inyección, retornando a los niveles existentes antes del tratamiento a las 10 a 12 horas. Debido a que este proceso de inducción involucra la síntesis de nuevas proteínas enzimáticas, la administración de inhibidores de la síntesis proteica (por ejemplo; puromicina) en cualquier momento de la fase de inducción (de cero a 6 horas) bloquea el incremento de la actividad enzimática e inicia la degradación de las enzimas ya presentes (24).

La inducción por corticosteroides de la enzima triptófano pirrolasa también es bloqueada por inhibidores de la síntesis del RNA (por ejemplo: actinomicina D), pero solo bajo ciertas condiciones. La administración de la actinomicina D antes de transcurridas 2 horas de la inyección del inductor inhibe el incremento en la actividad de dicha enzima. Si se aplica el antibiótico después de pasadas dos horas, el proceso de inducción se hace insensible a la acción inhibitoria de la actinomicina D (24). Como se sabe, este agente bloquea específicamente la síntesis del RNA, por lo cual, si se aplica después de dos horas de haber administrado el inductor no se observan sus efectos inhibitorios, ya que en ese tiempo ya se han sintetizado suficientes RNA mensajeros para provocar la elevación de la actividad enzimática (58).



Las investigaciones realizadas sobre los efectos de la aflatoxina B<sub>1</sub> en el proceso de inducción de la triptófano pirrolasa hepática de ratas por administración de hidrocortisona revelan que esta toxina bloquea la inducción enzimática cuando se administra antes de haber transcurrido dos horas de la inyección del inductor. Si se administran las aflatoxinas después de 3 horas de aplicado el inductor no se observan efectos inhibitorios (12,13,21,59).

Como se observa en la Fig. 2, los efectos de la aflatoxina B<sub>1</sub> son muy semejantes a los producidos por la actinomicina D. Se ha demostrado que el efecto inhibitorio de la aflatoxina B<sub>1</sub> persiste por lo menos 10 días (59), así como la inhibición de otras enzimas inducibles (45).

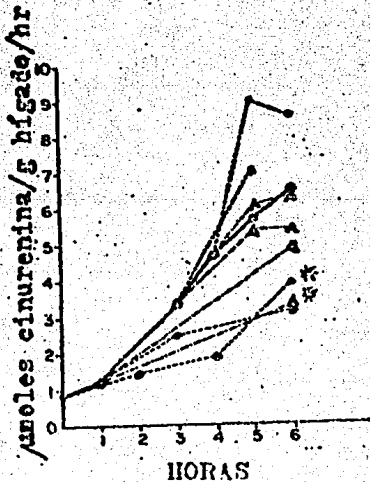


Fig. 2.- Efectos de la aflatoxina B<sub>1</sub> y de la actinomicina D sobre la inducción de la triptófano pirrolasa hepática de rata por hidrocortisona. (O = controles; ● = aflatoxina B<sub>1</sub>; Δ = actinomicina D). Los inhibidores se administraron junto con el inductor (⊙), 1, 3 y 4 horas después. Tomado de Wogan (58).

Existe una hipótesis que dice que las aflatoxinas ejercen sus efectos inhibiendo a la enzima RNA polimerasa DNA-dependiente (46), pero Doerr y colaboradores (18) señalan que si esto fuera cierto se afectaría la síntesis de cual-

quier proteína. Al estudiar el efecto de las aflatoxinas sobre los factores de la coagulación en aves han encontrado que no se afectan todos por igual, como sería de esperarse en una inhibición total.

#### 4.- Carcinogénesis.

Lafarge y Frayssinel (34) han desarrollado una hipótesis para explicar el mecanismo carcinogénico de las aflatoxinas, la cual asume que la unión de estas toxinas o sus metabolitos al DNA provoca un bloqueo tanto en la duplicación como en la transcripción. Las aflatoxinas unidas son progresivamente liberadas hasta que se efectúa una replicación incompleta, lo que resulta en modificaciones irreversibles tales como deleciones y transformaciones malignas.

De todas las especies estudiadas, la más sensible a las aflatoxinas en bajas dosis y por periodos prolongados, es la trucha, en la cual bajo estas condiciones, se desarrollan tumores hepáticos (39).

#### 5.- Otros efectos bioquímicos.

Se ha reportado un incremento en la actividad de la enzima fosfatasa alcalina sérica en borregos alimentados con raciones que contienen altos niveles de aflatoxinas (1). También se han reportado actividades incrementadas de las enzimas isocitrato, malato y glutamato deshidrogenasas séricas en ratas bajo tratamientos similares (13). En pollitos se han encontrado elevados niveles séricos de las enzimas deshidrogenasa láctica, aldolasa, TGO, TGP y urocanasa (9,42). En cerdos se eleva la actividad de la fosfatasa alcalina sérica en dietas con muy bajos niveles de aflatoxinas (26). La actividad hepática para metabolizar drogas se ve disminuida durante esta intoxicación (13).

Otro efecto característico de la aflatoxicosis, al menos en ciertas especies, es la acumulación de lípidos en el hígado. Tung y colaboradores (54) han reportado que la aflatoxina B<sub>1</sub> suministrada a pollitos en dosis pequeñas, las cuales no inhiban su crecimiento, provoca una significativa disminución

de los lípidos plasmáticos, lo que señalan como el resultado de una inhibición del transporte de los lípidos y proponen - esto como la lesión primaria durante la aflatoxicosis.

A continuación se resumen otros efectos reportados en pollos, la especie doméstica más estudiada en casos de aflatoxicosis:

a) Bajas respuestas inmunológicas; la inhibición de la - formación de anticuerpos (proteínas) es dependiente de la dosis de aflatoxinas (52). Esto provoca fallas en las respuestas hacia las vacunas (41).

b) Mayor susceptibilidad a la intoxicación por cloruro de sodio (28), probablemente como resultado de fallas en la función excretoria de los riñones (56).

c) Las aflatoxinas tienen profundos efectos sobre la nutrición de los pollos, incrementando sus requerimientos de proteínas. Niveles bajos de proteína en las raciones aumentan la susceptibilidad hacia las aflatoxinas, mientras que a niveles mayores de los normales, tanto de proteínas como de lípidos, tienen efectos protectores (30,49). También existen interacciones con las necesidades vitamínicas. Las deficiencias de riboflavina y vitamina D hacen más susceptibles a los animales (30), mientras que las deficiencias de tiamina (29) y vitamina A (10) tienen un ligero efecto protector.

Los niveles séricos de carotenoides (xantofilas), responsables de la coloración de la yema y piel del pollo, disminuyen durante esta intoxicación (55).

#### SIGNOS CLINICOS.

Los reportes sobre todas las especies estudiadas indican que los primeros signos clínicos de la aflatoxicosis son la anorexia y la pérdida de peso. Además de los signos mencionados no existen otros sino hasta pocos días antes de la muerte, cuando los animales se muestran torpes, desarrollan ataxia y finalmente se postran (2,33).

En la tabla 1 se resumen algunos de los signos observados en ciertas especies.

TABLA 1

Clase de animal	Aflatoxinas dietéticas Contenido en ug/g de alimento.	período de alimentación	Efectos tóxicos	
			Lesiones hepáticas	Ganancias de peso e eficiencia en la conversión alimenticia.
<b>Cerdos</b>				
crecimiento	0.14	80-90 días	+ y + +.	Normal
	0.28	80-90 días	+ y + + +	Reducida
Finalización	0.41	80-90 días	+ y + + +	Reducida
	0.69	40-50 días	+ a + +	Normal
Cerdos gestantes	0.3-0.5	4 semanas	+ + a + + +	Inapetencia y algunas muertes.
<b>Bovinos</b>				
Receros (edad inicial 4 días)	0.2	115 días	+	Reducida hasta los tres meses
Engorda (edad 2-2 1/2 años)	0.66	20 semanas	+ en 2 de 8 animales	Normal
Vacas lactando (edad 4 a 7 años)	1.5	4 semanas	?	Disminución en la producción láctea sin pérdidas de peso
<b>Aves</b>				
Favitos (edad 1 día)	0.25	4 semanas	+ + a + + +	Crecimiento reducido
Pollo broiler (1 día de edad)	0.21	7 semanas	+ +	Normal
	0.42	7 semanas	+ +	Pérdida de peso en las últimas tres semanas
Patitos (edad 7 días)	0.03	4 semanas	Características de aflatoxicosis	Pérdida de peso y mortalidad en 16 de 37 aves

Concentración dietética de aflatoxinas y sus efectos en diferentes especies y edades. Tomado de Allcroft (2). + = positivo, ? = No hay información.

A la necropsia el efecto más notable es el daño hepático. En muchos animales domésticos la lesión macroscópica más notable es una decoloración del hígado. En la tabla 2 se resumen las principales lesiones observadas.

En los bovinos afectados de aflatoxicosis se presentan diarrea, tenesmo severo y prolapso rectal (2). En los cerdos se observa una diarrea sanguinolenta (7).

TABLA 2

	Bovino	Cerdo	Óvino	Patito	Pavito	Fallo
<u>Lesiones hepáticas</u>						
Necrosis y hemorragias	-	-	-	+	+	-
Fibrosis crónica	+	+	-	-	-	-
Nódulos de regeneración	+	+	-	-	+	-
Proliferación de ductos biliares	+	+	-	+	+	+
Lesiones veno-oclusivas	+	-	-	-	-	-
<u>Células hepáticas</u>						
Células agrandadas (megalocitosis)	+	+	-	+	+	-
Núcleos agrandados	+	+	-	+	+	+
Infiltración de células inflamatorias	-	-	-	-	+	+
<u>Tumores hepáticos</u>	0	0	*	+	0	0

Patología comparativa de animales alimentados con dietas que contenían pasta de cacahuete tóxica. + = positivo, - = negativo, 0 = sin información, \* = Se ha reportado la aparición de neoplasmas nasales en 2 borregos y un tumor hepático en un tercero, de un grupo de 8 borregos alimentados con pasta de cacahuete tóxica durante 3-5 años. Tomado de Allcroft (2)

#### PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO.

La medida preventiva más eficaz contra la aflatoxicosis es evitar la humedad, tanto en los granos como en las bodegas. Los hongos no pueden desarrollarse en ambientes poco húmedos. Otra medida importante es evitar la entrada de la lluvia en los transportes de granos y alimentos para animales. No debe suministrarse nunca alimento enmohecido (30).

No existe un tratamiento específico contra la aflatoxicosis. La mejor medida es retirar inmediatamente el alimento contaminado y dar una dieta elevada en proteínas y lípidos (27), agentes lipotrópicos y evitar el stress (11).

Se está probando un posible tratamiento a nivel industrial que elimine o disminuya la cantidad de aflatoxinas en los granos contaminados, este tratamiento es con amoniaco y al parecer a dado buenos resultados (32,53).

#### PREGUNTAS BIOQUIMICAS.

1.- ¿Cuál es el efecto tóxico de las aflatoxinas sobre la duplicación del DNA? Explique.

2.- ¿Cuál es el efecto tóxico de las aflatoxinas sobre la transcripción? Explique.

3.- ¿Como actúan a nivel molecular la puromicina y la actinomicina D?

4.- ¿Que es una delección y como afecta a la síntesis de proteínas?

5.- ¿Por qué se elevan los niveles séricos de ciertas enzimas en esta intoxicación? ¿Que nombre reciben estas enzimas?

6.- ¿Por qué hay fallas en las respuestas hacia las vacunas en pollos que sufren de aflatoxicosis?

#### BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Allcroft, R. (1965). In "Mycotoxins in Foodstuffs" (G.N. Wogan, ed) M.I.T. Press, Cambridge, Massachusetts.
- 2.- Allcroft, R. (1969) Aflatoxicosis in farm animals. In "Aflatoxin. - Scientific background, control and implications" (L.A. Goldblatt, ed) Academic Press, New York, U.S.A.
- 3.- Allcroft, R., H. Rogers, G. Lewis, J. Nabney and P.F. Best. (1966) Metabolism of aflatoxin in sheep: Excretion of the "milk toxin" Nature 209:154-155.
- 4.- Asplin, F.D. and R.B.A. Carnaghan. (1961) The toxicity of certain groundnut meals for poultry with special reference to their effect

on ducklings and chickens. Vet. Record 73:1215-1219.

- 5.- Bababunmi, E.A. and O. Bassir. (1969) The effect of aflatoxin on blood clotting in the rat. Brit. J. Pharmacol. 37:497-500.
- 6.- Bernhard, W., C. Frayssinet, C. Lafarge and E. LeBreton. (1965) Lésions nucléolaires précoces provoquées par l'aflatoxine dans les cellules hépatiques du rat. Compt. Rend. Acad. Sci. 261:1785-1788.
- 7.- Blood, D.C., J.A. Henderson and O.M. Radostits. (1979) Veterinary Medicine. 5th. edition. Lea and Febiger, Philadelphia, U.S.A.
- 8.- Blount, W.P. (1961). Turkey "X" disease. Turkeys (J. Brit. Turkey Fed.) 9(2):52-77.
- 9.- Brown, J.M.M. and L. Abrams. (1965) Biochemical studies on aflatoxicosis. Onderstepoort J. Vet. Res. 32:119-146.
- 10.- Bryden, W.L., R.B. Cumming and D. Balnave. (1979) The influence of vitamin A status on the response of chickens to aflatoxin B<sub>1</sub> and changes in liver lipid metabolism associated with aflatoxicosis. Br. J. Nutr. 41:529-540.
- 11.- Buck, W.B., G.D. Osweiler and G.A. Van Gelder. (1973) Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology. Kendall/Hunt, Dubuque, Iowa, U.S.A.
- 12.- Clifford, J.I. and K.R. Rees. (1966) Aflatoxin: A site of action in the rat liver cell. Nature 209:312-313.
- 13.- Clifford, J.I. and K.R. Rees. (1967a) The action of aflatoxin B<sub>1</sub> on the rat liver. Biochem. J. 102:65-75.
- 14.- Clifford, J.I. and K.R. Rees. (1967b) The interaction of aflatoxins with purines and purine nucleosides. Biochem. J. 103:465-471.
- 15.- De Recondo, A.M., C. Frayssinet, C. Lafarge and E. LeBreton. (1965) Inhibition de la synthèse du DNA par l'aflatoxine B<sub>1</sub> au cours de l'hypertrophie compensatrice du foie chez le rat. Compt. Rend. Acad. Sci. 261:1409-1412.
- 17.- Doerr, J.A., W.E. Huff, H.T. Tung, R.D. Wyatt and P.B. Hamilton. (1974) A survey of A-2 toxin, ochratoxin and aflatoxin for their effects on the coagulation of blood in young broiler chickens. Poul. Sci. 53:1728-1734.
- 18.- Doerr, J.A., R.D. Wyatt and P.B. Hamilton. (1976) Impairment of coagulation function during aflatoxicosis in young chickens. Toxicol. Appl. Pharmacol. 35:437-446.
- 19.- Fiegelson, P. and O. Greengard. (1962) Regulation of liver tryptophan pyrrolase activity. J. Biol. Chem. 237:1908-1913.
- 20.- Frayssinet, C., C. Lafarge, A.M. De Recondo and E. LeBreton. (1964) Inhibition de l'hypertrophie compensatrice du foie chez le rat par les toxines de *Aspergillus flavus*. Compt. Rend. Acad. Sci. 259:2143-2146.
- 21.- Friedman, M.A. and G.N. Wogan. (1966) Effects of aflatoxin B<sub>1</sub> on the enzyme induction and nuclear RNA metabolism in rat liver. Fed. Proc. 25:662.
- 22 - Friedman, M.A. and G.N. Wogan. (1967) Effects of aflatoxin B<sub>1</sub> on RNA polymerase activity and incorporation of cytidine into RNA of rat liver nuclei. Fed. Proc. 26:358.
- 23.- Garlich, J.D., H.T. Tung and P.B. Hamilton. (1973) The effect of short term feeding of aflatoxin on egg production and some plasma constituents of the laying hen. Poul. Sci. 52:2206-2211.
- 24.- Garren, L.D., R.R. Howell, G.M. Tompkins and R.M. Crocco. (1964) A paradoxical effect of actinomycin D: The mechanism of regulation of enzyme synthesis by hydrocortisone. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 52:1121-1129.
- 16.- De Recondo, A.M., C. Frayssinet, C. Lafarge and E. LeBreton. (1966) Action de l'aflatoxine sur le métabolisme du DNA au cours de l'hypertrophie compensatrice du foie après hépatectomie partielle.



- 25.- Goldblatt, L.A. (1969) Aflatoxin. Scientific Background, Control - and Implications. Academic Press, U.S.A.
- 26.- Gumbmann, M.R. and S.N. Williams. (1969) Biochemical effects of - aflatoxin in pigs. Toxicol. Appl. Pharmacol. 15:393-404.
- 27.- Hamilton, P.B. (1976) Effect of aflatoxin on animals and the interrelationship with nutrition. Feedstuffs, May 3.
- 28.- Hamilton, P.B. and J.R. Harris. (1971) Interaction of aflatoxicosis with *Candida albicans* infections and others stresses in chickens. Poultry Sci. 50:906.
- 29.- Hamilton, P.B., H.T. Tung, R.D. Wyatt and W.F. Donaldson. (1974) Interaction of dietary aflatoxin with some vitamins deficiencies. Poultry Sci. 53:871.
- 30.- Hamilton, P.B. and R.D. Wyatt. (1974) The importance of mycotoxins to the feed industry. Distiller Feed Research Council Proceedings 29:24.
- 31.- Interdepartmental Working Party on Groundnut Toxicity Research. (1962) Toxicity associated with certain batches of groundnuts. U.K. Agr. Res. Council, Dept. Sci. Ind. Res. Dept. Tech. Co-operation. Fed. Res. Council, Ministry Agr.; Fisheries Food Progr. Rept. Int. Goldblatt, L.A. ed. Aflatoxin.
- 32.- Jensen, A.H., O.L. Brekke, G.R. Frank and A.J. Peplinski. (1977) Acceptance and utilization by swine of aflatoxin contaminated corn treated with aqueous or gaseous ammonia. J. Anim. Sci. 45(1):8-12.
- 33.- Juszkiewicz, T., J. Stec, B. Stefaniak, Z. Rakalska and Z. Madejski (1967) Biochemical and pathological effects of aflatoxin poisoning in ducklings. September 16.
- 34.- Lafarge, C. and G. Frayssinet. (1970) The reversibility of inhibition of RNA and DNA synthesis induced by aflatoxin in rat liver. A tentative explanation for carcinogenic mechanisms. Int. J. Cancer 6:74-83.
- 35.- Lafarge, C., G. Frayssinet and A.M. De Recondo. (1965) Inhibition par aflatoxine de la synthese de RNA hepatique chez le rat. Bull. Soc. Chim. Biol. 47:1724-1725.
- 36.- Lillehoj, E.B. (1973) Feed sources and conditions conducive to production of aflatoxin, ochratoxin, fusarium toxins, and zearalenone. J. Am. Vet. Med. Assn. 163(11):1281-1284.
- 37.- Neal, G.F. (1973) Inhibition of rat liver RNA synthesis by aflatoxin B<sub>1</sub>. Nature (London) 244:432-435.
- 38.- Neely, W.G., J.A. Landsen and J.R. McDuffie. (1970) Spectral studies on the deoxyribonucleic acid-aflatoxin B<sub>1</sub> system; Binding interactions Biochemistry 9:1862-1866.
- 39.- Newberne, P.M. (1973) Chronic aflatoxicosis. J. Am. Vet. Med. Assn. 163(11):1262-1267.
- 40.- Newberne, P.M., R. Russo and G.N. Wogan. (1966) Acute toxicity of aflatoxin B<sub>1</sub> in the dog. Pathol. Vet. 3:331-340.
- 41.- Pier, A.C. and K.L. Heddleston. (1970) The effect of aflatoxin on immunity in turkeys. I. Impairment of actively acquired resistance to bacterial challenge. Avian Dis. 14:797.
- 42.- Platonow, N. (1965) Detection of urocanase in the blood of chickens chronically poisoned with toxic groundnut meal. Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 29:94-96.
- 43.- Prasanna, H.R., S.R. Gupta, L. Viswanathan and T.A. Venkatasubramanian. (1976) Binding of aflatoxins B<sub>1</sub> and G<sub>1</sub> to rat liver chromatin Toxicol. Appl. Pharmacol. 36:503-510.
- 44.- Prasanna, H.R., L. Viswanathan and T.A. Venkatasubramanian. (1972) A fluorometric study of the incorporation of aflatoxin B<sub>1</sub> with DNA Indian J. Biochem. Biophys. 9:192-194.
- 45.- Pong, R.S. and G.N. Wogan. (1966) Effects of aflatoxin B<sub>1</sub> on xoxazo-

lamine hydroxylase induction in rat liver. Fed. Proc. 25:662.

- 46.- Pong, R.S. and G.N. Wogan. (1970) Time course and dose response characteristics of aflatoxin B<sub>1</sub> effects on rat liver RNA polymerase and ultrastructure. Cancer Res. 30:294-304.
- 47.- Sargeant, K., A. Sheridan, J. O'Kelly and B.B.A. Carneghan. (1961) Aflatoxin B<sub>1</sub> associated with certain samples of groundnuts. Nature 192:1096-1097.
- 48.- Smith, J.W. and P.B. Hamilton. (1970) Aflatoxicosis in the broiler chicken. Poult. Sci. 49:207-213.
- 49.- Smith, J.W., C.H. Hill and P.B. Hamilton. (1971) The effect of dietary modifications on aflatoxicosis in the broiler chicken. Poul. Sci. 50:768.
- 50.- Sporn, M.B., G.W. Dingman, H.L. Phels and G.N. Wogan. (1966) Aflatoxin B<sub>1</sub>: Binding to DNA in vitro and alteration of RNA metabolism in vivo. Science 151:1539-1541.
- 51.- Svoboda, D., H. Grady and J. Higginson. (1966) Aflatoxin B<sub>1</sub> injury in rat and monkey liver. Am. J. Pathol. 49:1023-1051.
- 52.- Thaxton, P. and P.B. Hamilton. (1971) Immunosuppression in broilers by aflatoxin. Poultry Sci. 50:1836.
- 53.- Thiesen, J. (1977) Detoxification of aflatoxins in groundnut meal. Animal Feed Sci. and Tech. 2:67-75.
- 54.- Tung, H.T., W.E. Donaldson and P.B. Hamilton. (1972) Altered lipid transport during aflatoxicosis. Toxicol. Appl. Pharmacol. 22:97-104.
- 55.- Tung, H.T. and P.B. Hamilton. Decreased plasma carotenoids during aflatoxicosis. Poultry Sci. 52:80. (1973).
- 56.- Tung, H.T., R.D. Wyatt, P. Thaxton and P.B. Hamilton. (1973) Impairment of kidney function during aflatoxicosis. Poultry Sci. 52:873.
- 57.- Wogan, G.N. (1966) Chemical nature and biological effects of the aflatoxins. Bacteriol. Rev. 30:460-470.
- 58.- Wogan, G.N. (1969) Metabolism and biochemical effects of aflatoxins. In Goldblatt, L.A. ed. Aflatoxin. Scientific background, control and implications. Academic Press U.S.A.
- 59.- Wogan, G.N. and M.A. Friedman. (1965) Effects of aflatoxin B<sub>1</sub> on tryptophan pyrrolase induction in rat liver. Fed. Proc. 24:627.
- 60.- Wogan, G.N. and P.M. Newberne. (1967) Dose response characteristics of aflatoxin B<sub>1</sub> carcinogenesis in the rat. Cancer Res. 27:2376-2379.
- 61.- Wragg, J.B., V.C. Ross and M.S. Legator. (1967) Effect of aflatoxin B<sub>1</sub> on the deoxyribonucleic acid polymerase of Escherichia coli. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 125:1052-1055.
- 62.- Wyatt, R.D., D.M. Briggs and P.B. Hamilton. (1973) The effect of dietary aflatoxin on mature broiler breeder males. Poul. Sci. 52:1119-1123.

## ACIDOSIS LACTICA

### INTRODUCCIÓN.

La acidosis láctica es una enfermedad aguda de los rumiantes, en la cual se produce en rumen más ácido láctico del que pueden utilizar los tejidos. La enfermedad también es llamada "indigestión aguda o ácida". Se presenta principalmente en animales que, previamente alimentados con pasto y forrajes, se cambian bruscamente a una dieta rica en carbohidratos, los cuales son fermentados rápidamente, obteniéndose ácidos grasos volátiles (AGV), entre ellos el ácido láctico.

Los alimentos capaces de iniciar el síndrome son:

1.- Alimentos ricos en almidón. Aquí se incluye cualquier grano de cereal, como el trigo (1,6,16), cebada (25,42), avena (10), etc.; maíz, tanto el grano como la planta fresca (6, 10); papas (23) y cualquier alimento preparado que contenga grandes cantidades de almidón.

2.- Alimentos que contienen azúcares. Los ejemplos incluyen a varios frutos, como son las manzanas (9,17), uvas (32), duraznos (17), piñas, etc., ya sean enteros o los subproductos de enlatadoras; tubérculos (10) (remolacha azucarera, remolacha forrajera, etc.); caña de azúcar; elote dulce; pastos jóvenes; melaza y suero de leche (10). Los azúcares involucrados incluyen a la sacarosa, fructosa, glucosa, lactosa y otros.

3.- Otros constituyentes de los alimentos antes mencionados que pueden ayudar a la presentación de esta enfermedad - son varios hidroxiacidos (ácido L-málico en frutos arbóreos, ácido L-tartárico en las uvas, ácido láctico en alimentos fermentados como la malta y ciertos ensilados), fitatos, fosfatos y potasio, los cuales comunmente están presentes en apreciables cantidades en los granos de cereales (10).

La dosis de alimento requerida para causar la enfermedad y la muerte depende de varios factores: la forma física (grano entero, quebrado o molido), tiempo en que se ingiere, tipo de dieta a la que estaban acostumbrados, especie, condición -

del animal, población microbiana ruminal preexistente, etc. (37). Pero siempre serán grandes cantidades, por ejemplo, se ha reportado que 75-80 g de trigo quebrado por Kg de peso vivo constituyen una dosis letal para un borrego bien nutrido, mientras que 50-60 g/Kg de p.v. lo fueron para un borrego - mantenido durante un mes con una dieta inadecuada (10).

La exposición de los animales a tan grandes dosis puede - ser deliberada (dietas en corrales de engorda) o accidental (que los animales ganen el acceso a los campos sembrados o a las bodegas).

### CAMBIOS BIOQUIMICOS.

#### 1. Cambios en el rumen.

La flora y fauna ruminal varían, tanto en tipo como en concentración, dependiendo del tipo de sustrato y medio ambiente con que cuentan. Cuando la dieta es rica en carbohidratos solubles aumenta la concentración de microorganismos que los - pueden utilizar como fuentes de esqueletos carbonados y energía. El desdoblamiento de los azúcares solubles en el rumen es, al parecer, un proceso que consta de dos etapas: a) Un - grupo de microorganismos los fermenta hasta ácido láctico y b) Un segundo grupo fermenta al lactato hasta ácidos grasos volátiles (12,26). Existen pruebas de que algunos microorganismos son capaces de producir y utilizar al ácido láctico - ellos mismos (20).

Hungate y colaboradores (16) hicieron los primeros estudios extensivos acerca de los cambios microbiológicos ocurridos durante la acidosis láctica de los rumiantes y reportaron que cuando se adiciona glucosa al rumen generalmente se incrementa el número de Streptococcus bovis, bacteria productora de ácido láctico (38). La razón del acelerado crecimiento de esta bacteria, según Hungate, es la siguiente: "Cuando la disponibilidad de carbohidratos está limitada, la eficiencia de las fermentaciones para la producción del ATP se exalta, observándose una competencia entre las bacterias que obtienen mas de dos ATP por glucosa y S. bovis. Durante la acidosis -

láctica de los rumiantes, el exceso de almidón o azúcares provoca que no existe limitante para el desarrollo de S. bovis, el cual puede metabolizar a los carbohidratos más rápidamente que aquellos más eficientes. La cantidad de ATP producida por S. bovis por molécula de glucosa es baja, pero cuando los carbohidratos están en exceso, la producción de ATP por unidad de tiempo es considerablemente mayor que la de las especies en competencia".

La producción de ácido láctico por S. bovis provoca una baja del pH ruminal. Se ha reportado que cuando el pH del rumen es menor que 5.0 mueren las bacterias celulolíticas y los protozoarios (16,22). El bajo pH favorece el desarrollo de lactobacilos (16). Ya que las distintas especies de estos microorganismos producen ácido láctico de diferente composición isomérica, la naturaleza de la especie dominante puede influenciar el desarrollo de la enfermedad (10), como se explica más adelante. Si el pH sigue acidificándose también proliferarán las levaduras (21). A pH ácidos no hay crecimiento de bacterias capaces de utilizar al lactato (39).

Experimentalmente se ha comprobado que el ácido láctico adicionado al rumen es rápidamente removido cuando el pH no es menor de 6.67. Si el pH es más ácido, el ácido láctico no es metabolizado y se acumula en el rumen (8). La explicación al primer fenómeno es que la flora ruminal cuenta con varias especies de microorganismos capaces de utilizar al lactato. Los dos caminos metabólicos utilizados son: a) Fijación de  $\text{CO}_2$  al lactato con formación de succinato (19) y b) Formación de acrilato (24,43). Evidentemente tales organismos o algún paso del metabolismo del lactato son inhibidos cuando el pH es menor que 5.0 (33).

Otros factores, además de la producción y utilización por los microorganismos, influyen la concentración ruminal de ácido láctico. Entre estos se incluye al paso del contenido ruminal hacia omaso, abomaso e intestinos; los efectos de dilución y buffer de la secreción salival; absorción a través del epitelio ruminal y fenómenos osmóticos (10).

La acumulación de ácido láctico en el fluido ruminal, como ya se mencionó antes, se acompaña de una disminución del pH por debajo del rango normal de 5.0-7.4, pudiendo llegar a pH 4.0-4.5 y a una concentración de 240 mmoles de lactato por litro de fluido ruminal (4,8,40). El bajo pH alcanzado es cercano al  $pK_a$  del ácido láctico (aunque el  $pK_a'$  del ácido láctico en el fluido ruminal no se ha determinado, se utiliza el de  $pK_a = 3.87$ ), lo cual ayuda a la formación de ácido láctico sin disociar, que atravieza fácilmente la pared ruminal al igual que los AGV con  $pK$  cercano a 4.6 (7,37). La presencia del ácido láctico en rumen se acompaña de un incremento en la presión osmótica del fluido, ya que se obtienen a partir de las grandes moléculas del almidón al ser hidrolizadas, muchas de glucosa y cada una de estas origina al ser fermentada dos moléculas de ácido láctico, excediendo la osmolaridad del líquido ruminal a la del plasma (7,13). La presión osmótica en el rumen normalmente permanece constante a aproximadamente 280 miliosmoles/litro (43). Cuando el fluido ruminal se hace hipertónico en relación al plasma sanguíneo, el agua se mueve a través del epitelio ruminal hacia el interior del rumen (29, 45), lo cual incrementa el volumen de este compartimento, provocando una deshidratación (15). Consecuentemente a estos cambios en rumen se observan aumentos del hematocrito y lactato sanguíneos.

Muchos otros cambios se presentan en el fluido ruminal durante la acidosis láctica, entre ellos la elevación en la concentración de fosfatos inorgánicos, potasio y cloruros; disminución en la concentración del sodio (29) y de los AGV (31,35, 36). Además, la gran hipertonicidad y acidez del contenido ruminal causan una grave irritación a la mucosa del tracto digestivo provocando una diarrea, la cual incrementa la deshidratación del animal. Las fermentaciones atípicas también dan lugar a la producción de sustancias tóxicas, tales como la histamina (6,34), etanol (2), tiaminasa y otras, que al pasar a la sangre agravan el cuadro.

## 2.- Cambios en sangre y en orina.

Los cambios que ocurren en el líquido ruminal preceden a los observados en la sangre y en orina. Los cambios en sangre son: a) Elevación del hematocrito de su valor normal de 27-33 a 40-55; b) Elevación en la concentración de hemoglobina; c) Progresiva elevación del lactato y d) Elevación de los valores normales de glucosa y piruvato (10).

El incremento en la concentración del lactato hasta unos 10 mmoles/litro (normal = 10-20 mg %) se atribuye principalmente al D-lactato (lactato total menos L-lactato). La severidad de esta lactacidemia se muestra en la Fig. 1, la cual ilustra que la titulación del lactato acumulado es correlativa a la disminución del bicarbonato plasmático (del valor normal 22 mEq/l a 7 mEq/l), lo cual causa una acidificación del plasma sanguíneo (de 7.44 a 7.04).

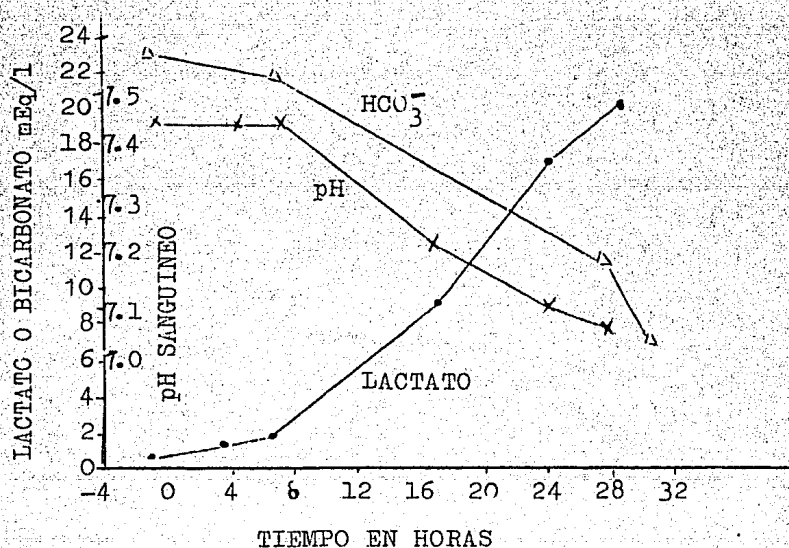


Fig. 1.- Cambios en la composición de la sangre después de una dosis letal de cebada en borregos. El incremento del lactato sanguíneo fué correlativo a la declinación del pH y bicarbonato plasmáticos. Tomado de Dunlop (10).

El isómero D del ácido láctico es poco metabolizado por el hígado y es por eso que desaparece muy lentamente de la circu-



lación; en comparación el L-lactato, el cual es el producto normal del metabolismo animal, lo hace rápidamente. La deshidratación limita la capacidad de los riñones para excretar al D-lactato. Por lo expuesto anteriormente, el promedio de entrada del ácido láctico a la sangre excede a la tasa máxima de su metabolismo y excreción, acumulándose en los líquidos orgánicos.

En resumen, las consecuencias de estos cambios bioquímicos en la sangre son: a) Disminución del volumen plasmático, b) severa deshidratación, c) acidosis metabólica y d) Progresiva depresión del sistema cardiovascular con caída de la presión sanguínea y aumento del gasto cardiaco (10).

La deshidratación durante la fase aguda de esta enfermedad provoca una progresiva oliguria hasta la anuria, aunque al principio hay diuresis provocada por la elevada concentración del lactato en la orina.

El pH normal de la orina en los rumiantes es neutro o ligeramente alcalino, pero en esta enfermedad baja hasta un promedio de 5.0 y con una elevada concentración de potasio, lactato y fosfatos (10).

**SIGNOS CLINICOS.** Tomados de Elam (11) y Jensen (18).

Los signos de la enfermedad se manifiestan entre uno y dos días después del cambio de dieta y consisten en pérdida del apetito, depresión, debilidad, pulso y respiración acelerados y atonía ruminal. La piel se nota deshidratada y la temperatura corporal es normal. Conforme progresa la enfermedad se presentan diarrea mucosa y dolor abdominal debidos a la irritación de la mucosa del tracto digestivo. Posteriormente hay incoordinación, laminitis y claudicación. Finalmente los animales se echan, caen en coma y mueren. La tasa de mortalidad es elevada y el curso varía de 2 a 6 días.

## PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO.

La mejor forma de prevenir la acidosis ruminal es por medio de un adecuado manejo nutricional:

- 1) Adaptación gradual a incrementos en la ración de concentrados (47).
- 2) Inoculación de flúido ruminal fresco de animales ya adaptados a dietas ricas en concentrados (1,5,14).
- 3) Mantener un % mínimo de fibra cruda en la ración (14 y 17% respectivamente para ganado de carne y leche) (30).
- 4) Alimentación fraccionada, dar la ración total dividida en tres o cuatro veces al día (41).
- 5) Adicionar agentes alcalinizantes al concentrado (27,28, 46).

El tratamiento de casos ligeros no requiere más que corregir el manejo nutricional. Por otra parte, el mejor tratamiento en los casos severos es, aunque en ocasiones impracticable, la rumenotomía. Esto incluye el vaciar al rumen, lavarlo y rellenarlo inoculando líquido ruminal fresco de animales sanos (30). Si no es posible remover el contenido ruminal por rumenotomía o lavado, se recomienda administrar antibióticos por vía oral para inhibir a los microorganismos productores de ácido láctico (9). Los agentes alcalinizantes no han demostrado tener efectividad al administrarse por vía oral (50). Se debe instituir también una terapia parenteral que incluya antihistamínicos, tiamina y flúidos intravenosos (30).

Los animales afectados en forma aguda o crónica por esta enfermedad, según la especie, sexo y etapa productiva, son susceptibles a padecer simultánea o posteriormente: a) Una baja en la concentración de grasa en la leche, b) Hipofagia, c) Laminitis, d) Abscesos hepáticos, e) Desplazamiento del abomaso, f) Polioencefalomalasia, g) Timpanismo, h) Úlceras, i) Shock (30).

## PREGUNTAS BIOQUÍMICAS.

- 1.- ¿Cuál es la vía metabólica utilizada por los microorganismos ruminales que solo producen dos ATP por glucosa?
- 2.- ¿Por qué conforme varía el pH ruminal cambian los microorganismos predominantes?
- 3.- ¿Que importancia tiene el que se produzca D-ácido láctico y no solo L-ácido láctico en la fermentación ruminal?
- 4.- Explique el mecanismo por el cual se produce la deshidratación.
- 5.- ¿Por qué se eleva la concentración de la glucosa sanguínea?
- 6.- ¿Cuál es el mecanismo compensatorio ante esta acidosis?

#### BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Allison, M.J., J.A. Bucklin and R.W. Dougherty. (1964a) Ruminal changes after overfeeding with wheat and the effect of intra-ruminal inoculation on adaptation to a ration containing wheat. J. Anim. Sci. 23:1164.
- 2.- Allison, M.J., R.W. Dougherty, J.A. Bucklin and E.F. Snyder. (1964) Ethanol accumulation in the rumen after overfeeding with readily fermentable carbohydrate. Science 144:54.
- 3.- Brent, B.E. (1976) Relationship of acidosis to other feedlot ailments. J. Anim. Sci. 43(4):930-935.
- 4.- Broberg, G. (1960) Acute overeating with cereals in ruminants. In Dunlop, R.H. and P.B. Hammond. D-Lactic acidosis of ruminants. - Ann. New York Acad. Sci. 119:1109-1130.
- 5.- Bond, J. L.L., Slyter and T.S. Rumsey. (1975) Fasting and refeeding of forage and concentrate diets to cattle. J. Anim. Sci. 41:392(abst)
- 6.- Dain, J.A., A.L. Neal and R.W. Dougherty. (1955) The occurrence of histamine and tyramine in rumen ingesta of experimentally over-feed sheep. J. Anim. Sci. 14:930-935.
- 7.- Danielli, J.F., M.W.S. Hitchcock, R.A. Marshall and A.T. Phillipson (1945) The mechanism of absorption from the rumen as exemplified by the behavior of acetic, propionic and butyric acids. J. Exptl. Biol. 22:75-84.
- 8.- Dunlop, R.H. (1961) A study of factors related to the functional impairment resulting from loading the rumen of cattle with high carbohydrate feeds. In Dunlop, R.H. and P.B. Hammond. D-Lactic acidosis of ruminants. Ann. New York Acad. Sci. 119:1109-1130.
- 9.- Dunlop, R.H. (1972) Pathogenesis of ruminants lactic acidosis. Advan. Vet. Sci. Comp. Med. 16:259.
- 10.- Dunlop, R.H. and P.B. Hammond. (1965) D-Lactic acidosis of ruminants Ann. New York Acad. Sci. 119:1109-1130.

- 11.- Elam, C.J. (1976) Acidosis in feedlot cattle: Practical observations  
J. Anim. Sci. 43(4):898-901.
- 12.- Elsdon, S.B. (1945) The fermentation of carbohydrates in the rumen  
of sheep. J. Exp. Biol. 22:51.
- 13.- Huber, T.L. (1971) Effect of acute indigestion on compartmental  
water volume and osmolarity in sheep. Am. J. Vet. Res. 32: 887-890.
- 14.- Huber, T.L. (1973) Lactic acidosis prevention by rumen inoculation  
J. Anim. Sci. 36:226.
- 15.- Huber, T.L. Physiological effects of acidosis on feedlot cattle(1976)  
J. Anim. Sci. 43(4):902-909.
- 16.- Hungate, R.E., R.W. Dougherty, M.P. Bryant and R.M. Cello. (1952)  
Microbiological and physiological changes associated with an acute  
indigestion in sheep. Cornell Vet. 42:423-449.
- 17.- Irwin, D.H. (1956) Overeating on fruit by bovines. J. South African  
Vet. Med. Ass. 29:29.
- 18.- Jensen, R. (1974) Diseases of sheep. Loz and Febiger Ed. Philadel-  
phia, U.S.A.
- 19.- Johns, A.T. (1951) Isolation of a bacterium producing propionic -  
acid from the rumen of sheep. J. Gen. Microbiol. 5:317-325.
- 20.- Kaneganski, S. and H. Takahashi. (1967) Function of growth factors  
for rumen microorganisms. I. Nutritional characteristics of *Seleno-*  
*monas ruminantium*. J. Bacteriol. 93:456.
- 21.- Krogh, N. (1959) Studies on alterations in the rumen fluid of sheep  
especially concerning the microbial composition, when readily availa-  
ble carbohydrates are added to the food. I. Sucrose. Acta Vet. Scand  
1:74
- 22.- Krogh, N. (1961) Studies on alterations in the rumen fluid of  
sheep, especially concerning the microbial composition when readily  
available carbohydrates are added to the food. III. Starch. Acta  
Vet. Scand. 2:103.
- 23.- Krogh, N. (1963) Clinical and microbiological studies on sponta-  
neous cases of acute indigestion in ruminants. Acta Vet. Scand.  
4:27.
- 24.- Lodd, J.N. and D.J. Walker. (1959) The fermentation of lactate and  
acrylate by the rumen microorganisms. LC. Biochem. J. 71:364-373.
- 25.- Mann, S.O. (1970) Some effects on the rumen microorganisms of over-  
feeding a high barley ration. J. Appl. Bacteriol. 33:403.
- 26.- Nakamura, K., S. Kanegasaki and H. Takahashi. (1971) Adaptation of  
ruminant bacteria to concentrated feed. J. Gen. Appl. Microbiol. -  
17:13.
- 27.- Nicholson, J.W.G. and H.M. Cunningham. (1961) The addition of buffers  
to ruminant rations. I. Effect on weight gains, efficiency of gains  
and consumption of rations with and without roughage. Can. J. Anim.  
Sci. 41:134.
- 28.- Nicholson, J.W.G., H.M. Cunningham and D.W. Friend. (1963) Effect  
of adding buffers to all-concentrate rations on feedlot performance  
of steers: ration digestibility and intrarumen environment. J. Anim.  
Sci. 22:368.
- 29.- Parthasarathy, D. and A.T. Phillipson. (1953) The movement of potas-  
sium, sodium, chloride and water across the rumen epithelium of  
sheep. J. Physiol. 121:452.
- 30.- Phillips, R.W. and L.D. Lewis. (1977) Ruminant pharmacology. In L.M.  
Jones, N.H. Booth and L.E. McDonald eds. Veterinary pharmacology and  
Therapeutics. Ames, Iowa State University Press, U.S.A.
- 31.- Phillipson, A.T. (1952) The fatty acids present in the rumen of lambs  
fed on a flaked maize ration. Brit. J. Nutr. 6:190-198.

- 32.- Portway, B. (1957) The characteristic syndrome following excessive consumption of grapes by cows. *Australian Vet. J.* 33:210
- 33.- Reid, R.L., J.P. Hogan and P.K. Briggs. (1957) The effect of diet on individual volatile fatty acids in the rumen of sheep, with particular reference to the effect of low pH and adaptation on high starch diets. *Australian J. Agr. Res.* 8:691-710.
- 34.- Roswell, A.W. (1953) The occurrence and distribution of amines and decarboxylases within the genus *Lactobacillus*. *J. Gen. Microbiol.* 8:224-232.
- 35.- Ryan, R.K. (1964) Concentrations of glucose and low molecular weight acids in the rumen of sheep following the addition of large amounts of wheat to the rumen. *Am. J. Vet. Res.* 25:646-652.
- 36.- Sparisbrick, R. (1954) Acid indigestion in a sheep fed on mangolds. *Vet. Rec.* 66:131-132.
- 37.- Slyter, L.L. (1976) Influence of acidosis on rumen function. *J. Anim. Sci.* 43(4):910-929.
- 38.- Slyter, L.L., J. Pond, T.S. Rumsey and J.M. Weaver. (1974) Ruminant bacteria: lactic acid and glucose in heifers after fasting and refeeding. *J. Anim. Sci.* 39:252(abstr).
- 39.- Slyter, L.L., D.L. Kern and J.M. Weaver (1976) Effect of pH on ruminal lactic acid utilization and accumulation in vitro. *J. Anim. Sci.* 43:333(abstr).
- 40.- Telle, P.O. and R.L. Preston. (1971) Ovine lactic acidosis: Intraruminal and systemic. *J. Anim. Sci.* 33:698-705.
- 41.- Tremere, A.W., W.G. Merrill and J.K. Loosli. (1968) Adaptation to high concentrate feeding as related to acidosis and digestive disturbances in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 51:1065.
- 42.- Uhart, B.A. and B.D. Carroll. (1967) Acidosis in beef steers. *J. Anim. Sci.* 26:1195.
- 43.- Warner, A.C.I. and B.D. Stacey. (1965) Solutes in the rumen of sheep. *Quart. J. Exp. Physiol.* 50:169.
- 44.- Whanger, P.D. and G. McTrone. (1967) Metabolism of lactic, succinic and acrylic acids by rumen microorganisms from sheep fed sulfur-adequate and sulfur-deficient diets. *Biochim. Biophys. Acta* 136:27.
- 45.- Williams, V.J. and D.D.S. MacKenzie. (1965) The absorption of lactic acid from the reticulo-rumen of the sheep. *Australian J. Biol. Sci.* 18:917.
- 46.- Wise, M.B., T.N. Blumer, H.B. Craig and E.R. Berrick. (1965) Influence of rumen buffering agents and hay on performance and carcass characteristics of steers fed all-concentrate rations. *J. Anim. Sci.* 24:83.
- 47.- Wise, M.B., R.W. Harvey, B.R. Haskins and E.R. Berrick. (1968) - Finishing beef cattle on all-concentrate rations. *J. Anim. Sci.* 27:1449.

## INTOXICACION POR CIANURO

### INTRODUCCION.

Desde tiempos remotos la ganadería ha sufrido muchas pérdidas debido al consumo de plantas venenosas existentes en la naturaleza, lo cual ha representado un fuerte problema económico. A partir de 1891, los investigadores de las estaciones experimentales de algunos países han efectuado estudios para caracterizar los tóxicos de esas plantas (9). Se sabe que en muchas áreas que sufren sequías en forma periódica es difícil el desarrollo de plantas forrajeras útiles, pero proliferan las plantas tóxicas que son resistentes al clima adverso. Muchas de las plantas tóxicas para el ganado contienen glucósidos cianogénicos. En esta forma el ácido cianhídrico no es tóxico, pero puede ser liberado del complejo orgánico por acción enzimática (2).

Existen por lo menos trescientas especies de plantas que se ha comprobado que contienen glucósidos cianogénicos, de las cuales cincuenta y dos especies forman parte de la familia Leguminosae y veinticinco de la Gramineae (9,12). Generalmente se reporta en la literatura a este tipo de plantas como "potencialmente tóxicas", pero muy pocos autores expresan el contenido del tóxico (9). En México se han efectuado estudios para determinar el contenido de glucósidos cianogénicos en los forrajes más comunes, encontrando que los que son "potencialmente más tóxicos" son: pasto Bermuda, pasto Estrella Santo Domingo y Chaya (13). Otros forrajes asociados a la intoxicación por ácido cianhídrico (HCN) son: sorgo, pasto Sudán, pasto Johnson, alfalfa, tréboles, yuca, etc.(12).

Los glucósidos cianogénicos son subproductos del metabolismo de las plantas y sus concentraciones en las diferentes especies vegetales son variables, dependiendo del clima, estado de madurez de la planta, etc. (2).

Bansal, citado por Miranda (13), ha fundamentado que para la liberación del HCN son esenciales el glucósido cianogénico

y la correspondiente enzima que lo hidrolice, por lo cual se pueden esperar cuatro categorías de plantas:

- 1.- Plantas conteniendo tanto al glucósido como a la enzima.
- 2.- Plantas conteniendo exclusivamente al glucósido.
- 3.- Plantas conteniendo exclusivamente a la enzima.
- 4.- Plantas carentes de glucósido y de enzima.

El resultado de la hidrólisis del glucósido por las enzimas de las plantas provoca la liberación del HCN. La intoxicación es causada por el ión cianuro ( $CN^-$ ), producto de la disociación del HCN, siendo más común en los animales rumiantes que en los no rumiantes, debido a que en estos últimos la acidez del estómago ayuda a destruir a la enzima que hidroliza a los glucósidos (2).

La intoxicación en forma aguda es la más común en los animales y es generalmente fatal. La intoxicación crónica puede causar bocio en los animales recién nacidos, especialmente en aquellas áreas cuyos suelos son deficientes en iodo (12).

#### CAMBIOS BIOQUÍMICOS.

La intoxicación aguda por ácido cianhídrico causa una anoxia citotóxica que provoca una asfixia tisular. (2).

##### 1.- Producción del ácido cianhídrico.

Cuando las plantas que contienen glucósidos cianogénicos sufren algún daño en su estructura celular se desencadenan mecanismos enzimáticos que provocan la hidrólisis de dicho glucósido (Fig. 1). Uno de los glucósidos cianogénicos más abundantes en la plantas tóxicas es la Linamarina (5).

La Fig. 1 muestra en el paso 1) que el enlace glucosídico - que une a la  $\beta$ -D-Glucosa con el 2-hidroxiisobutironitrilo es - hidrolizado por la enzima endógena  $\beta$ -glucosidasa. En el paso 2) el hidroxiisobutironitrilo se disocia formando acetona y ácido cianhídrico. Este último paso se efectúa rápidamente en forma no enzimática, aunque en algunas especies vegetales existe la



enzima que cataliza esta reacción (5).

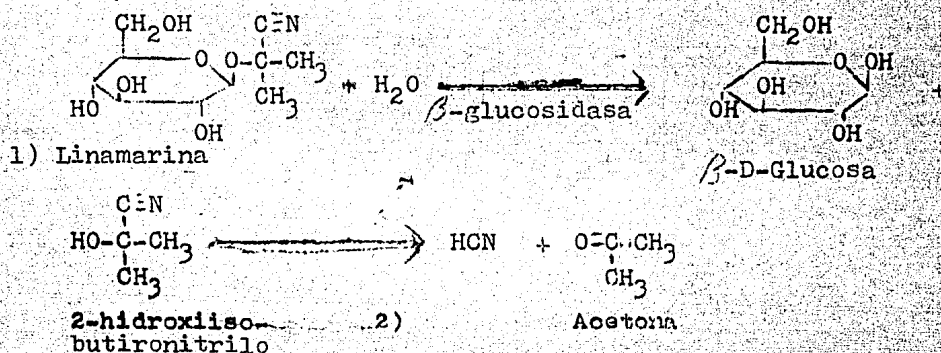


Fig. 1.- Mecanismo de la hidrólisis enzimática del glucósido Linamarina. Tomado de Conn (5).

Otro de los glucósidos cianogénicos más comunes en los vegetales es la Lotaustralina, la cual siempre aparece en plantas que contienen Linamarina. La Lotaustralina en su hidrólisis forma metiletilacetona en vez de acetona, y HCN. (Fig. 2).

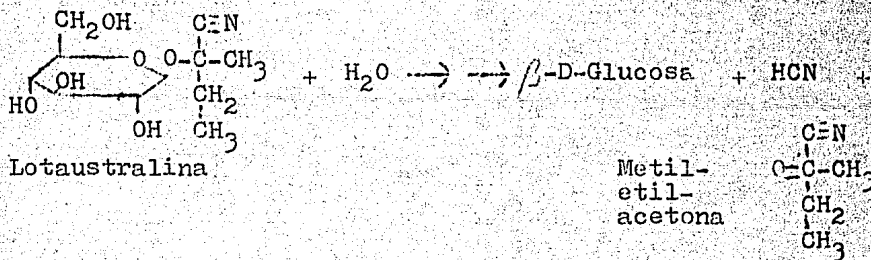


Fig. 2.- Mecanismo de la hidrólisis enzimática del glucósido Lotaustralina.

El azúcar producido en la hidrólisis de la mayoría de los glucósidos cianogénicos es la  $\beta$ -D-Glucopiranososa. La hidrólisis de los glucósidos Amigdalina, Vicianina y Lucumina produce disacáridos que tienen como segundo azúcar respectivamente glucosa, arabinosa y xilosa (5). Las aglucanas de trece de los veinte glucósidos cianogénicos conocidos están formadas o se forman a partir de aminoácidos proteicos, especialmente de valina, isoleucina, leucina, tirosina y fenilalanina (5).

Se ha reportado que la flora microbiana ruminal de ovinos tiene la capacidad de hidrolizar a los glucósidos cianogénicos (6). Esto quiere decir que si la planta contiene exclusivamente al glucósido y no a la enzima que lo hidrolice, de cualquier forma se libera el HCN en rumen.

## 2.- Acción tóxica.

Es aceptado generalmente que la intoxicación aguda por cianuro es debida principalmente a la inhibición del transporte de electrones en la cadena respiratoria a nivel del complejo citocromo oxidasa, lo cual causa una anoxia citotóxica (2,10, 20). Este complejo es el miembro terminal de la cadena respiratoria y es el único capaz de reducir al oxígeno. Se sabe que al final de la cadena están el citocromo a y el  $a_3$ , considerándose a este último como la oxidasa real. El complejo citocromo oxidasa es un polímero de subunidades de peso molecular del orden de 72,000, cada una de las cuales contiene un hem así como un átomo de cobre, pero es activo solamente en forma polímera compleja unido con los lípidos mitocondriales. La forma férrica oxidada de la enzima citocromo oxidasa se combina avidamente con el ión  $C\equiv N^-$  a baja concentración y luego no puede reducirse; esto da una explicación a la elevada toxicidad del cianuro (20).

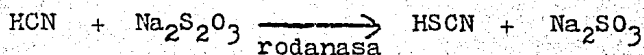
Si se les suministra a ratas una dosis letal de cianuro de sodio e inmediatamente después de la muerte se les extrae el cerebro y se mide la actividad de la citocromo oxidasa, se observa una disminución mayor al 50% en dicha actividad (1). De lo anterior se deduce que la inhibición de la citocromo oxidasa induce a una anoxia y un cambio temporal del metabolismo aeróbico al anaeróbico se refleja por una marcada disminución de los niveles de adenosín trifosfato (ATP) y un concomitante aumento en el adenosín difosfato (ADP) (15).

## 3.- Mecanismo de detoxificación.

Existen dos formas de detoxificación del cianuro en los animales, cuando ingieren pequeñas cantidades, y son: (14)

- a) Por formación de tiocianatos.
- b) Por formación de cianocobalamina.

Para la formación de tiocianatos se requiere de la enzima rodanasa (tiosulfato transulfurasa), que se encuentra distribuida en todo el cuerpo pero especialmente en el hígado y de tiosulfato o azufre coloidal. Esta reacción se lleva a cabo bajo condiciones anaerobicas de la siguiente forma:



Los tiocianatos resultantes son relativamente atóxicos y se excretan por orina. Esta es la principal vía detoxificante del cianuro (14).

La coenzima cobalamida reacciona rapidamente con el cianuro convirtiéndose en cianocobalamina (Vitamina B<sub>12</sub>). Este efecto es benéfico en la intoxicación por cianuro y provee un camino independiente para la detoxificación. La gran afinidad de la vitamina B<sub>12</sub> por el cianuro es debida a la presencia del cobalto en la molécula. La cianocobalamina es atóxica y cumple ciertas funciones metabólicas (14,20).

#### SIGNOS CLINICOS. Tomados de Blood (2) y Guernsey (11).

En la intoxicación aguda por cianuro los animales no sobreviven más de dos horas. En estos casos, los animales afectados muestran los primeros signos de 10 a 15 minutos después de haber ingerido el forraje conteniendo los glucósidos cianogénicos y mueren poco después. Los signos incluyen disnea, ansiedad, debilidad, postración y finalmente convulsiones clónicas con opistótonos. Las mucosas estan de color rojo, pero si el animal no muere rapidamente puede haber cianosis. El pulso es débil pero acelerado, hay dilatación pupilar y nistagmo. A la necropsia es común encontrar la sangre de un color rojo brillante (oxigenada) en los casos muy agudos, mientras que en casos menos agudos se encuentra rojo oscuro

Existe una prueba confirmatoria de intoxicación por cianuro

para demostrar la presencia de HCN en material vegetal mace-  
rado o en contenido ruminal. Las muestras se colocan en un -  
tubo de ensayo que contenga un poco de agua y unas gotas de  
cloroformo, se coloca un papel picrato de sodio, se tapa y -  
se calienta ligeramente. Un cambio rápido del color amarillo  
del papel picrato hacia el rojo indica la presencia de HCN -  
libre. Aunque generalmente el cambio de color es rápido deben  
esperarse de 5 a 10 minutos antes de darlo como negativo.

El papel picrato de sodio es fácil de preparar, mezclando  
0.5 g de ácido pícrico y 0.5 g de carbonato de sodio, aforar  
a 100 ml con agua destilada. Se humedecen tiras de papel fil-  
tro en esta solución y se ponen a secar en la oscuridad. Estas  
tiras reactivas son estables por 6 meses si se conservan en -  
la oscuridad y en lugar fresco.

#### PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO.

Hay que evitar que el ganado tenga acceso a las plantas -  
tóxicas, especialmente a las del género Sorghum cuando estén  
inmaduras, heladas o que hayan crecido rápidamente después -  
de un periodo de crecimiento retardado. La torta de linaza -  
debe darse en pequeñas cantidades o hervirse antes de utili-  
zarse, ya que esta semilla contiene glucósidos cianogénicos  
(2). Se recomienda que los forrajes "potencialmente tóxicos"  
sean secados a una temperatura mayor a los 60°C, ya que de -  
esta forma se destruye a la enzima liberadora del HCN, además  
se ha observado que al disminuir la humedad también disminuye  
la cantidad de HCN (13).

Los dos antídotos más utilizados para el tratamiento de -  
la intoxicación aguda por cianuro son las soluciones de nitri-  
to de sodio y tiosulfato de sodio inyectadas intravenosamente.  
El nitrito convierte a la hemoglobina en metahemoglobina (su  
hierro en estado férrico), la cual se combina fácilmente con  
el cianuro para formar cianometahemoglobina que no es tóxica  
(4). Por otra parte, el tiosulfato es un donador de azufre pa-  
ra la enzima rodanasa que lo combina con el cianuro, formando  
tiocianatos atóxicos (16,17,18). Los resultados del tratamien-

to con nitritos y tiosulfato son reducir la cantidad de cianuro libre que pueda reaccionar con la citocromo oxidasa y acelerar la liberación del cianuro ya unido a ella.

Tanto la citocromo oxidasa como la rodanasa son enzimas - exclusivamente mitocondriales (7). Consecuentemente, el tiosulfato penetra a la mitocondria para estimular la actividad de la rodanasa. Entonces, la actividad del tiosulfato es primariamente intracelular y la de los nitritos es extracelular (15).

Se han estudiado otras sustancias que sirvan de antidotos para esta intoxicación (8,17) o que incrementen la efectividad del tiosulfato y nitrito de sodio (3), pero estos siguen siendo lo más efectivo. Es importante señalar que las dosis de nitritos no deben de excederse, ya que existe un límite máximo para la formación de metahemoglobinemia que no cause intoxicación por nitritos y anóxia (2).

#### PREGUNTAS BIOQUIMICAS.

1.- ¿Cuál es el efecto tóxico del ión cianuro en los organismos animales?

2.- ¿Por qué aumentan los niveles de ADP en los tejidos de los animales intoxicados?

3.- ¿Se considera al cianuro como un inhibidor o como un agente desacoplante? Fundamente su respuesta.

4.- ¿Por qué la metahemoglobina se combina facilmente con el cianuro y no así la hemoglobina? Explique.

5.- ¿Cuál es el razonamiento para la utilización del tiosulfato de sodio y el nitrito de sodio como antidotos en esta intoxicación?

#### BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Albaum, H.G., J. Tepperman and O. Bodansky. (1946) The in vivo inactivation by cyanide of brain cytochrome oxidase and its effects on glycolysis and on the high energy phosphorus compounds in brain. J. Biol. Chem. 164:45-51
- 2.- Flood, D.C., J.A. Henderson and O.M. Radostits. (1979) Veterinary - Medicine. 5th edition. Lea and Febiger. Philadelphia, U.S.A.
- 3.- Burrows, G.E. and J.L. Way. (1979) Cyanide intoxication in sheep: Enhancement of efficacy of sodium nitrite, sodium thiosulfate and cobaltous chloride. Amer. J. Vet. Res. 40(9):613-617.
- 4.- Chen, K.K. and C.L. Rose. (1952) Nitrite and thiosulfate therapy - in cyanide poisoning. J. Amer. Med. Ass. 149:113-119.
- 5.- Conn, E.F. (1973) Cyanogenic glycosides: Their occurrence, biosynthesis and function. pag. 55-63. In Chronic cassava toxicity: proceedings of an interdisciplinary workshop. London, England, January 1973. Int. Develop. Res. Centre Monogr. IDRC-010c.
- 6.- Coop, I.E. and R.L. Blakely. (1949) The metabolism and toxicity - of cyanides and cyanogenic glucosides in sheep. I.- Activity in the rumen. N.Z.J. Sci. and Tech. 30A:277-291.
- 7.- de Duve, C., B.C. Pressman, R. Gianetto, R. Wattiaux and F. Appelmans. (1955) Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat liver tissue. Biochem. J. 60:604-617.
- 8.- Furukawa, T., Y. Maeda, Y. Yamashita, H. Ueda, H. Mizusawa and E. Sakakibara. (1976) Itaprodil: Protective effect in experimental cyanide poisoning. Toxicol. Appl. Pharmacol. 37:289-300.
- 9.- Garner, B.J. y D.S. Papworth. (1970) Garner, Toxicología Veterinaria. 3ª edición. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- 10.- Goodman, L. y A. Gilman. (1974) Bases farmacológicas de la terapéutica. 4ª edición. Ed. Interamericana, México.
- 11.- Guernsey, M.P., W.T. Jones, M. Merrall and C.S.W. Reid. (1977) Cyanide poisoning in cattle: two unusual cases. New Zeal. Vet. Jour. 25:128-130.
- 12.- Hill, D.C. (1973) Chronic cyanide toxicity in domestic animals. pag. 109-111. In Chronic cassava toxicity: proceedings of an interdisciplinary workshop. London, England, January 1973. Int. - Develop. Res. Centre Monogr. IDRC-010c.
- 13.- Miranda Castro, S.P. (1979) Cuantificación de glucósidos cianogénicos en forrajes comunes en el país. Tesis de licenciatura C.R.F.B. F.N.E.P. Cuautitlan U.N.A.M. México.
- 14.- Oke, O.L. (1973) The mode of cyanide detoxication. pag. 97-104. In Chronic cassava toxicity: proceedings of an interdisciplinary workshop. London, England, January 1973. Int. Develop. Res. Centre Monogr. IDRC-010c.
- 15.- Schubert, J. and W.A. Brill. (1968) Antagonism of experimental - cyanide toxicity in relation to the in vivo activity of cytochrome oxidase. J. Pharmacol. Exp. Therap. 162(2):352-359.
- 16.- Sorbo, B.H. (1951) Crystalline rhodanase I. Acta Chem. Scand. 5:724-726.
- 17.- Sorbo, B.H. (1951) Crystalline rhodanase II. The enzyme catalyzed reaction. Acta Chem. Scand. 5:1218-1219.
- 18.- Sorbo, B.H. (1953) Studies on rhodanase. Acta Chem. Scand. 7:238-241.
- 19.- Way, J.L. and G. Burrows. (1976) Cyanide intoxication: Protection with chlorpromazine. Toxicol. Appl. Pharmacol. 36:93-97.
- 20.- White, A., P. Handler and E. Smith. (1970) Principios de Bioquímica. Ed. McGraw-Hill de México. México.

## HIPOGLUCEMIA EN LECHONES.

### INTRODUCCION.

En 1941 fué descrita una enfermedad fatal aguda en lechones recién nacidos caracterizada por una marcada hipoglucemia (17). En 1942 se asoció la inanición a este problema (43). De 1947 en adelante se ha estudiado a esta enfermedad estableciéndose que los cerdos recién nacidos sujetos a ayuno las primeras 12-24 horas son más susceptibles a desarrollar una hipoglucemia intensa, mientras que aquellos animales amamantados normalmente por 5-6 días son menos susceptibles (19,34, 35,36,37).

El nacimiento es un brusco trasplante del feto de un ambiente cálido y protegido a un medio extrauterino hostil, - una experiencia obviamente stressante. No obstante, existen muchos factores que contribuyen a la supervivencia del recién nacido, entre los cuales están su madurez física y fisiológica aunados a los cuidados maternos. Los recién nacidos de muchas especies mamíferas, como lo son los ratones, ratas, conejos, perros y gatos, son inmaduros y reciben muchos cuidados maternos durante el periodo postnatal temprano. Estos cuidados brindan al neonato la protección necesaria hasta el adecuado desarrollo de sus mecanismos homeostáticos necesarios para la adaptación (49). En contraste con estas especies, los lechones son físicamente activos al nacer y solo reciben cuidados maternos rudimentarios. Estos factores, junto con algunos rasgos fisiológicos y bioquímicos inmaduros propios del cerdo neonato, lo hacen vulnerable a la acción stressante del medio extrauterino en los primeros días de vida. Esta vulnerabilidad contribuye a la elevada tasa de mortalidad predestete (20-25%) que existe en la producción porcina (21,22,46,49).

Los principales rasgos fisiológicos y bioquímicos que predisponen a los lechones hacia la presentación de la hipoglucemia son los siguientes:

a) Tienen una elevada temperatura termoneutral (34°C) y - muy escasa grasa parda, por lo cual son muy sensibles a las



temperaturas ambientales bajas (8,25,38,46).

b) Las reservas de energía son predominantemente carbohidratos, ya que tienen grandes cantidades de glucógeno y menos del 1% de grasa de depósito al nacimiento (8,25,49).

c) No obstante que existe una gran cantidad de fructosa - en la sangre, no se utiliza y es excretada durante las primeras 12 horas de vida (1,16).

d) Su capacidad gluconeogénica es defectuosa y no se desarrolla sino hasta las 48 horas postparto (25).

e) Tienen un deficiente número de mitocondrias hepáticas, lo cual limita la utilización de carbohidratos y lípidos para la producción de energía (25).

Por lo anterior, los lechones recién nacidos son muy susceptibles de sufrir hipoglucemia cuando no son debidamente alimentados y cuando la temperatura ambiental es menor a su temperatura termoneutral. Cualquier factor que impida a los lechones amamantarse frecuentemente será causa de hipoglucemia; los factores pueden ser maternos (agalactia, rechazo - por dolor, pobre número de tetas, etc.) o de los lechones (debilidad, diarreas, competencia, etc).

## CAMBIOS BIOQUIMICOS.

### 1.- Metabolismo de los carbohidratos.

a) Glucogénesis y glucogenólisis..El cerdo recién nacido tiene grandes reservas de glucógeno en varios tejidos, las - cuales son rápidamente utilizadas en las primeras horas de - vida. Cualquier condición adversa durante este periodo, tales como la exposición al frío o ayuno, exacerbará la degradación de esta reserva energética. Los fetos obtienen su glucosa a - partir de la sangre materna y es almacenada por varios tejidos, especialmente durante los últimos días del periodo fetal. Dawes y Shelley, citados por Mersmann (25), han estimado las reservas de glucógeno del cerdo recién nacido en 23 g/Kg de peso corporal, estando predominantemente en el músculo (21 g) y en el hígado. La reserva de glucógeno hepático en el neonato puede ser tan grande como 200 mg/g, mientras que en el músculo puede llegar a 120 mg/g. Durante los últimos días de -

la gestación el glucógeno hepático se incrementa notablemente y pasadas 12 a 18 horas postparto cae rápidamente a niveles mínimos (Tabla 1).

TABLA 1

Edad	Glucógeno hepático ng/g
- 10 días	118.2 ± 10.7
- 4 "	248.7 ± 9.8
0 horas	194.2 ± 16.8
6 "	85.0 ± 28.0
12 "	32.0 ± 20.0
24 "	23.0 ± 12.0
48 "	32.0 ± 15.0

± desviación standard

Niveles de glucógeno hepático a diferentes edades. Tomado de Elliot (13) y Mersmann(24).

En el músculo esquelético la disminución del glucógeno es menos rápida que en el hígado, alcanzando los niveles mínimos de 36 a 48 horas postparto. El nivel del glucógeno en el miocardio es 3-4 veces mayor al día del nacimiento que a los 3 días postparto (13,24,30,52). Todos estos cambios son debidos a que durante la vida fetal tardía la actividad de la glucógeno sintetasa es elevada, decrece al nacimiento y posteriormente vuelve a incrementarse (30).

Los valores de glucemia en el cerdo recién nacido son bajos (30-60 mg/100 ml) y se incrementan rápidamente después de amamantarse para dar valores promedio de 95 mg/100 ml, lo cual refleja una elevada actividad de la lactasa intestinal (4,14,16,23,42). Si los lechones recién nacidos son sometidos a ayuno, la glucosa sanguínea se eleva hacia las 6 horas postparto, pero no se mantiene y decrece rápidamente (14,16,52) y la cantidad de glucógeno hepático disminuye paralelamente (51). La habilidad para producir glucosa a partir de las reservas de glucógeno está determinada por la actividad de la glucógeno fosforilasa, siendo ésta elevada al nacimiento

to. Esta enzima es activada con el ayuno y la liberación de catecolaminas (30,48,49).

b) Glucólisis y Vía de las Pentosas. La dependencia del cerdo neonato sobre la glucólisis se refleja en una elevación del lactato sanguíneo, siendo esto muy marcado durante el ayuno (10,42). En el hígado de los cerdos recién nacidos existe una elevada actividad de las enzimas glucolíticas, observándose un ligero incremento postnatal (24,51). El aumento más notable es en la glucocinasa, enzima hepática especializada en metabolizar grandes cantidades de glucosa, esta enzima está presente solo en pequeñas cantidades en el periodo fetal tardío (25).

La vía de las pentosas produce equivalentes reductores necesarios para los procesos biosintéticos de los ácidos grasos y aminoácidos no esenciales, y ribosa para la biosíntesis de los nucleótidos. Ya que la biosíntesis y división celulares son prevalentes durante la vida fetal, es lógico encontrar gran actividad de las enzimas de esta vía al nacimiento y no observar grandes cambios postnatales (27). En varias especies, como las ratas, cuyos y conejos, las actividades de estas enzimas decrecen durante la lactancia, lo cual probablemente esté asociado con la disminución de la lipogénesis hepática provocada por el elevado ingreso de grasa dietética. Las actividades de estas enzimas en el hígado del cerdo no disminuyen probablemente porque la lipogénesis hepática es pobre en esta especie(41).

c) Gluconeogénesis. La síntesis y degradación del glucógeno, la tasa de ingreso dietético, la tasa de oxidación por varios tejidos, ciertas hormonas y la gluconeogénesis son varios de los factores que interactúan para mantener un nivel constante de glucemia.

La gluconeogénesis es un proceso principalmente hepático y en menor cuantía renal, siendo más activo durante el ayuno en las especies no ruminantes. Muchos de los pasos de esta vía son catalizados por las enzimas bidireccionales de la glucólisis, mientras que otros necesitan de enzimas particulares.

Ballard y Walker, citados por Mersmann (25), indican que la capacidad gluconeogénica está limitada en los fetos de muchas especies y se desarrolla en el periodo perinatal. La hipoglucemia postparto observada en varias especies, principalmente los cerdos, es causada en parte por la falla en su capacidad gluconeogénica (24,25). Esta última se incrementa con la edad y el ayuno, siendo funcional al segundo o tercer día de vida (24,50,51). No se puede pensar que esta falla en la gluconeogénesis sea debida a falta de corticosteroides, ya que los niveles de 17-hidroxycorticosteroides son elevados al día del nacimiento (12).

Los lechones de un día de edad tienen una pequeña capacidad gluconeogénica hepática, pero el desarrollo completo de este proceso ocurre hasta después del quinto día de nacidos (20,24).

Para que se efectúa la gluconeogénesis en cualquier órgano se necesitan:

1) Una fuente de esqueletos carbonados: piruvato, lactato, glicerol, aminoácidos o propionato.

2) Una fuente de energía (ATP), la cual es requerida en algunas reacciones (ver reacciones 1,2 y 3 en la Fig. 1).

3) Un adecuado estado de óxido-reducción en el citoplasma y mitocondria. El  $\text{NADH} + \text{H}^+$  se necesita para la conversión de fosfoenolpiruvato a glucosa en el paso catalizado por la enzima gliceraldehído-3-P-deshidrogenasa. Un elevado nivel de  $\text{NADH} + \text{H}^+$  en el interior de la mitocondria puede inhibir la producción de fosfoenolpiruvato.

4) La presencia de todas las enzimas necesarias para el proceso.

d) Regulación de la temperatura y metabolismo energético.

La exposición de los cerdos recién nacidos al frío representa una demanda adicional sobre las reservas de carbohidratos, provocando una movilización de glucosa con un concomitante decremento del glucógeno del músculo esquelético e incremento del lactato sanguíneo (10,11,47). Durante la exposi-

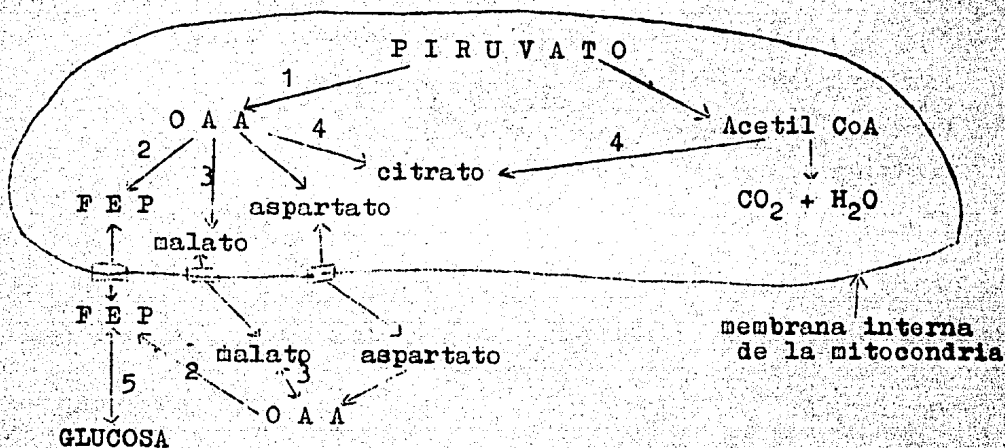


Fig. 1.- Resumen de la gluconeogénesis a partir del piruvato. OAA = oxalacetato, FEP = fosfoenolpiruvato. Los cuadros marcados en la membrana mitocondrial representan los sistemas transportadores específicos. La reacción 1 es catalizada por la piruvato carboxilasa, la reacción 2 por la FEP carboxicinasa, la reacción 3 por la deshidrogenasa málica, y la reacción 4 por la enzima condensante y el número 5 representa la serie de reacciones que convierten al FEP en glucosa. Tomado de Bieber (5).

ción al frío, la temperatura corporal es mantenida principalmente por el titiriteo, para lo cual debe activarse la fosforilasa muscular.

Los estudios citológicos de hígados de cerdos recién nacidos indican lo siguiente: 1) El núcleo de los hepatocitos en posición periférica; 2) Pocos organelos citoplásmicos, localizados también en la periferia de la célula; 3) La mayor parte del citoplasma está ocupado por glucógeno (26). Al segundo día postparto las reservas de glucógeno decrecen, las células se agrandan y se presenta una gran proliferación de organelos. Las mitocondrias, escasas al día del nacimiento, muestran una marcada proliferación y crecimiento en los siguientes días. Estas mitocondrias son morfológicamente iguales a las de animales adultos y no hay diferencias en su capacidad para sintetizar ATP (26). De 6 a 12 horas postparto se incrementan las actividades oxidativas sobre el succinato, piruvato, hidroxibutirato, acetoglutarato y glutamato, lo cual refleja una proliferación de éstos organelos.

## 2.- Metabolismo de los lípidos.

Los lípidos están presentes como estructuras en las membranas celulares, especialmente los fosfolípidos, y como reservas de energía en el tejido adiposo, los triacilglicéridos. En este último tejido existe una especialización para la termogénesis, la llamada grasa parda.

La pequeña cantidad de lípidos totales en el lechón recién nacido revela que es imposible que representen una gran reserva energética (57). Los niveles de ácidos grasos libres (AGL) en estos animales son bajos al día del nacimiento (100  $\mu$ Eq/100 ml de sangre) y solo se elevan ligeramente durante el ayuno (4,14,52). En cerdos recién nacidos amamantados, los niveles de AGL se incrementan de 2 a 4 veces como resultado del ingreso dietético de lípidos de la leche.

El glicerol liberado durante la lipólisis puede ser utilizado como fuente para la gluconeogénesis o ser reutilizado por los tejidos hepático o adiposo para la lipogénesis (triacilglicéridos y fosfoglicéridos). Para entrar a cualquiera de las dos vías, el glicerol requiere ser fosforilado por la glicerocinasa, pero los niveles de esta enzima en los hepatocitos del lechón son muy bajos al día del nacimiento, incrementándose unas tres veces al segundo día y llegan posteriormente a niveles normales (29). La siguiente enzima en esta vía (gluconeogénesis a partir del glicerol) es la glicerofosfato deshidrogenasa, la cual tiene poca actividad en hígados de lechones neonatos, se incrementa 4 veces al tercer día postparto (31). Las bajas actividades de estas enzimas contribuyen a la pobre tasa de utilización del glicerol para la gluconeogénesis en el cerdo recién nacido (50).

Los homogenados de hígados de cerdos recién nacidos muestran bajas tasas de oxidación de ácidos grasos, incrementándose 4 veces hacia el séptimo día postparto (28). En los cerdos recién nacidos ayunados se observa una elevación mínima en la concentración de los AGL y cuerpos cetónicos plasmáticos (14), comparándolos con animales mayores, lo cual indica una escasa cantidad de tejido adiposo y una baja tasa de oxi-

dación (14). La actividad de la carnitin-palmitoil transferasa es máxima a las 24 horas de edad, por lo cual no se puede pensar que la reducida capacidad oxidativa sobre los ácidos grasos se deba a la inhabilidad para introducirlos a la mitocondria (6). Esta oxidación deficiente probablemente es el resultado del bajo número de mitocondrias hepáticas con que cuentan los lechones al nacimiento (22,24,25).

### 3.- Metabolismo de las proteínas.

Los fetos reciben un continuo aporte de aminoácidos de la circulación materna y son capaces de sintetizar proteínas desde etapas muy tempranas (18). Ya que también tienen un continuo aporte de glucosa no tienen necesidad de convertir los aminoácidos en esqueletos carbonados para el metabolismo energético o para la gluconeogénesis. La hipoglucemia postparto tal vez sea un factor importante en la inducción enzimática (54).

En los cerdos, la concentración de proteínas séricas totales se eleva de 2-3 mg/100 ml al nacimiento hasta cerca de 5 mg% a las 4-6 horas debido al ingreso del calostro (3,7,32). La gran cantidad de aminoácidos libres en el suero de lechones recién nacidos decrece rápidamente ya que son utilizados para la síntesis de proteínas (3).

### SIGNOS CLINICOS.

Los primeros signos de hipoglucemia en lechones generalmente se presentan al tercer día de edad, siendo debilidad y adinamia. Mientras la glucemia se mantenga por encima de los 50 mg/100 ml pueden no presentarse alteraciones del comportamiento. Sin embargo, cuando la glucosa sanguínea es cercana a 40 mg% aparecen signos claros de una disminución y alteración del metabolismo cerebral: incoordinación, postración, convulsiones con movimientos de galope, hipotermia, piloerección, palidez, bradicardia, coma y muerte (15,16). La causa de la muerte en casos de hipoglucemia es la falta de glucosa para el metabolismo cerebral (19).



## PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO.

Es necesario proteger a los lechones adecuadamente durante el periodo postnatal temprano, ya que estos animales tienen dificultades para mantener un nivel seguro de glucemia, especialmente en un ambiente frío y si son sometidos a ayuno. Debe revisarse si la cerda no sufre agalactia, si el número de tetas alcanza para el número de lechones (si no deben pasarse algunos a otra cerda) y los lechones deben contar con una fuente de calor artificial (51).

El tratamiento indicado en casos de hipoglucemia de los lechones es la administración parenteral de solución glucosada, siendo la vía más recomendable en el cerdo la intraperitoneal. Deben inyectarse 15 ml. de solución glucosada al 5% antes o al inicio del coma. Si los lechones pueden deglutir se recomienda darle una cucharada de solución glucosada al 50% tres veces al día, suspendiéndose cuando se puedan amamantar o tomar un sustituto lácteo (51). Los sustitutos no deben contener sacarosa, ya que aunque existe una elevada actividad sacarásica intestinal, la fructosa que se absorbe no puede ser utilizada y se excretará, así como la fructosa sanguínea con que nacen. La no utilización de este monosacárido se debe a la pequeñísima actividad de la fructocinasa hepática al nacimiento. Esta enzima es necesaria para fosforilar a la fructosa y así poder ser utilizada vía glucólisis (1,2).

### PREGUNTAS BIOQUÍMICAS.

- 1.- ¿Cuál es el mecanismo completo de la glucogenólisis? ¿Que hormonas la estimulan?
- 2.- ¿Por qué hay una elevación del lactato sanguíneo en los lechones neonatos que sufren de hipoglucemia?
- 3.- ¿Cuales son las enzimas diferentes a las de la vía glucolítica necesarias para la gluconeogénesis? ¿Que hormona estimula esta vía?

4.- ¿Por qué la exposición al frío predispone a los lechones a sufrir de hipoglucemia?

5.- ¿Cuál es la importancia de la baja tasa de oxidación de los ácidos grasos, aunada a la pequeña cantidad de grasa de reserva?

6.- ¿Cuál es la causa de la muerte en casos de hipoglucemia?

#### BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Aherne, F., V.W. Hays, R.C. Ewan and V.C. Speer. (1969a) Absorption and utilization of sugars by the baby pigs. *J. Anim. Sci.* 29:444-450.
- 2.- Aherne, F., V.W. Hays, R.C. Ewan and V.C. Speer. (1969b) Glucose and fructose in the fetal and newborn pig. *J. Anim. Sci.* 29:906-911.
- 3.- Bengtsson, G. (1971) Soluble and insoluble blood serum proteins in fed and fasted newborn pigs. *Brit. J. Nutr.* 26:449.
- 4.- Bengtsson, G., J. Gentz, J. Hakkarainen, R. Hellstrom and B. Persson. (1969) Plasma levels of FFA, glycerol, hydroxybutyrate and blood glucose during the postnatal development of the pig. *J. Nutr.* 97:311-315.
- 5.- Bieber, L.L., T. Helmrath, E.A. Dolanski, M.K. Olgaard, Y. Choi and L.L. Bialangar. (1979) Gluconeogenesis in neonatal piglet liver. *J. Anim. Sci.* 49(1):250-257.
- 6.- Bieber, L.L., M.A.K. Merkwoll, M. Blair and T.A. Helmrath. (1973) Studies on the development of carnitine palmitoyl transferase and fatty acid oxidation in liver mitochondria of neonatal pigs. *Bioch. Biophys. Acta* 326:145-154.
- 7.- Coalson, J.A. and J.G. Lecce. (1973) Influence of nursing intervals on changes in serum proteins (immunoglobulins) in neonatal pigs. *J. Anim. Sci.* 36:381.
- 8.- Curtis, S.E. (1974) Responses of the piglet to perinatal stressors. *J. Anim. Sci.* 38(5):1031-1036.
- 9.- Curtis, S.E., G.I. Christison and W.D. Robertson. (1970) Effects of acute cold exposure and age on respiratory quotients in piglets. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 134:188.
- 10.- Curtis, S.E., C.J. Heindenreich and C.W. Foley. (1966) Carbohydrate assimilation and utilization by newborn pigs. *J. Anim. Sci.* 25:655-662.
- 11.- Curtis, S.E. and J.C. Rogler. (1970) Thermoregulatory ontogeny in piglets: Sympathetic and adipokinetic responses to cold. *Amer. J. Physiol.* 218:149-152.
- 12.- Dvorak, M. (1972) Adrenocortical function in foetal, neonatal and young pigs. *J. Endocrinol.* 54:473-481.
- 13.- Elliot, J.I. and G.A. Lodge. (1977) Body composition and glycogen reserves in the neonatal pig during the first 96 hours postpartum. *Can. J. Anim. Sci.* 57:141-150.
- 14.- Gentz, J., G. Bengtsson, J. Hakkarainen, R. Hellstrom and B. Persson. (1970) Metabolic effects of starvation during neonatal period in the piglet. *Amer. J. Physiol.* 218:662-668.

- 15.- Goodwin, R.F.W. (1955) Some common factors in the pathology of the new born pig disease. Brit. Vet. J. 111:361.
- 16.- Goodwin, R.F.W. (1957) The relationship between the concentration of blood sugar and some vital functions in the newborn pig. J.-Physiol. 136:208-217.
- 17.- Graham, R., J. Sampson and H.R. Hester. (1941) I.- Acute hypoglycemia in newly born pigs. (So-called baby pig disease) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 47:338-339.
- 18.- Hahn, P. and J. Skala. (1971) Development of enzyme systems. Clin. Obstet. Gynecol. 14:855.
- 19.- Hangwalt, V. and J. Sampson. (1947) Studies on baby pig mortality. V. Relationship between age and time of onset of acute hypoglycemia in fasting newborn pigs. Amer. J. Vet. Res. 8:235-243.
- 20.- Halmrath, T. and L.L. Bieber. (1974) Studies on the development of gluconeogenesis in neonatal piglets. Amer. J. Physiol. 227:-1308-1313.
- 21.- Kernkamp, H.C.H. (1965) Birth and death statistics on pigs at preweaning age. J. Am. Vet. Med. Ass. 146:337.
- 22.- Leman, A.D., C. Knudson, H.E. Rodetter, and A.G. Mueller. (1972) Reproductive performance of swine in 76 Illinois farms. J. Am. Vet. Med. Ass. 161:1248.
- 23.- Manners, M.J. and J.A. Stevens (1972) Changes from birth to maturity in the pattern of distribution of lactase and sucrase activity in the mucosa of the small intestine in pigs. Brit. J. Nutr. 28:113.
- 24.- Mersmann, H.J. (1971) Glycolytic and gluconeogenic enzyme levels in pre- and postnatal pigs. Amer. J. Physiol. 220:1297-1302.
- 25.- Mersmann, H.J. (1974) Metabolic patterns in the neonatal swine. J. Anim. Sci. 38(5):1022-1030.
- 26.- Mersmann, H.J., J. Goodman, J.M. Houk and S. Anderson (1972) Studies on the biochemistry of mitochondria and cell morphology in the neonatal swine hepatocyte. J. Cell Biol. 53:335-347.
- 27.- Mersmann, H.J. and J.M. Houk. (1971) Pentose phosphate pathway enzyme activity in the liver of developing pigs (Sus domesticus) Comp. Biochem. Physiol. 39B:873.
- 28.- Mersmann, H.J. and G. Phinney. (1973) In vitro fatty acid oxidation in liver and heart from neonatal swine (Sus domesticus). Comp. Biochem. Physiol. 47B:219.
- 29.- Mersmann, H.J. and G. Phinney. (1974) Glycerokinase activity in liver and adipose tissue of developing swine (Sus domesticus) Int. J. Biochem. 4(24):575-579.
- 30.- Mersmann, H.J., G. Phinney, R.L. Mueller and H.C. Stanton (1972) Lipid metabolism in pre- and postnatal pigs. Amer. J. Physiol. 222:1620-1627.
- 31.- Mersmann, H.J., G. Phinney, M.C. Sanguinetti and J.M. Houk. (1973) Lipogenic capacity of liver from perinatal swine (Sus domesticus) Comp. Biochem. Physiol. 46B:493.
- 32.- Miller, E.R., D.E. Ullrey, I. Ackerman, D.A. Schmidt, J.A. Hofer and S.W. Lucke. (1951) Swine hematology from birth to maturity. I.- Serum proteins. J. Anim. Sci. 20:31.
- 33.- Miller, G.M., J.H. Conrad, T.W. Keenan and W.R. Featherston. (1971) Fatty acid oxidation in young pigs. J. Nutr. 101:1343.
- 34.- Morrill, C.C. (1952) Studies on baby pig mortality. VIII, Chemical observations on the newborn pig, with special reference to hypoglycemia. Am. J. Vet. Res. 13:164-170.
- 35.- Morrill, C.C. (1952) Studies on baby pig mortality. X, Influence of environmental temperature on fasting newborn pigs. Am. J. Vet.

- 36.- Morrill, C.C. (1952) Studies on baby pig mortality. XI. A note on the influence of fasting on body temperature, body weight and liver weight of the newborn pig. *Am. J. Vet. Res.* 13:325-326.
- 37.- Morrill, C.C. and J. Sampson. (1952) Studies on baby pig mortality. XII. A note on the influence of ingestion of distilled water, physiological saline and glucose solutions on fasting newborn pigs. *Am. J. Vet. Res.* 13:327-329.
- 38.- Mount, L.E. (1959) The metabolic rate of the newborn pig in relation to environmental temperature and to age. *J. Physiol.* 147:333.
- 39.- Mount, L.E. (1963) Responses to thermal environment in newborn pigs. *Fed. Proc.* 22:618.
- 40.- Mount, L.E. (1969) The respiratory quotient in the newborn pig. *Brit. J. Nutr.* 23:407.
- 41.- O'Hea, E.K. and G.A. Leveille (1969) Significance of adipose tissue and liver as sites of fatty acid synthesis in the pig and the efficiency of utilization of various substrates for lipogenesis. *J. Nutr.* 99:338.
- 42.- Pettigrew, J.F., D.R. Zimmerman, and R.G. Ewen. (1971) Plasma carbohydrate levels in the neonatal pig. *J. Anim. Sci.* 32:895.
- 43.- Sampson, J., H.R. Hoster and R. Graham (1942) Studies on baby pig mortality. II. Further observations on acute hypoglycemia in newborn pigs (So-called baby-pig disease) *J. Am. Vet. Med. Ass.* 100:33-37.
- 44.- Sampson, J. (1950) Hypoglycemia in baby pigs. *Vet. Med.* 45:187.
- 45.- Stanton, H.C., L.J. Brown and R.L. Mueller. (1973) Interrelationships between maternal and neonatal factors and thermoregulation in lactating neonatal swine (*Sus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 44A:97.
- 46.- Stanton, H.C. and J.K. Carroll. (1974) Potential mechanisms responsible for perinatal and periparturient mortality or low viability of swine. *J. Anim. Sci.* 38(5):1037-1044.
- 47.- Stanton, H.C. and R.L. Mueller. (1973a) Metabolic responses to cold and catecholamines as a function of age in swine (*Sus domesticus*) *Comp. Biochem. Physiol.* 45A:215-225.
- 48.- Stanton, H.C. and R.L. Mueller. (1973b) Metabolic responses induced in neonatal swine by norepinephrine, epinephrine and isoproterenol. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 143:492-494.
- 49.- Stanton, H.C. and S.K. Woo. (1978) Development of adrenal medullary function in swine. *Am. J. Physiol.* 234(2):E137.
- 50.- Swiatek, K.R. (1971) Development of gluconeogenesis in pig liver - slices. *Biochem. Biophys. Acta* 252:274-279.
- 51.- Swiatek, K.R., K.L. Chao, H.L. Chao, M. Cornblath and J.T. Tildon. (1970) Enzymatic adaptations in newborn pig liver. *Biochim. Biophys. Acta* 222:145.
- 52.- Swiatek, K.R., D.M. Yipnis, G. Mason, K.L. Chao and M. Cornblath. (1969) Starvation hypoglycemia in newborn pigs. *Am. J. Physiol.* 214:400.
- 53.- Widdowson, E.M. (1950) Chemical composition of newly born mammals. *Nature* 166:626-628.
- 54.- Young, Y.G. and E. Young. (1973) Induction of threonine dehydratase in foetal rat liver. *Comp. Biochem. Physiol.* 44B:649.

## SINDROME HIGADO GRASO Y HEMORRAGICO

### INTRODUCCION.

El síndrome hígado graso y hemorrágico (SHGH), también llamado simplemente síndrome hígado graso, es una enfermedad que se presenta en gallinas ponedoras. Fue reportada por primera vez en 1956 (8) y desde entonces se le ha estudiado con gran interés.

Esta enfermedad se presenta esporádicamente, en forma de brote, especialmente en razas pesadas confinadas en jaulas y generalmente durante el tiempo caluroso (7). Se caracteriza por una excesiva acumulación de lípidos y hemorragias en el hígado. Las mayores pérdidas económicas en esta enfermedad son causadas por la mortalidad, provocada por las hemorragias internas. La producción de huevo puede no afectarse en forma significativa o disminuir casi totalmente (27).

Se ha reportado frecuentemente esta enfermedad en gallinas ponedoras enjauladas, alimentadas con dietas elevadas en energía, conteniendo maíz como grano básico y pasta de soya como la principal fuente de proteína (28,31,34). La asociación de esta enfermedad con dietas elevadas en energía provocó que se le considerara el resultado de un excesivo consumo de calorías aunado a una actividad restringida en la jaula, lo cual resultaría en una gran acumulación de lípidos en el hígado y obesidad (60). No obstante, las evidencias experimentales más recientes han demostrado que el SHGH está relacionado a deficiencias nutricionales específicas NO asociadas al contenido energético de las dietas (35,40,42). La inclusión de ciertos ingredientes, tales como granos de cervecería secos (40), granos de destiliría secos con solubles (29), harina de alfalfa (39), harina de pescado (42), levadura de cerveza y trigo (38), en las dietas que contienen maíz y soya como base, ha reducido la concentración de lípidos hepáticos (27,40).

Los experimentos en los cuales se han incluido también machos, han demostrado claramente que la acumulación de lípidos en el hígado es un fenómeno exclusivo de la hembras en producción, lo cual señala que existen diferencias entre sexos en las respuestas a las diversas fuentes de carbohidratos (38).

#### CAMBIOS BIOQUIMICOS.

En esta enfermedad hay una acumulación de lípidos hepáticos asociada a una acelerada lipogénesis *in vitro* e *in vivo*, incrementada actividad de la sintetasa de los ácidos grasos (37,38), elevación en la concentración de los triacilglicérolos y de los ácidos palmítico y oléico hepáticos (37), elevación en la concentración de los estrógenos plasmáticos y una acelerada tasa de oxidación de los ácidos grasos. No existen cambios cuantitativos en la concentración de los ácidos grasos libres (AGL) plasmáticos (38). El aumento en la cantidad del ácido oléico es una fuerte indicación de que la tasa de síntesis está elevada, ya que éste ácido graso es de origen biosintético principalmente (58).

Al parecer, el hígado graso observado en esta enfermedad es producido por una acelerada lipogénesis hepática y no por alguna incapacidad en el transporte de las lipoproteínas hepáticas hacia la circulación o por una excesiva movilización de los AGL desde los sitios de depósito extrahepáticos (27). Para una mejor comprensión del mecanismo de producción de esta enfermedad se revisarán brevemente los aspectos básicos del metabolismo de los lípidos en las gallinas:

##### a) Metabolismo de los lípidos.

Los lípidos dietéticos son hidrolizados parcialmente en el intestino delgado por la lipasa pancreática y son absorbidos en forma de B-monoglicéridos y ácidos grasos por las células intestinales, dentro de las cuales se produce la reesterificación. Posteriormente, la mayor parte de los lípidos penetra a la circulación sanguínea directamente, en forma de lipoproteínas de baja densidad o "partoncrones".

(4,16), ya que en las aves el sistema linfático visceral - está poco desarrollado, siendo estas lipoproteínas la forma de transporte de los lípidos dietéticos (23). Este mecanismo es diferente al observado en los mamíferos, donde los lípidos entran al sistema linfático principalmente como quilomicrones.

No obstante, las dietas utilizadas comunmente para las aves contienen solo pequeñas cantidades de grasas y los lípidos corporales son sintetizados principalmente a partir de los carbohidratos dietéticos (Fig. 1). Al mismo tiempo que provee de glicerofosfato y precursores de ácidos grasos saturados (en forma de piruvato), el catabolismo de la glucosa también está involucrado en la producción de NADPH + H<sup>+</sup>, el cual se requiere como agente reductor en la síntesis de los ácidos grasos en el citoplasma (16,17,63) y en los sistemas de elongación localizados en los microsomas y en mitocondrias (11). Por lo tanto, la cantidad de grasa sintetizada depende en gran parte de la actividad del sistema glucolítico y de la cantidad de carbohidratos dietéticos.

La acetil CoA carboxilasa, enzima que cataliza la formación del malonil CoA (Fig. 1), es la enzima reguladora más importante en la síntesis de ácidos grasos saturados. Su actividad depende de la disponibilidad de biotina, la cual está presente como su grupo prostético, y se regula por los ácidos tricarbónicos tales como el citrato, los cuales la activan (32) y los compuestos acil CoA de cadena larga funcionan como inhibidores alostéricos (19,20). Por lo anterior, la síntesis de los ácidos grasos está regulada por el ingreso y metabolismo de los carbohidratos y lípidos, a través de mecanismos de retroalimentación. La regulación de la síntesis de lípidos es controlada a largo plazo por factores dietéticos y hormonas, tales como las secretadas por tiroides y ovarios, que influyen sobre la tasa a la cual se sintetizan las enzimas lipogénicas (7).

Los ácidos grasos insaturados "no esenciales", como el oléico y palmitoléico son formados a partir de sus corres-



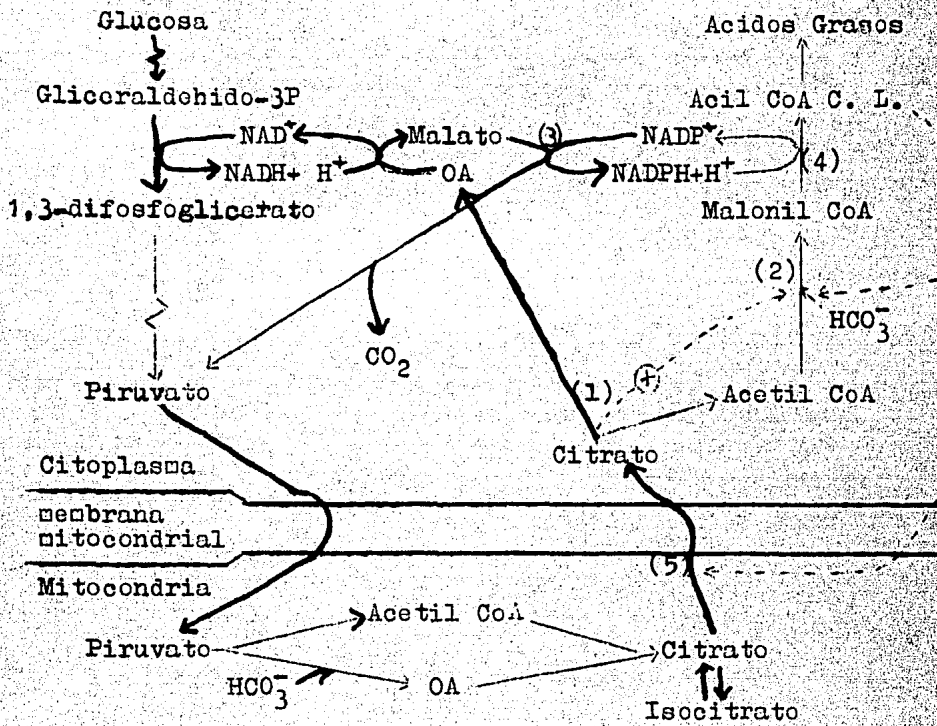


Fig. 1.- Síntesis de los ácidos grasos saturados a partir de carbohidratos. OA=oxalacetato, (1)=ATP citrato liasa, (2)=Acetil CoA carboxilasa, (3)=enzima "málica", (4)=Complejo multienzimático de la síntesis de los ácidos grasos, (5)=Sistema translocador del citrato. Acil CoA C. L.=Acil CoA de cadena larga. -- ⊕ --> =estimulación, -- ⊖ --> = inhibición. Tomado de Butler (7) y Meijering (43).

pendientes ácidos grasos saturados por acción de los sistemas enzimáticos desaturadores (30). Los triacilglicérols, fosfoglicéridos y ésteres del colesterol son producidos a partir de los derivados Acil CoA. Cuando se considera la susceptibilidad de las gallinas y otras aves a la acumulación de lípidos en el hígado, es importante señalar que casi toda la síntesis de los ácidos grasos se efectúa en el hígado (18,35,47) y muy poca en el tejido adiposo, mientras que en los mamíferos este último tejido es el principal sitio lipogénico. La actividad metabólica del hígado en las aves es extremadamente alta, especialmente durante la producción del huevo, cuando la lipogénesis es estimulada por las hormonas ováricas. Más de la mitad del contenido de lí-

pidos del hígado es requerida para la producción de cada huevo, y la cantidad sintetizada por el hígado en un año de producción es casi igual al peso corporal de la gallina (45).

Los lípidos son transportados desde el hígado como lipoproteínas, las cuales son liberadas de su fracción proteica e hidrolizadas por la enzima lipoproteín lipasa (factor de aclaramiento plasmático) presente en las paredes de los capilares del tejido adiposo. Los triacilgliceroles son resintetizados en el tejido adiposo y se almacenan hasta que en respuesta a una reducción en el estado nutricional o al stress son hidrolizados liberándose los AGL. Este último proceso es muy rápido y se lleva a cabo gracias a la enzima lipasa sensible a las hormonas, la cual se activa vía el AMP cíclico por las hormonas glucagon y la ACTH. En las aves no hay respuesta del tejido adiposo hacia la adrenalina ni a la noradrenalina (33). Al mismo tiempo que el AMP cíclico provoca la activación de dicha enzima, inhibe a la lipoproteínlipasa de los capilares.

Los AGL proveen de una importante fuente de energía al organismo en casos de emergencia y son transportados por la albúmina plasmática hacia varios tejidos para ser oxidados en la B oxidación (52).

#### b) Mecanismos de producción del hígado graso.

Los lípidos presentes en el hígado de las aves son derivados de tres fuentes: 1) Síntesis "in situ" a partir de los carbohidratos dietéticos, 2) de los sitios de almacén de grasas y 3) grasas dietéticas. Los factores que pueden afectar el metabolismo de los lípidos provocando su excesiva acumulación en el hígado pueden ser dietéticos, fisiológicos o sustancias tóxicas. Los mecanismos por los cuales se produce un hígado graso involucran una elevada lipogénesis, un transporte reducido del hígado al tejido adiposo, una reducida tasa de depósito en los adipocitos o una oxidación disminuida (7).

Entre los factores dietéticos, las deficiencias nutricionales específicas más importantes que pueden provocar un hígado graso están las de los llamados agentes lipotrópicos: colina, inositol, metionina, ácido fólico o vitamina B<sub>12</sub>.

Ya que la síntesis de los ácidos grasos está relacionada con la glucólisis, puede esperarse que una dieta rica en carbohidratos sea la causa de un marcado incremento en el contenido de grasa hepática, lo cual ha sido demostrado experimentalmente en aves (26,60). La tasa de lipogénesis está influenciada por el ingreso de grasa dietética, pero en dirección opuesta, ya que éstas deprimen la tasa de síntesis de los ácidos grasos (2,35,48,49,59). Esto se ha relacionado a una reducción en las actividades específicas de dos enzimas lipogénicas, la citrato liasa y la enzima "páli-ca", y puede deberse también a un incremento en los niveles de los derivados acil CoA de cadena larga, los cuales están relacionados con el control de la vía al regular la actividad de la Acetil CoA carboxilasa y al sistema translocador del citrato (Fig. 1). Una reducción en los niveles de estos derivados Acil CoA puede ser, al menos en parte, responsable del incremento en la lipogénesis hepática que se presenta en las dietas deficientes en los ácidos grasos linoléico y araquidónico (12,25). También se han observado fallas en la síntesis de la lipoproteínas en la deficiencia de estos ácidos grasos esenciales (14).

La remoción de lípidos del hígado, en forma de lipoproteínas, depende de la disponibilidad de las moléculas de proteína y de los componentes fosfolípidos, los cuales son esenciales para el ensamble completo de las lipoproteínas. Es por esto que si el contenido proteico de la dieta no su-ple las cantidades adecuadas de los aminoácidos requeridos para la síntesis de las apolipoproteínas se presenta una acumulación de los lípidos hepáticos (13,36).

Cuando las lipoproteínas llegan al tejido adiposo, la transferencia de los lípidos hacia el adipocito está regu-

lada por la actividad de la lipoproteín lipasa de los capilares. Si esta enzima es inhibida, el animal estará hiperlipémico y puede desarrollarse un hígado graso. El stress produce una situación en la cual puede presentarse esto, ya que la acción del glucagon y la ACTH estimulan la producción del AMP cíclico, que inhibe a la lipoproteín lipasa y estimula a la lipasa sensible a las hormonas de los adipocitos (7).

Otro disturbio metabólico que puede causar la acumulación de las grasas en el hígado es una reducción en la tasa del catabolismo lipídico. Además de la  $\beta$  oxidación, para la oxidación completa de los ácidos grasos, se requiere del ciclo del ácido cítrico y la cadena respiratoria, los cuales pueden afectarse por varias causas, por ejemplo, deficiencias vitamínicas y de elementos traza que sirven como cofactores en los sistemas enzimáticos. La producción del hígado graso en las deficiencias de riboflavina (56) y fierro (1) se explican de esta forma.

#### c) Formación del hígado graso en el SHGH.

La suplementación en la dieta con agentes lipotrópicos como son el inositol, vitamina  $B_{12}$ , lecitina (61), metionina (57), ácido fólico y biotina (54), riboflavina, piridoxina, pantotenato de calcio y/o vitamina E (54) y biotina (57), no ha demostrado tener efectos protectores o correctores de esta enfermedad, lo cual demuestra que la deficiencia de tales sustancias no es la causa de la acumulación de lípidos hepáticos.

Al alcanzar las gallinas la madurez sexual se presenta un gran cambio en su metabolismo, especialmente en el de los lípidos, como resultado de la acción de los estrógenos secretados por los folículos ováricos en crecimiento. La concentración de los lípidos plasmáticos cambia de los niveles de 200-500  $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$  en las hebras inmaduras hasta 1500-3000  $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$  en las gallinas en producción (22). El hígado se incrementa en tamaño y su contenido lipídico es más del doble que en las aves inmaduras, llegando a representar normal-

mente hasta el 50% del peso seco de éste órgano (26). Cualquier alteración en la fisiología hepática puede tener como resultado el desarrollo de un hígado graso, ya que existe una acelerada lipogénesis necesaria para llenar los requerimientos de lipoproteínas utilizadas para la formación de la yema. La yema de un huevo de 60 g contiene aproximadamente 6 g de lípidos (15) y el 20% del peso de una yema son triacilgliceroles (3).

El elevado nivel de estrógenos plasmáticos detectados en gallinas que consumen una dieta inductora de SHGH sugiere que la alteración en el metabolismo de los estrógenos puede ser un factor primario en esta enfermedad. La inyección de estrógenos en forma experimental, tanto en machos como en hembras inmaduras, ha demostrado un marcado incremento en la concentración de lípidos hepáticos y hemorragias similares a aquellos encontrados en el SHGH (50,51). Jensen (27) propone que el SHGH es causado por una deficiencia nutricional que altera el metabolismo de los estrógenos, lo cual provoca su acumulación en plasma y esto incrementa el metabolismo de los lípidos resultando en una excesiva acumulación de grasa hepática y subsiguientes hemorragias.

La naturaleza de la deficiencia nutricional en las dietas a base de maíz y pasta de soya que provoque un metabolismo anormal de los lípidos no se conoce todavía, pero al parecer es un complejo de nutrientes, del cual forman parte el selenio y la vitamina E (41). Cuando se sustituye en estas dietas el maíz por trigo, se disminuye notablemente la cantidad de grasa hepática (38). El maíz y el trigo difieren en el contenido y digestibilidad de polisacáridos no almidones y elementos traza (5), habiéndose más pentosanas y elementos como el manganeso (44) y selenio (55) en el trigo. Por otra parte, ni la adición de selenio a las dietas ni la sustitución de la pasta de soya por levadura (*torula*) han reducido significativamente el contenido de grasa hepática, pero cuando se combinan el selenio y la *torula* disminuyen notablemente los lípidos hepáticos y las hemorragias. La actividad de la glutatión peroxidasa plasmática, la cual -

contiene selenio en su estructura (6), so incrementa al adiconar el selenio.

Otros experimentos han mostrado que la sustitución de la pasta de soya por levadura de cerveza también reduce la acumulación de grasas hepáticas sin tener que adiconar selenio (41). La levadura de cerveza es una buena fuente de selenio y la torula es pobre. La adición de vitamina E también redujo la concentración de lípidos plasmáticos cuando se suministró en combinación con la torula. Es por esto que se propone que el SHGH se previene por la combinación de selenio y/o vitamina E con un factor nutricional no identificado presente en la levadura y algunos otros alimentos. No existe información disponible sobre la identidad de este compuesto (27), pero se está estudiando sobre la biopotencia del selenio en la dietas inductoras del SHGH (38).

No se conoce el mecanismo por el cual selenio y/o la vitamina E y el factor nutricional no identificado funcionan para prevenir el metabolismo anormal de los lípidos y las hemorragias asociadas. Una hipótesis es que el complejo de nutrientes es necesario para el funcionamiento normal del sistema citocromo p450 hidroxilante microsomal en el hígado para un óptimo metabolismo de las hormonas esteroideas y otras sustancias. Algunos estudios han sugerido un papel para el selenio en este sistema microsomal (10,24). Una deficiencia del complejo nutricional (Se + factor no identificado) puede resultar en una inadecuada inactivación de los estrógenos, lo cual provocaría un incremento en la tasa de lipogénesis hepática.

#### SIGNOS CLINICOS.

Es muy difícil distinguir en una parvada afectada de SHGH a las gallinas enfermas, ya que aparentemente están en buena condición. No obstante, su peso es más elevado que el normal para su edad y fase de producción. Cuando se presentan hemorragias agudas en el hígado, la cresta estará fría al tacto y cianótica (9). Se ha reportado que la pro-

ducción de huevo puede disminuir rápidamente en un tiempo corto (8,9,43) o mantenerse sin cambio aún en parvadas seriamente afectadas (9,21,27,53). La mortalidad puede incrementarse del 0.5% hasta un 2-3% al mes (43), pero generalmente permanece a un nivel bajo.

A la necropsia se observa una gran acumulación de lípidos en la cavidad abdominal y entre las vísceras. El hígado está agrandado, pálido y muy frágil. Su color puede variar desde un café pálido hasta el amarillo y al corte se nota grasoso. En la superficie se observan puntos hemorrágicos. La muerte se presenta cuando, por la degeneración del tejido, hay ruptura de la cápsula hepática provocando una gran hemorragia interna (53,62).

Algunos autores sugieren que la elevación temporal de la presión sanguínea, probablemente aunada a la tensión muscular ejercida al momento de la oviposición, puede causar la ruptura hepática fatal (21,53). Esto explica en parte el que se encuentre frecuentemente a la necropsia un huevo totalmente formado en la parte distal del oviducto.

#### PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO.

La prevención de esta enfermedad radica en evitar el suministro de dietas que contengan maíz y soya como base, a menos que estén adicionadas con harina de alfalfa, levadura de cerveza, desechos de cervecerías o destilerías, harina de pescado o trigo, ya que hasta que no se aclare cual es la causa o deficiencia exacta de esta enfermedad no se puede recomendar algo más específico.

El tratamiento consiste en cambiar la dieta o suplementar selenio mas levaduras o alguno de los ingredientes mencionados como preventivos.

#### PREGUNTAS BIOQUIMICAS.

1.- Indique las vías en las cuales se producen agentes



reductores (NADPH+H<sup>+</sup>), necesarios para la síntesis de los ácidos grasos.

2.- ¿Por qué las gallinas en postura son más susceptibles a la formación del hígado graso que las aves inmaduras?

3.- Explique el mecanismo por el cual las hormonas glucagon y ACTH provocan una elevación en la concentración de los AGL plasmáticos.

4.- ¿Cuál es el mecanismo de acción de los estrógenos sobre el metabolismo de los lípidos?

5.- ¿Cuál es la acción bioquímica de la enzima glutatión peroxidasa?

6.- ¿Cuál es la causa de la muerte en el SHGH?

#### BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Amine, E.K. and D.M. Hegsted. (1971). Iron deficiency lipaemia in the rat and chick. Jour. of Nutrition 101:1575-1582.
- 2.- Balnave, D. and J. Pearce. (1969) Adaptation of the laying hen (*Gallus domesticus*) to dietary fat with special reference to changes in liver and ovarian lipid content and liver enzyme activity. Comp. Biochem. Physiol. 29:539-550.
- 3.- Bensaadoun, A. and I.P. Kompiang. (1979) Role of lipoprotein lipase in plasma triglyceride removal. Fed. Proc. 38:2622-2626.
- 4.- Bensaadoun, A. and A. Rothfeld. (1972) The form of absorption of lipids in the chicken, *Gallus domesticus*. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 141:814-817.
- 5.- Bolton, W. (1955) The digestibility of the carbohydrate complex of barley, wheat and maize by adult fowls. J. Agr. Sci. (Camb) 46:119-122.
- 6.- Burk, R.F., A.M. Mackinnon and F.R. Simon. (1974) Selenium and hepatic microsomal hemoproteins. Biochem. Biophys. Res. Commun. 58:431-436.
- 7.- Butler, E.J. (1976) Fatty liver diseases in the domestic fowl. A review. Avian Path. 5:1-14.
- 8.- Couch, J.R. (1956) Fatty livers in laying hens - a condition which may occur as a result of increased strain. Feedstuffs 28:46-53.
- 9.- Couch, J.R. (1968) Fatty liver syndrome - a summary of papers presented before the 1968 Texas Nutrition Conference. Feedstuffs 40(49):48-51.
- 10.- Caygilli, C.P.J., A.T. Diplock and E.H. Jeffery. (1973) Studies on selenium incorporation into and electron-transfer function of liver microsomal fractions from normal and vitamin E defi-

- cient rats given phenobarbitone. *Biochem. J.* 136:851-858.
- 11.-- Donaldson, W.E., N.S. Mueller and J.V. Mason. (1971) Intracellular localisation of fatty acid synthesis in chick embryo liver and stimulation of synthesis by exogenous glucose. *Biochim. Biophys. Acta* 248:34-40.
  - 12.-- Edwards, H.M. (1967) Studies of essential fatty acids deficiency of the growing domestic cock. *Poultry Sci.* 46:1128-1133.
  - 13.-- Flores, H., W. Sierralta and F. Monckeborg. (1970) Triglyceride transport in protein-depleted rats. *Jour. of Nutr.* 100:375-379.
  - 14.-- Fukazawa, T. and O.S. Privott. (1972) Biosynthesis of protein related to accumulation of fat in the liver of EFA deficient rats. *Lipids* 7:387-393.
  - 15.-- Garlich, J.D. (1979) Regulation of lipid metabolism in avian species. *Fed. Proc.* 38:2618.
  - 16.-- Goodridge, A.G. (1968a) Citrate cleavage enzyme, "malic" enzyme and certain dehydrogenases in embryonic and growing chicks. *Biochem. J.* 108:663-666.
  - 17.-- Goodridge, A.G. (1968b) The effect of starvation followed by feeding on enzyme activity and the metabolism of glucose in liver from growing chicks. *Biochem. J.* 108:667-675.
  - 18.-- Goodridge, A.G. (1968c) Conversion of (U14-C) glucose into carbon dioxide, glycogen, cholesterol and fatty acids in liver slices from embryonic and growing chicks. *Biochem. J.* 108:655-661.
  - 19.-- Goodridge, A.G. (1972) Regulation of the activity of acetyl coenzyme A carboxylase by palmitoyl coenzyme A and citrate. *J. Biol. Chem.* 247:6946-6952.
  - 20.-- Goodridge, A.G. (1973) Regulation of fatty acid synthesis in isolated hepatocytes. Evidence for a physiological role for long-chain fatty acyl coenzyme A and citrate. *J. Biol. Chem.* 248:4318-4326.
  - 21.-- Hall, S.A. (1974) A hepatitis of laying fowls characterised by an apparent lysis of reticulin and massive haemorrhage. *Vet. Rec.* 94:42.
  - 22.-- Hawkins, R.A. and P.J. Heald. (1966) Lipid metabolism and the laying hen IV. The synthesis of triglycerides by slices of avian liver in vitro. *Biochim. Biophys. Acta* 116:41-55.
  - 23.-- Hearn, V. and A. Bennadoun. (1975) Plasma lipoproteins of the chicken, *Gallus domesticus*. *Int. J. Biochem.* 6:295-301.
  - 24.-- Hoeckstra, W.G. (1975) Biochemical function of selenium and its relation to vitamin E. *Fed. Proc.* 34:2083-2089.
  - 25.-- Hopkins, D.T. and M.C. Nesheim. (1967) The linoleic acid requirement of chicks. *Poultry Sci.* 46:872-881.
  - 26.-- Ivy, C.A. and M.C. Nesheim. (1971) Factors influencing the liver fat content of laying hens. *Poultry Sci.* 52:281-291.
  - 27.-- Jensen, L.S. (1979) Control of liver lipid accumulation in laying birds. *Fed. Proc.* 38:2631-2634.
  - 28.-- Jensen, L.S., C.H. Chang and R.D. Wyatt. (1976) Influence of carbohydrate source on liver fat accumulation in laying hens. *Poultry Sci.* 55:700-709.
  - 29.-- Jensen, L.S., L. Falen and C.H. Chang. (1974) Effect of distillers dried grains with solubles on reproduction and liver fat accumulation in laying hens. *Poultry Sci.* 53:586-592.
  - 30.-- Johnson, A.R., J.A. Pearson, A.G. Fogarty, F.C. Shonston and A.M. Bernstein. (1969) Fatty acid desaturase systems of non-avian origin and their inhibition by cyclopropene fatty acid. *Lipids* 4:265-269.

- 31.- Kim, S.M., M.B. Patel, S.J. Reddy and J. McGinnis. (1976) - Effects of different cereal grains in diets for laying hens on production parameters and liver fat content. *Poult. Sci.* 55:520.
- 32.- Lane, M.D., J. Edwards, E. Stoll and J. Moss. (1970) Tricarboxylic acid activator-induced changes at the active site of acetyl CoA carboxylase. *Vitamins and Hormones* 28:345-363.
- 33.- Langslow, D.R. and C.N. Hales. (1971) The role of endocrine pancreas and catecholamines in the control of carbohydrate and lipid metabolism, in *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*. Edited by D.J. Bell and B.M. Freeman. Academic Press. London-New York.
- 34.- Leo, K., C.J. Flogel and J.H. Wolford. (1975) Factors affecting liver fat accumulation and liver haemorrhages associated with fatty liver haemorrhagic syndrome in laying chickens. *Poult. Sci.* 54:374.
- 35.- Leveille, G.A., D.R. Romsos, Y.Y. Yeh and E.K. O'Hea. (1975) Lipid biosynthesis in the chick. A consideration of the site of synthesis, influence of diet and possible regulatory mechanisms. *Poultry Sci.* 54:1075-1093.
- 36.- Marion, J.E. and H.M. Edwards. (1962) Observations on the influence of diet and age upon liver lipid changes in the chick. *Jour. of Nutr.* 77:23-27.
- 37.- Maurice, D.V. and L. Jensen. (1978) Effect of dietary cereal on liver and plasma lipids in laying Japanese quail. *Brit. - Poult. Sci.* 19:199-205.
- 38.- Maurice, D.V. and L.S. Jensen. (1979) hepatic lipid metabolism in domestic fowl as influenced by dietary cereal. *J. Nutr.* - 109:872-882.
- 39.- Maurice, D.V. and L.S. Jensen. (1978) Influence of diet composition on hepatic lipid accumulation and haemorrhages in caged layers. *Poult. Sci.* 57:989-997.
- 40.- Maurice, D.V. and L.S. Jensen. (1978) Liver lipid deposition in caged layers as influenced by fermentation by-products and level of dietary fat. *Poult. Sci.* 57:1690-1695.
- 41.- Maurice, D.V. and L.S. Jensen. (1979) Reduction of hepatic lipid deposition in laying hens by dietary selenium-yeast interaction. *Poultry Sci.* 58(6):1548-1556.
- 42.- Maurice, D.V. and L.S. Jensen. (1979) Comparison of fish meal and soybean meal in the prevention of fatty liver hemorrhagic syndrome in caged layers. *Poult. Sci.* 58:864-870.
- 43.- Meijering, A. (1979) Fatty liver syndrome in laying hens: An attempt to review. *World's Poultry Sci. Jour.* 35(2):79-94.
- 44.- National Research Council. (1977) *Nutrient Requirements of Poultry*. 4th ed. National Academy of Sciences. Washington, D.C.
- 45.- Nesheim, M.C. and C.A. Ivy. (1970) Factors influencing liver fat deposition in laying hens. *Proc. Cornell Nutr. Conf.* p43.
- 46.- Noyan, A., W.J. Lossow, N. Brot and I.L. Chaikoff. (1964) Pathway and form of absorption of palmitic acid in the chicken. *Jour. of Lipid Res.* 5:538-541.
- 47.- O'hea, E.K. and G.A. Leveille. (1969) Lipid biosynthesis and transport in the domestic chick (*Gallus domesticus*). *Comp. - Biochem. Physiol.* 30:149-159.
- 48.- Pearce, J. (1968) The effect of dietary fat on lipogenic enzymes in the liver of the domestic fowl. *Biochem. Jour.* 109:702-704.
- 49.- Pearce, J. (1971) An investigation of the effects of dietary lipid on hepatic lipogenesis in the growing chick. *Comp. Biochem. Physiol.* 70B:215-221.

- 50.- Pearson, A.W. and E.J. Butler. (1978) The oestrogenized chick as an experimental model for Fatty Liver Hemorrhagic Syndrome in the fowl. Res. Vet. Sci. 24:82-86.
- 51.- Polin, D. and J.H. Wolford. (1977) Role of estrogen as a cause of fatty liver hemorrhagic syndrome. J. Nutr. 107:873-886.
- 52.- Pugh, E. and J.B. Sidbury. (1971) Fatty acid oxidation in embryonic chick tissues. Biochim. Biophys. Acta 239:376-383.
- 53.- Rothenbacher, H. and L.D. Schwartz. (1972) Obesity and hepatic rupture in caged laying chickens - Environmental problem. Am. Jour. Vet. Res. 33:415.
- 54.- Schexnailder, R. and M. Griffith. (1973) Liver fat and egg - production of laying hens as influenced by choline and other nutrients. Poult. Sci. 52:1188.
- 55.- Scott, M.L. (1976) Selenium and vitamin E in poultry rations. In Feed Energy Sources for Livestock. Edited by R. Swan and D. Lewis. Butterworths, New York and London.
- 56.- Scott, M.L. and L. Krook. (1972) In Diseases of Poultry, Edited by M.S. Horstend, B.W. Calnek, C.F. Harbrood, W.M. Reid and R.W. Yoder. 6th. ed. p50. Iowa State University Press, Ames.
- 57.- Sutton, J.B., M.W. Pasvogel, A.R. Kemmerer and M.G. Vavich. (1977) The influence of choline and methionine on the deposition of fat in the liver of the mature laying hen (abstr). Poult. Sci. 36:1161.
- 58.- Wagner, M.S., J.L. Kelley, E.C. Nelson, P. Alaupovic and R.H. Meyer. (1978) Lipid metabolism in laying hens: The relationship of plasma lipids and liver fatty acid synthetase activity to changes in liver composition. Poult. Sci. 57:959-967.
- 59.- Weiss, J.F., E.C. Naber and R.M. Johnson. (1967) Effect of dietary fat and cholesterol on the in vitro incorporation of acetate-14C into hen liver and ovarian lipids. J. Nutr. 93: 142-152.
- 60.- Wolford, J.H. and D. Polin. (1974) Induced fatty liver-hemorrhagic syndrome (FLHS) and accumulation of hepatic lipid in force-feed laying chickens. Poult. Sci. 53:69-74.
- 61.- Wolford, J.H. and D. Polin. (1975) Effect of inositol, lecithin vitamins (B12 with choline and E) and iodinated casein on induced fatty liver hemorrhagic syndrome in laying chickens. Poult. Sci. 54:981-991.
- 62.- Wolford, J.H., B.K. Ringer, C.C. Sheppard, T.L. Barton and C.J. Fiegal. (1971) Fatty liver syndrome - A photographic description. Feedstuffs 43(4):28.
- 63.- Yun, S.L. and R.Y. Hsu. (1972) Fatty acid synthetase of chicken liver. Reversible dissociation into two nonidentical subcomplexes of similar size. J. Biol. Chem. 247:2689-2698.

## GOTA EN AVES

### INTRODUCCION.

El consumo normal de proteínas en los animales provee de una cantidad de aminoácidos que excede los requerimientos para la síntesis de nuevas proteínas y mantener el recambio proteico. Para poder oxidar los esqueletos de carbono de estos aminoácidos debe ser removido el grupo  $\alpha$  amino, el cual se libera en forma de amoniaco. Debido a que el amoniaco es tóxico para los tejidos animales debe ser eliminado rapidamente o convertido a sustancias no tóxicas. Los tres productos finales del catabolismo del nitrógeno en los animales son: amoniaco, generalmente en forma de ión amonio, urea y ácido úrico. Dependiendo del compuesto que predomina en sus excreciones, los animales pueden clasificarse en los siguientes grupos: amoniotélicos, ureotélicos y uricotélicos. Como los tres productos, amoniaco, urea y ácido úrico, están presentes normalmente en las excretas animales, el criterio de clasificación se basa en el producto que representa el 50% o más del total del nitrógeno excretado (5).

La forma de excreción del nitrógeno en las diferentes especies animales está relacionada con el medio ambiente en el cual se han desarrollado, y así encontramos que las especies acuáticas generalmente son amoniotélicas, mientras que las especies terrestres son ureotélicas o uricotélicas. La base para esta correlación es la disponibilidad del agua. Los organismos acuáticos, especialmente aquellos que viven en agua dulce, tienen acceso a grandes cantidades de este elemento y eliminan el amoniaco directamente al medio en forma de ión amonio. Por otra parte, los animales terrestres tienen un aporte de agua más restringido y para prevenir la acumulación del amoniaco en sus tejidos y líquidos orgánicos deben convertirlo en productos no tóxicos tales como la urea o el ácido úrico.

Estudios comparativos en relación a la retención de agua

en los animales, especialmente en las gallinas, han demostrado que no existe ninguna ventaja del uricotelismo sobre el ureotelismo en los animales adultos (35). El significado biológico del uricotelismo en la evolución de las aves, y demás especies uricotélicas, se centra en el desarrollo embrionario (19). El amoniaco puede ser el producto final del catabolismo del nitrógeno en las especies acuáticas debido al libre intercambio entre el medio ambiente y el embrión a través de las membranas del huevo. Cuando el intercambio entre el embrión y el medio ambiente es mediado por la circulación materna, como ocurre en las especies ovovivíparas y vivíparas, el amoniaco es convertido a urea para su eliminación. El desarrollo dentro de un huevo cleidoico, o sea aquel que es relativamente impermeable al medio ambiente excepto para el intercambio gaseoso, requiere de la conversión del amoniaco a ácido úrico ya que retienen sus excreciones en el alantoides (5). Los uratos son almacenados no en forma acuosa o como gel coloidal, sino como cristales anhidros, permitiéndose de esta manera la reabsorción del agua de transporte y de los iones de sodio (17).

No obstante la extrema solubilidad de la urea, ésta no podría reemplazar al ácido úrico como forma de excreción del nitrógeno en los huevos cleidoicos, ya que existirían algunos mililitros de agua en el alantoides y como el balance hídrico en los huevos en incubación es muy precario, ésta pérdida extra de agua comprometería la viabilidad del embrión (35).

El manejo del nitrógeno en forma de ácido úrico predispone a las aves, bajo ciertas condiciones, a sufrir de una enfermedad denominada "gota", la cual se caracteriza por la formación de depósitos de uratos en varios órganos. La causa de esta enfermedad no está bien establecida (9,13, 20). Se presenta frecuentemente en pollitos de un día de edad como consecuencia de un nacimiento retardado por defectos en la incubación. Estos animales al parecer, no -

pueden eliminar todo el ácido úrico formado a partir de las proteínas del saco vitelino por no poder beber agua a tiempo (2). El calor excesivo durante el transporte o al comienzo de la crianza, aunada a una falla en el aprovisionamiento del agua (bebederos altos, mal funcionamiento de los bebederos automáticos, etc) también pueden provocar la gota en los pollitos (9).

Esta enfermedad afecta a todas las aves domésticas y puede presentarse en las aves adultas en dos formas: gota visceral y gota articular (9,20,25).

### CAMBIOS BIOQUIMICOS.

#### a) Producción del amoniaco.

Los grupos amino de muchos aminoácidos pueden ser transferidos a algún aceptor (un cetoácido) para producir otro aminoácido sin producción de amoniaco libre (transaminación) o pueden ser removidos como amoniaco libre (desaminación). De esta forma, la célula puede ejercer un control sobre las cantidades relativas de cada aminoácido presente y así mantener un adecuado patrón de aminoácidos para la síntesis de proteínas y otros procesos metabólicos. Las células animales contienen una gran variedad de enzimas capaces de catalizar la transferencia del grupo amino, llamadas transaminasas o aminotransferasas. Este proceso es importante no solo para el cambio de las proporciones relativas de los aminoácidos, sino también en la remoción del nitrógeno corporal (transdesaminación). La desaminación puede ocurrir en forma oxidativa o no oxidativa. Existen enzimas con una relativa baja especificidad de sustrato que pueden catalizar la desaminación oxidativa produciendo amoniaco a partir de una amplia gama de aminoácidos. El amoniaco desprendido puede volverse a fijar pero ahora en una forma más adecuada para el almacenaje temporal, translocación o eliminación. En las células animales hay un caso especial de desaminación oxidativa en la cual participa una enzima muy específica, la L-glutamato deshidrogenasa, que



cataliza la remoción del grupo  $\alpha$  amino del L-ácido glutámico. Es por esta razón que los grupos amino de una gran variedad de aminoácidos deben ser transferidos al ácido  $\alpha$  cetoglutarico por transaminación para producir ácido glutámico, el cual entonces es desaminado. Este último proceso constituye una importante vía para la eliminación del nitrógeno y se denomina transdesaminación. En el caso de los hidroxiaminoácidos serina y treonina, la desaminación oxidativa se lleva a cabo por enzimas específicas denominadas deshidrasas (3).

De las transaminasas animales, la más frecuentemente estudiada es la aspartato transaminasa (transaminasa glutámico-oxalacética), la cual cataliza la reacción



como todas las transaminasas conocidas, requiere de fosfato de piridoxal como cofactor. La actividad de esta enzima está totalmente restringida a la fracción soluble de ultracentrifugados de células hepáticas aviares (24). Esto contrasta con lo reportado para el hígado de los mamíferos, en donde existen dos isozimas, una en la fracción soluble y otra intramitocondrial (39).

Otras transaminasas de tejidos aviares no han sido estudiadas con tanto detalle y la información disponible es la siguiente: Se ha encontrado actividad de la alaninamino-transferasa en pollos (42), tirosina transaminasa en embrión de pollo (6) esta enzima utiliza al  $\alpha$ -cetogluturato como aceptor del grupo amino (7,15), leucina transaminasa (31) y fosfoserina transaminasa (40), enzima importante en la biosíntesis de la serina y que utiliza también al  $\alpha$ -cetogluturato como aceptor de grupos amino.

En casi todas las transaminaciones se forma glutamato y es por esto que la reacción de la glutamato deshidrogenasa es muy importante. La reacción que cataliza esta enzima es reversible y tiende a la formación del glutamato en el e-

equilibrio (12), pero en las condiciones intracelulares esta enzima funciona basicamente en la desaminación oxidativa del glutamato, debido a su asociación con otras reacciones enzimáticas (5).

La interrelación entre las actividades de las transaminasas, glutamato deshidrogenasa y las enzimas que inician la síntesis del ácido úrico es crítica en el control de la dirección del metabolismo del nitrógeno. Para la eficiente eliminación del nitrógeno vía transedaminación se requiere una elevada actividad de todas estas enzimas. Una elevada actividad de las transaminasas en ausencia de una elevada actividad de la deshidrogenasa glutámica y/o actividad de las enzimas de la síntesis del ácido úrico provoca la conservación de grupos amino y anabolismo proteico. Tal cambio en la dirección del metabolismo del nitrógeno sucede al momento del nacimiento de las aves (30).

No existe suficiente información acerca del control alostérico de la glutamato deshidrogenasa en las especies uricóticas y como es diferente el manejo del nitrógeno en los ureotéticos, no puede pensarse que sean semejantes (3).

#### b) Síntesis del ácido úrico.

El principal producto de excreción del nitrógeno en las aves es el ácido úrico. La vía para la biosíntesis del anillo purínico se estudió en preparaciones de hígado de paloma (4). Los nitrógenos de posición 3 y 9 son obtenidos a partir del nitrógeno amídico de la glutamina y los de posición 1 y 7 del nitrógeno amínico del aspartato y la glicina respectivamente (Fig. 1). El aspartato puede originarse a partir del oxalacetato por transaminación y la glicina, si no es aportada por la dieta en suficiente cantidad, puede ser sintetizada a partir de la serina (11). La glutamina es sintetizada a partir del ácido glutámico y el amoniaco producido en las desaminaciones de los aminoácidos, siendo éste el nitrógeno que aparece en el ácido úrico. La glutamina actúa como "carreador" del amoniaco para la síntesis de las purinas y además previene la acumulación del amonia-

co (18).

La síntesis de la glutamina se realiza de la siguiente forma:



Esta reacción es catalizada por la enzima glutamina sintetasa, y aunque es reversible, la hidrólisis de la glutamina es efectuada por la glutaminasa (3).

La glutamina sintetasa es una enzima ampliamente distribuida en los tejidos (33), se ha detectado su actividad en el cerebro, hígado, corazón y páncreas de las aves, pero no en riñón, bazo, músculo esquelético, intestino o sangre. Esta distribución difiere a la de los mamíferos en los cuales la actividad en hígado es baja, no existe en corazón ni en páncreas pero si está presente en los riñones (3).

La fracción soluble de ultracentrifugados de hígados de aves es capaz de incorporar todos los precursores del anillo purínico (32), indicando que la síntesis del ácido úrico ocurre principalmente en el citoplasma, pero recientemente se ha descubierto que en las aves y demás organismos uricotélicos la glutamina sintetasa es una enzima mitocondrial (38). Esto contrasta con la localización citoplásmica en células hepáticas de los mamíferos (11). La localización mitocondrial de la glutamina sintetasa en aves sugiere que la función de esta enzima en las especies uricotélicas es análoga a la de la carbanilfosfato sintetasa mitocondrial de los organismos ureotélicos.

El mecanismo de la detoxificación del amoníaco vía síntesis del ácido úrico (Fig. 1) es similar en algunos aspectos a la síntesis de la urea en los animales ureotélicos: El amoníaco generado intramitocondrialmente por acción de la glutámico deshidrogenasa sale de la mitocondria en forma de nitrógeno amido de la glutamina, como sale en forma de nitrógeno ureido de la citrulina en la síntesis de la urea. En ambos mecanismos, el glutamato es el compuesto

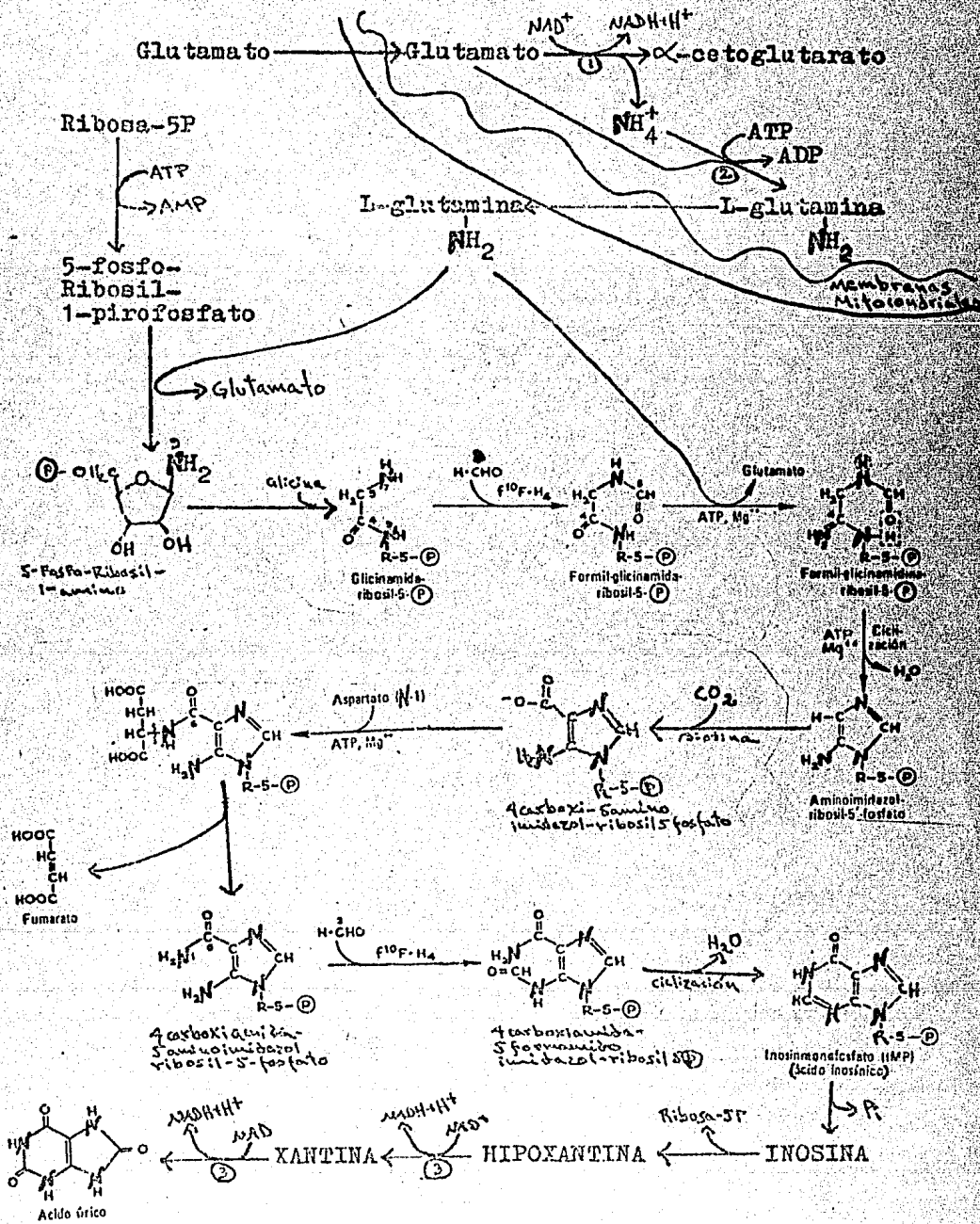


Fig. 1.- Detoxificación del amoníaco por formación del ácido úrico. 1) Glutamato deshidrogenasa, 2) Glutamina sintetasa, 3) Xantina deshidrogenasa. Tomado de Boorman (3) y Campbell (5).

clave que provee de un esqueleto carbonado al amoniaco. También en los dos mecanismos el  $\alpha$ -amino del aspartato es adicionado en el citoplasma.

En la síntesis del ácido úrico, la formación del ácido inosínico (IMP) representa la aparición del anillo purínico. El IMP es convertido al nucleósido de inosina por acción de la enzima 5'nucleotidasa, después la inosina es convertida a hipoxantina por la nucleósido fosforilasa. La hipoxantina es oxidada a xantina y ésta a ácido úrico, catalizando éstas reacciones la enzima xantina oxidasa. Existen dos formas de esta enzima, la oxidasa que utiliza al oxígeno como aceptor de electrones y la deshidrogenasa que utiliza como aceptor al NAD.

En el hígado de mamíferos, las dos formas de esta enzima pueden interconvertirse (8,34), mientras que en el hígado y riñones de las aves predomina la deshidrogenasa (14, 21,22,23,26). La formación del ácido úrico en las palomas es extrahepática ya que no tienen xantina deshidrogenasa en el hígado (23).

Las dietas elevadas en proteínas provocan un incremento en la actividad de la xantina deshidrogenasa hepática en pollos (27).

La ausencia del ciclo de la ornitina, también denominado vía de la arginina-urea, en las aves, determina que la arginina sea un aminoácido indispensable (esencial) para ellas (36,37).

c) Excreción del ácido úrico. Tomado de Sykes (35).

En las aves, la eliminación del ácido úrico plasmático se lleva a cabo por filtración y principalmente por secreción tubular renal.

El ácido úrico es potencialmente trivalente, pero al pH fisiológico se forma una sal monobásica y la proporción de urato (asumiendo como urato monosódico) a ácido úrico li-

bre, determinada por la ecuación de Henderson-Hasselbach con un pK de 5.64, señala que más del 98% del total del ácido está en forma de uratos.

Las sales del ácido úrico son más solubles que el mismo ácido, pero los excesos de electrolitos, normalmente sodio o potasio, deprimen dicha solubilidad debido a un efecto iónico común. Esta solubilidad también se ve disminuida al acidificarse el medio o al disminuir la temperatura. No obstante, el ácido úrico y los uratos tienen la capacidad de formar soluciones coloidales a concentraciones mayores al 2% y es esta propiedad la que permite su transporte a través de los túbulos y ductos colectores sin que se formen precipitados. Esta capacidad para formar soles puede demostrarse en soluciones de urato de litio, una de las sales más solubles, al adicionarles electrolitos tales como KCl, NaCl ó  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . La solución se vuelve viscosa conforme procede la formación del sol, pero si se agregan en exceso se presenta la precipitación.

La formación de soles es un fenómeno que cabe esperarse en las aves, ya que la concentración de uratos es muy elevada en su orina. La composición de la orina no es constante ya que en defensa de la homeostasis, las concentraciones de los iones hidrógeno, amoníaco y electrolitos varían considerablemente y son éstos los factores más relacionados con la precipitación de uratos en los conductos urinarios. Al parecer, la estabilidad de los soles de uratos bajo condiciones en las cuales podría presentarse la precipitación es debida en cierta forma a la acción protectora de otros coloides urinarios, probablemente proteínas y glucoproteínas.

d) Depósitos de uratos en las aves.

Como ya se explicó, los uratos son el vehículo por el cual las aves excretan el N amínico y la cantidad producida puede variar dependiendo de la dieta y los requerimientos corporales de aminoácidos. No obstante, los niveles -

plasmáticos de uratos normalmente permanecen entre límites bastante estrechos, de 5-8 mg/100 ml (29), debido a que sus riñones relativamente grandes y su circulación portal renal poseen un considerable poder para excretar uratos - hacia la orina tubular (16).

Después de una alimentación rica en proteínas se eleva el nivel de uratos plasmáticos temporalmente, mientras que en el ayuno estos niveles son bajos. Las aves en postura muestran niveles bajos de uratos plasmáticos aún cuando sean alimentadas con dietas ricas en proteínas (1).

Existen dos condiciones que afectan a las aves domésticas en las cuales se involucra la deposición de uratos monosódicos en diversos tejidos. La primera de ellas es la denominada gota articular (25,29) que se caracteriza por una acumulación masiva de uratos (tofus) en la sinovia de las articulaciones, principalmente en las extremidades inferiores. Al igual que en la gota humana, al parecer existe cierta tendencia hereditaria en esta afección. El nivel de uratos plasmáticos puede elevarse hasta 40 mg/100 ml. La causa exacta de esta enfermedad no se conoce (1).

La segunda afección es conocida como gota visceral, en la cual las vísceras y fascias asociadas se observan cubiertas de depósitos de uratos monosódicos que semejan un polvo blanco. Esta enfermedad es considerada secundaria a daños renales y generalmente se encuentran masas yesosas de uratos en estos órganos y en los ureteres (28).

Durante la deficiencia de vitamina A se elevan mucho los niveles plasmáticos de uratos y se observan depósitos de ellos en el corazón, pericardio, hígado y bazo. En esta deficiencia vitamínica no está alterado el metabolismo del ácido úrico sino que se dañan los riñones evitándose la excreción normal del ácido úrico (10).

La gota observada en ocasiones consecutivamente a dietas ricas en proteínas se presenta porque existen lesiones re-



nales en forma simultánea. Las causas de estas lesiones, además de la deficiencia de vitamina A, pueden ser elevados niveles de sal en el alimento, tóxicos químicos o vegetales (13).

La formación de depósitos de uratos puede presentarse en cualquier afección en la cual existan deshidratación y acidosis, ya que estos dos factores ayudan a la precipitación.

**SIGNOS CLINICOS.** Tomados de Dorn (9), Hilbrich (13) y Petrak (20).

Los signos clínicos de la gota visceral no son típicos. La enfermedad sigue un curso agudo y si afecta a pollitos solo se observan un bajo consumo de alimento, diarrea, empastamiento de la cloaca, no se alejan de la criadora y están deprimidos. En las aves adultas se observan anorexia, enflaquecimiento, las crestas se retraen y hay diarrea.

La gota articular sigue un curso crónico y provoca trastornos en la locomoción. Se inflaman las articulaciones afectadas y se observan tofos subcutáneos bajo la piel de la zona articular.

El diagnóstico de la gota visceral solo es posible hacerlo a la necropsia, donde se encuentran los depósitos de uratos en diversos órganos. Generalmente los ureteres están llenos de masas blancas yesosas. En la gota articular se observan los tofos en las zonas afectadas.

**PREVENCION Y TRATAMIENTO.** Tomados de Dorn (9).

La incubación correcta, el transporte adecuado y bien organizado, la instalación de los pollitos en locales debidamente climatizados y una alimentación balanceada que aporte los requerimientos mínimos de vitaminas, constituyen la base preventiva de esta enfermedad.

No es posible establecer un tratamiento bien definido ya que no se conoce la causa exacta de esta enfermedad. Debe procurarse que las condiciones de explotación sean óptimas. La suplementación con vitaminas, especialmente la A, en el alimento o agua puede ayudar en estos casos. Debe reducirse el contenido proteico de la dieta así como vigilar su contenido de sal.

Están totalmente contraindicadas las modernas drogas uricosúricas utilizadas en el tratamiento de la gota humana. En el hombre, estas drogas actúan bloqueando la reabsorción tubular del ácido úrico que sale en el filtrado glomerular y por esto es que se incrementa la excreción de esta sustancia con una consecuente disminución del nivel de uratos plasmáticos. En las aves ocurre exactamente lo contrario ya que el ácido úrico es secretado por los túbulos contorneados principales y éste proceso también es bloqueado por dichas drogas (29).

#### PREGUNTAS BIOQUIMICAS.

- 1.- Explique el por qué es indispensable (esencial) el aminoácido arginina en las aves.
- 2.- ¿Cuál es el significado biológico del uricotelismo?
- 3.- Explique lo que es una transdesaminación y la importancia de la glutamato deshidrogenasa en este proceso.
- 4.- ¿Cuál es el papel de la glutamina en la eliminación del nitrógeno en los organismos uricotélicos?
- 5.- ¿Por qué no se precipitan normalmente los uratos en los túbulos renales aún cuando su concentración sea elevada?
- 6.- ¿Por qué durante una acidosis y deshidratación es más probable la precipitación de uratos?

## BIBLIOGRAPHIA.

- 1.- Bell, D.J. (1971) NMP and its fractions in plasma and erythrocytes. In Physiology and Biochemistry of the domestic fowl. Edited by D.J. Bell and B.M. Freeman. Academic Press. London-New York.
- 2.- Bird, H.R., M. Rubin, D. Whitson and S.K. Haynes. (1946) Effectiveness of dietary supplements in increasing hatchability of eggs and viability of progeny of hens fed a diet containing a high level of soy-bean oil meal. Poultry Sci. 25:285.
- 3.- Boorman, K.N. and D. Lewis. (1971) Protein Metabolism. In Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl. Vol. 1. Edited by D.J. Bell and B.M. Freeman. Academic Press. London-New York.
- 4.- Buchanan, J.M., J.G. Flaks, S.G. Hartman, B. Lovenberg, L.N. Lukens and L. Warron. (1957) The enzymatic synthesis of inosinic acid *de novo*. In Chemistry and Biology of Purines. Edited by G.E.W. Wolstenholme and C.M. O'Connor. Boston, Little, Brown and Co.
- 5.- Campbell, J.W. (1973) Nitrogen excretion. In Comparative Animal Physiology. Vol. 1. Edited by C. Ladd Prosser. 3th edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, London, Toronto.
- 6.- Chan, S.K. and P.P. Cohen. (1964) A comparative study of the effect of hydrocortisone injection on tyrosine transaminase activity of different vertebrates. Archs. Biochem. Biophys. 104:335-337.
- 7.- Constantzas, N.S. and V.E. Knox. (1967) The activation of chick liver tyrosine transaminase *in vitro*. Biochim. Biophys. Acta 132:178-181.
- 8.- Della Corte, E. and F. Stirpo. (1970) The regulation of xanthine oxidase. Inhibition by reduced nicotinamide-adenine dinucleotide of rat liver xanthine oxidase type D and of chick liver xanthine dehydrogenase. Biochem. J. 117:97-100.
- 9.- Dorn, P. (1973) Manual de Patología aviar. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- 10.- Elvehjem, C.A. and V.F. Nou. (1932) Studies in vitamin A avitaminosis in the chick. J. Biol. Chem. 97:71-82.
- 11.- Featherston, W.R. (1975) Relative utilization of serine and glycine by chicks. Poultry Sci. 54:257-262.
- 12.- Frieden, C. (1963) L-glutamate dehydrogenase. In The Enzymes. 2th edition. Vol. VII. Edited by P.D. Boyer, H. Lardy and K. Myrback. Academic Press, New York.
- 13.- Hilbrich, P. (-) La Gallina. Química Hoechst de México, S.A.
- 14.- London, E.J. and G.E. Carter. (1960) The preparation, properties and inhibition of hypoxanthine dehydrogenase of avian kidney. J. Biol. Chem. 235:819-824.
- 15.- Litwack, G. and A.M. Nemeth. (1965) Development of liver tyrosine aminotransferase activity in the rabbit, guinea pig and chicken. Arch. Biochem. Biophys. 109:316-320.
- 16.- Martindale, L. (1969) The control of plasma uric acid levels in the domestic fowl. J. Physiol. London 205:221-225.
- 17.- Needham, J. (1931) Excretion of uric acid. Nature 128:152-153.
- 18.- Olson, E.M., D.C. Hill and H.D. Branion. (1963) The effect of dietary diammonium citrate on glutamine and glutamic acid concentration in the blood plasma of chicks. Poultry Sci. 42:1177-1181.

- 19.- Packard, G.C. (1966) The influence of ambient temperature and aridity on modes of reproduction and excretion in amniote vertebrates. *Amer. Naturalist* 100:667-682.
- 20.- Petrak, M.L. (1969) Diseases of cage and avian birds. Lea and Febiger. Philadelphia, U.S.A.
- 21.- Rajagopalan, K.V. and P. Handler. (1967) Purification and properties of chicken liver xanthine dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 242:4097.
- 22.- Remy, C.N., D.A. Richert, R.J. Doisy, I.C. Wells and W.W. Westerfield (1955) Purification and characterization of xanthine dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 217:293-305.
- 23.- Richert, D.A. and W.W. Westerfield. (1951) Xanthine oxidases in different species. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 76:252-254.
- 24.- Sánchez de Jiménez, E., A. Brunner and G. Soberón. (1967) - Characteristics of aspartate aminotransferase isozymes of rat and chicken livers. *Arch. Biochem. Biophys.* 120:175-185.
- 25.- Schlumberger, H.G. (1959) Synovial Gout in the parakeet. *Lab. Invest.* 8:1304-1318.
- 26.- Scholz, R.W. (1970) Comparative studies on liver and kidney xanthine dehydrogenase in two breeds of domestic chicks (*Gallus domesticus*) during prolonged starvation. *Comp. Biochem. Physiol.* 36:503-512.
- 27.- Scholz, R.W. and W.R. Featherston. (1968) Effect of alterations in protein intake on liver xanthine dehydrogenase in the chick. *J. Nutr.* 95:271-273.
- 28.- Siller, W.G. (1959) Avian nephritis and visceral gout. *Lab. Invest.* 8:1319-1326.
- 29.- Siller, W.G. (1966) Gout avian articular. In *International - Encyclopaedia of Veterinary Medicine*. Vol. 11. Edited by T. Dalling and A. Robertson. W. Green and Son Ltd. London, Eng.
- 30.- Sheid, B. and E. Hirschberg (1967) Glutamic dehydrogenase - and aspartic and alanine aminotransferase activities in chick embryo liver. *Am. J. Physiol.* 213:1173-1176.
- 31.- Shiflett, J.M. and B.E. Haskell. (1969) Effect of vitamin B<sub>6</sub> deficiency on leucine transaminase activity in chick tissue. *J. Nutr.* 98:420-426.
- 32.- Sonne, J.C., I. Lin and J.M. Buchanan. (1956) Biosynthesis of the purines: precursor of the nitrogen atoms of the purine ring. *J. Biol. Chem.* 220:369-378.
- 33.- Speck, J.W. (1949) The enzymatic synthesis of glutamine, a P<sub>i</sub> reaction utilizing adenosine triphosphate. *J. Biol. Chem.* 179:1465-1426.
- 34.- Stirpe, F. and E. Della Corte. (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase. *J. Biol. Chem.* 244:3855-3863.
- 35.- Sykes, A.H. (1971) Formation and composition of urine. In - *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*. Vol. 1. Edited by D.J. Bell and B.M. Freeman. Academic Press. London-New York.
- 36.- Tamir, H. and S. Ratnier. (1963) A study of ornithine, citrulline and arginine synthesis in growing chicks. *Arch. Biochim. Biophys.* 102:259-269.
- 37.- Tamir, H. and S. Ratnier. (1963) Enzymes of arginine metabolism in chicks. *Arch. Biochem. Biophys.* 102:249-258.
- 38.- Vorhaben, J.E. and J.W. Campbell. (1972) Glutamine synthetase:

a mitochondrial enzyme in uricotel species. J. Biol. Chem. J. Biol. Chem. 247:2763-2767.

- 39.- Wade, H. and Y. Morino. (1964) Comparative studies on glutamic-oxaloacetic transaminases from the mitochondrial and soluble fractions of mammalian tissues. In Vitamins and Hormones. Edited by R.S. Harris, I.G. Wool and J.L. Loraine. Academic Press New York.
- 40.- Walsh, D.A. and H.J. Sallach. (1966) Comparative studies on the pathways for serine biosynthesis in animal tissues. J. Biol. Chem. 271:4068-4076.
- 41.- Wu, C. (1963) Glutamine synthetase, intracellular localization in rat liver. Biochim. Biophys. Acta. 77:482-493.
- 42.- Zimmerman, H.J., C.A. Dujovne and R. Levy. (1968) The correlation of serum levels of two transaminases with tissue levels in six vertebrate species. Comp. Biochem. Physiol. 25:1081-1089.

## CETOSIS DE LOS RUMIANTES

### INTRODUCCION.

Existen marcadas diferencias en la digestión de los carbohidratos entre los animales rumiantes y los no rumiantes. En estos últimos, cuya dieta contiene almidón y azúcares simples, la digestión da lugar a glucosa y otros monosacáridos que son absorbidos hacia la sangre portal, actuando como principales fuentes de energía y glucosa para el organismo. En los rumiantes la dieta contiene, además de almidón y azúcares simples, celulosa y otros carbohidratos complejos, los cuales son fermentados por los microorganismos ruminales produciendo ácidos grasos volátiles (AGV). Los AGV mas importantes son acético, propiónico y butírico (40), los cuales se producen en una relación aproximada de 70:20:10 respectivamente en una dieta de forraje (8). Estos AGV son absorbidos por la mucosa ruminal y representan la principal fuente de energía (aproximadamente el 70%) para los rumiantes (12). A diferencia de los no rumiantes los animales rumiantes absorben muy poca glucosa en intestino, ya que casi toda la glucosa y carbohidratos simples de la dieta son degradados por las bacterias y protozoarios y utilizados como fuente de energía y esqueletos de carbono para el crecimiento de la población bacteriana, teniendo como productos a los AGV antes mencionados. Por lo anterior, la principal fuente de glucosa en los rumiantes es la gluconeogénesis (9,33,60, 80).

En situaciones en las cuales la tasa de utilización de la glucosa exceda la capacidad gluconeogénica, se presentará una hipoglucemia que posteriormente desencadenará un desarreglo en el metabolismo, especialmente en el de los lípidos, provocando se una cetosis.

Los casos más frecuentes se presentan en los animales con una mayor producción, principalmente en:

#### 1.- Bovinos (cetosis o acetonemia):

- a) En vacas con una alta producción de leche, bien alimentadas y estabuladas.
- b) Ganado en pastoreo alimentado con raciones bajas en energía.

- c) Animales que se encuentren bajo deficiencias nutricionales específicas.
- d) Como complicación de otra enfermedad o "Cetosis - secundaria".

La cetosis de las vacas bien alimentadas y con una elevada producción láctea es la más frecuente e importante. Los factores predisponentes son: a) Un excesivo consumo de ensilado, especialmente si tiene un alto contenido de ácido butírico; b) - que tengan un ejercicio inadecuado y estén muy cebadas antes - del parto; c) un inadecuado ingreso de energía al inicio de la lactación (17).

Dentro de las deficiencias nutricionales específicas se menciona al cobalto, cuya falta provoca una falla en el metabolismo del propionato (3).

La cetosis secundaria se desarrolla frecuentemente debido a una reducción del apetito, como resultado de un desplazamiento del abomaso, reticulitis traumática, metritis, mastitis u otras enfermedades comunes del periodo postparto (17).

## 2.- Ovinos y Caprinos (toxemia del embarazo):

La cetosis de los ovinos y caprinos se presenta solo en hembras gestantes, generalmente durante el último mes de embarazos múltiples, aunque puede presentarse en gestantes de un solo producto. Es una enfermedad común en sistemas de explotación intensiva y rara en sistemas extensivos. La causa precipitante es una gradual y prolongada disminución en el plano nutricional seguida de un periodo corto de ayuno (48 horas) causado generalmente por cambios en el manejo: embarque, cambio de alimento, etc. La exposición a climas extremos aumenta la incidencia. Las hembras cebadas también son afectadas (17,58).

Aunque clínicamente son diferentes y se presentan en distintas partes del ciclo gestación-lactancia, las alteraciones bioquímicas son casi idénticas y ambas enfermedades tienen rasgos en común: un balance energético negativo, hipoglucemia y bajo contenido de glucógeno hepático, un incrementado metabolismo de los lípidos y cetosis (8).



## CAMBIOS BIOQUIMICOS.

Aunque los imbalances hormonales son de central importancia para el desarrollo de la cetosis de los rumiantes, debe aclararse que solo son secundarios a la falta de ingresos alimenticios que provean suficientes sustratos para llenar las demandas de glucosa del útero gestante o de la glándula mamaria en producción (19).

### 1.- Metabolismo de los carbohidratos.

a) Requerimientos de glucosa. La glucosa tiene un importante papel en el metabolismo celular ya que las necesidades energéticas de un organismo no pueden ser satisfechas unicamente por los ácidos grasos. Deben mantenerse adecuados niveles de glucemia y glucógeno tisular. Aunque la glucemia normal en los rumiantes adultos (40-60 mg/100 ml) es menor que en los recién nacidos u otros mamíferos (80-100 mg/100 ml), no debe considerarse de menor importancia. La glucosa es esencial al menos en cinco áreas corporales: sistema nervioso central; sitios de síntesis de grasas; músculos; fetos y glándula mamaria en producción (8). La utilización por otras células, tales como los eritrocitos, es muy pequeña (39). Los requerimientos de glucosa para estos cinco sitios son variables y dependen del estado fisiológico del animal.

\* En el sistema nervioso central: Las células nerviosas, especialmente las del cerebro, dependen de un aporte regular de glucosa para su metabolismo oxidativo. La cantidad esta sujeta a variación, ya que se ha observado que en ayuno de una semana existen adaptaciones metabólicas llamadas "exclusión de glucosa", que incluye a todos los tejidos pero es más evidente en el nervioso, el cual comienza a utilizar cuerpos cetónicos y ácidos grasos (52,57, 74), para así conservar glucosa. Aunque el cerebro necesita una considerable cantidad de glucosa, su utilización puede reducirse quizás hasta una tercera parte de sus requerimientos normales (8).

\* En los sitios de síntesis de grasas. La glucosa es indispensable para la síntesis de grasas del cuerpo y de la leche.

Primeramente, a partir de ella se forma el glicerofosfato, que es el precursor del glicerol necesario para la esterificación de los ácidos grasos en la formación de triacilglicéridos (Fig 1). El tejido adiposo y la glándula mamaria no contienen mucha enzima glicerocinasa (71) por lo cual no pueden reutilizar al glicerol liberado en la lipólisis y necesitan formarlo vía glu cólisis.

Un segundo papel de la glucosa en el metabolismo de las grasas es el de proveer de  $\text{NADPH} + \text{H}^+$ , por vía de las pentosas, - necesario como agente reductor en la lipogénesis (Fig. 1).

El tercer papel, aunque no esencial, de la glucosa en el - tejido adiposo es que puede servir como fuente de sustrato carbonado para la síntesis de ácidos grasos. En rumiantes el acetato es la principal fuente y se produce en grandes cantidades en rumen (3).

\* En músculos. La glucosa es utilizada para sintetizar glucógeno en músculo y sirve como fuente de energía para este tejido durante el ejercicio o cuando el aporte de oxígeno es reducido.

\* Fetos y lactogénesis. Las mayores demandas de glucosa son durante la gestación y la lactancia. Los fetos reciben un constante aporte de glucosa de la sangre materna y esta es su principal fuente de energía. Además, en la vida fetal tardía de - los rumiantes se acumula glucógeno en el hígado hasta un 8-10% y en músculo casi el 4%; estos valores corresponden 2 a 8 veces más que en los adultos. Estas grandes reservas de energía de fácil disposición son degradadas en el periodo postnatal - hasta el establecimiento de un eficaz amamantamiento (8).

La lactación también impone una gran demanda de glucosa, - ya que la leche contiene 4.9% de lactosa, o sea casi 90 veces mas azúcar que la sangre (80). La producción diaria de lactosa en una vaca de alta producción puede llegar a los 1000 g, y en una oveja amamantando gemelos a los 200 g (27,32). Además, se requiere glucosa para la síntesis del glicerol, necesario para la síntesis de grasa láctea, como ya se mencionó (Fig. 1).

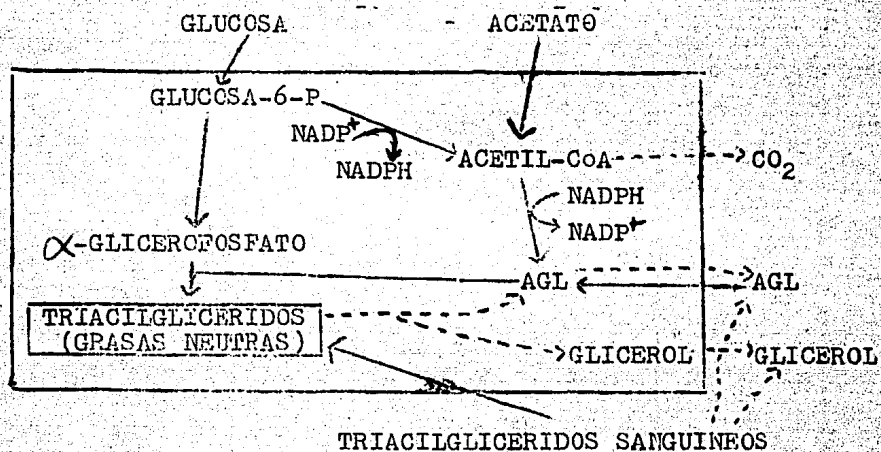


Fig. 1.- Diagrama de los principales caminos metabólicos para la síntesis (líneas sólidas) y degradación (líneas punteadas) de las grasas en las células del tejido adiposo y glándula mamaria de rumiantes. La lipogénesis es más importante que la lipólisis en glándula mamaria y se liberan muy poco glicerol y AGL. La glucosa se requiere como: 1) Precursor de  $\alpha$ -glicerofosfato, debido a la deficiencia de glicerocinasa en estos tejidos y 2) como fuente de  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  necesarios para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga (AGL). El acetato es la principal fuente de carbonos para la lipogénesis en los rumiantes. Tomado de Bergman (8).

#### b) Fuentes de glucosa.

\* Absorción intestinal. En los rumiantes la absorción de glucosa por el tracto digestivo es muy pequeña o nula.

\* Producción hepática. El promedio de producción hepática de glucosa en borregos es cercana al 85% de los requerimientos diarios.

\* Producción renal. El papel de los riñones es muy importante ya que suple del 8-10% de la glucosa total necesaria por día en ovejas alimentadas y cerca del 15% en ayunadas. La suma de los promedios de producción de glucosa por el hígado y los riñones es de 95-100%, o sea que estos dos órganos son las principales fuentes de glucosa (8).

#### c) Gluconeogénesis.

Solo cuatro grupos de metabolitos sirven como sustratos para la gluconeogénesis: 1) propionato, 2) glicerol, 3) aminoácidos y 4) lactato y piruvato (Fig. 2). El propilenglicol, frecuen-

temente utilizado como tratamiento en la hipoglucemia de los rumiantes, es metabolizado convirtiéndolo en piruvato.

\* Propionato como precursor de glucosa. Todos los AGV producidos en la fermentación ruminal pueden ser utilizados como fuente de energía, pero el propionato es el único que puede ser convertido a glucosa (13,41,63,73), llevándose a cabo este proceso en el hígado (Fig. 2).

El acetato y butirato, así como los AG de cadena larga derivados de la grasa dietética o del tejido adiposo, no pueden contribuir a la síntesis de glucosa (75). Esto es debido a que tanto acetato como butirato y los otros ácidos grasos al degradarse entran al ciclo de Krebs en forma de Acetil CoA, la cual pierde sus dos carbonos en forma de  $\text{CO}_2$ . Bajo estas circunstancias no hay una ganancia neta de oxalacetato.

Algunos estudios realizados con borregos bien alimentados (12,38) indican que se produce cerca de un mol de propionato al día en el rumen de estas especies, y si el 100% fuera convertido a glucosa (medio mol, 90 g) sería suficiente para llenar las necesidades de un animal no gestante. No obstante, solo cerca de la mitad del propionato producido es convertido a glucosa y lo demás es oxidado o convertido en otras sustancias (13,41).

\* Glicerol como precursor de glucosa. En los animales la mayor parte del glicerol existe en combinación con los AG. Su contribución a la gluconeogénesis en rumiantes bien alimentados es pequeña, menos del 5% de la producción total de glucosa (14). El glicerol removido durante la lipólisis es utilizado principalmente por los riñones e hígado, entrando a la gluconeogénesis como triosa fosfato (Fig. 2). Durante los periodos de lipólisis, el glicerol puede ser un importante precursor de glucosa. En ovejas ayunadas y cetósicas (hipoglucémicas) el glicerol puede llegar a proveer el 40% de la producción de glucosa. Cuando la cetosis es causada por el ayuno, el glicerol puede reemplazar al propionato, que obviamente no se está produciendo, como precursor de glucosa (8).

\* Aminoácidos como precursores de glucosa. Casi todos los aminoácidos son gluconeogénicos, siendo la excepción la leuci-

na (8). La gran mayoría de los aminoácidos son almacenados en músculos y éstos, junto con los aminoácidos dietéticos, son eficazmente utilizados por riñones, hígado y otros órganos para la gluconeogénesis (Fig. 2).

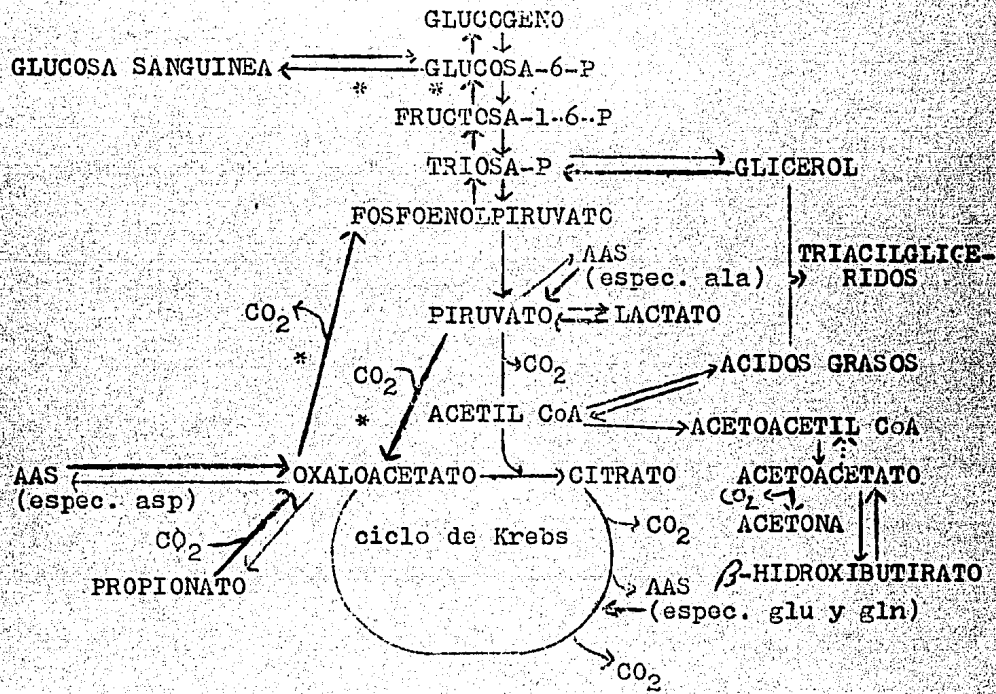


Fig. 2.- Principales vías metabólicas en el hígado y riñones de los rumiantes. Las vías gluconeogénicas están señaladas con líneas gruesas y sus cuatro enzimas clave con un asterisco. La reacción señalada con puntos no se lleva a cabo en el hígado. La participación de los aminoácidos en la cetogénesis es mínima. Tomado de Bergman (7,8). (espec. = especialmente)

Cuando los aminoácidos son utilizados para la gluconeogénesis, mucho del nitrógeno liberado es rápidamente convertido en urea y se excreta por orina. En los rumiantes parte de la urea producida penetra al tracto digestivo vía saliva, reincorporándose el nitrógeno a nuevos aminoácidos por las bacterias ruminales (50).

La formación hepática de glucosa a partir de aminoácidos es cercana al 30% del total de glucosa originada en este órgano, - pero durante el ayuno pueden aportar hasta cerca del 70% de los

requerimientos de glucosa, ya que no hay producción de propionato ni de lactato ruminales (8). Los principales aminoácidos que son removidos de la sangre por el hígado son la alanina y la glutamina, mismos que son liberados en mayor proporción por los músculos (24,61). Los ciclos de la alanina (24) y glutamina (61) han sido propuestos como importantes medios de unión del metabolismo de los aminoácidos con el control de la gluconeogénesis. Por lo anterior, muchos de los aminoácidos deben ser transaminados en músculo para producir alanina y glutamina, ya que representan el principal vehículo del nitrógeno y carbono de los músculos hacia el hígado.

En la Fig. 3 se ilustran las interrelaciones de los ciclos de la alanina y glutamina con la gluconeogénesis en ruminantes. Los aminoácidos, junto con el amoníaco, son absorbidos hacia la sangre portal de donde la mayor parte son removidos por el hígado y otros son transportados a los tejidos periféricos para la síntesis de proteínas. La alanina es el aminoácido que se absorbe en mayor cantidad hacia la sangre y la glutamina es el aminoácido que remueve en mayor cantidad el tejido intestinal (75). Estos dos aminoácidos son liberados por los músculos, siendo entonces los principales aminoácidos utilizados por el hígado para la gluconeogénesis. Hay que enfatizar que los animales en mantenimiento (no en producción), tienen un requerimiento diario de aminoácidos simple, solo para reemplazar las proteínas musculares y de otros órganos que son degradadas. Todos estos aminoácidos, con la excepción de la leucina, son convertidos a glucosa y urea. Algunos estudios señalan que los riñones de borregos normales liberan glutamina y arginina, pudiendo suministrar cerca de 3 a 4 veces la glutamina utilizada por el hígado (10).

Durante la cetoacidosis del embarazo ovina o caprina, en la cual hay una acidosis e incrementada excreción de amoníaco, la liberación de glutamina por el riñón cesa (10). Se sabe que la glutamina en muchos mamíferos es la principal fuente de amoníaco renal, siendo utilizado para la neutralización y excreción de ácidos. Por lo tanto, los riñones en los ruminantes pueden actuar como fuente de glutamina para el hígado o, si se necesita,

como sitio de remoción de glutamina para ser utilizada en la producción de amoniaco e incrementar la gluconeogénesis (8).

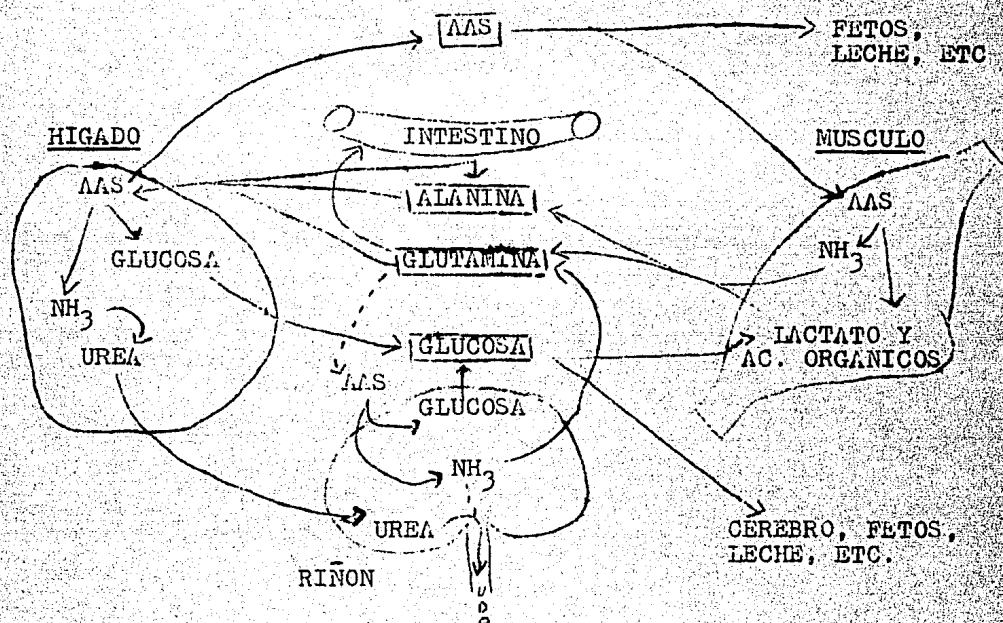


Fig. 3.- Diagrama que ilustra las principales interrelaciones del metabolismo de los aminoácidos con la gluconeogénesis en los rumiantes. La alanina y la glutamina son los sustratos gluconeogénicos más importantes y participan en un ciclo con otros aminoácidos y glucosa entre el hígado y los músculos. Además, el intestino remueve glutamina pero produce alanina. Los riñones hacen lo contrario normalmente, producen glutamina y remueven algo de alanina. Durante la cetosis (líneas punteadas), la glutamina es removida por los riñones para producir amoniaco e incrementar la gluconeogénesis. El hígado produce cerca del 85% de la glucosa y los riñones el 15%. Mientras el animal tenga un requerimiento diario de aminoácidos para el intercambio de proteína muscular, todos los aminoácidos, salvo la excepción hecha de la leucina, son metabolizados a glucosa y urea. Tomado de Bergman (8).

\* Lactato y piruvato como precursores de glucosa. Es importante señalar que la operación del ciclo de Cori no produce un incremento neto en la producción de glucosa, ya que el lactato es derivado de ella. No obstante, en los rumiantes el lactato puede ser producido durante la fermentación ruminal y así contribuir a la gluconeogénesis al ser absorbido (Fig. 2).



#### d) Control de la gluconeogénesis.

Los animales no rumiantes absorben glucosa y otros monosacáridos hacia la sangre portal, de la cual el hígado extrae los excedentes y los almacena como glucógeno. Entre las comidas se efectúa la gluconeólisis para liberar glucosa hacia la sangre. La gluconeogénesis se efectúa solo en periodos de ayuno.

En los rumiantes la glucosa se libera hacia la sangre constantemente (9.33) y la gluconeogénesis es un proceso constante, aumentando durante la digestión y reduciéndose en periodos de ayuno. El hecho de que la gluconeogénesis en los rumiantes se incremente durante la alimentación y decrezca durante el ayuno se basa simplemente en la disponibilidad de precursores. El propionato y los aminoácidos son los principales precursores gluconeogénicos en rumiantes y solo existen en grandes cantidades en animales alimentados.

Un importante factor regulador de la gluconeogénesis en rumiantes es la actividad de la enzima piruvato carboxilasa hepática, cuya actividad depende absolutamente de los compuestos Acil CoA de cadena corta (3). No obstante que el hígado remueve muy poco acetato (15), el propionato y el butirato son rápidamente removidos y convertidos a propionil-CoA y butiril-CoA respectivamente. Los cambios que ocurren en las concentraciones de estos activadores, especialmente después de comer, producen grandes incrementos en la actividad de la piruvato carboxilasa y por lo tanto una mayor gluconeogénesis (16). Esto explica el efecto del butirato, en algunos experimentos, de elevar la glucemia, por lo cual se le ha considerado en ocasiones como gluconeogénico (8). Además, el butirato estimula la liberación de glucagon, lo cual aumenta la concentración de glucosa.

Si un animal no esta alimentándose o si requiere grandes cantidades de glucosa por su elevada producción, puede ocurrir un excesivo drenaje de precursores de glucosa o glucosa hacia ciertos órganos (glándula mamaria en producción o útero gestante) produciéndose una hipoglucemia.

El control hormonal de la gluconeogénesis se resume en la Fig. 4, donde se observa que si un animal esta hiperglucémico, el hígado cesa de sacar glucosa hacia la sangre (76). Si existe

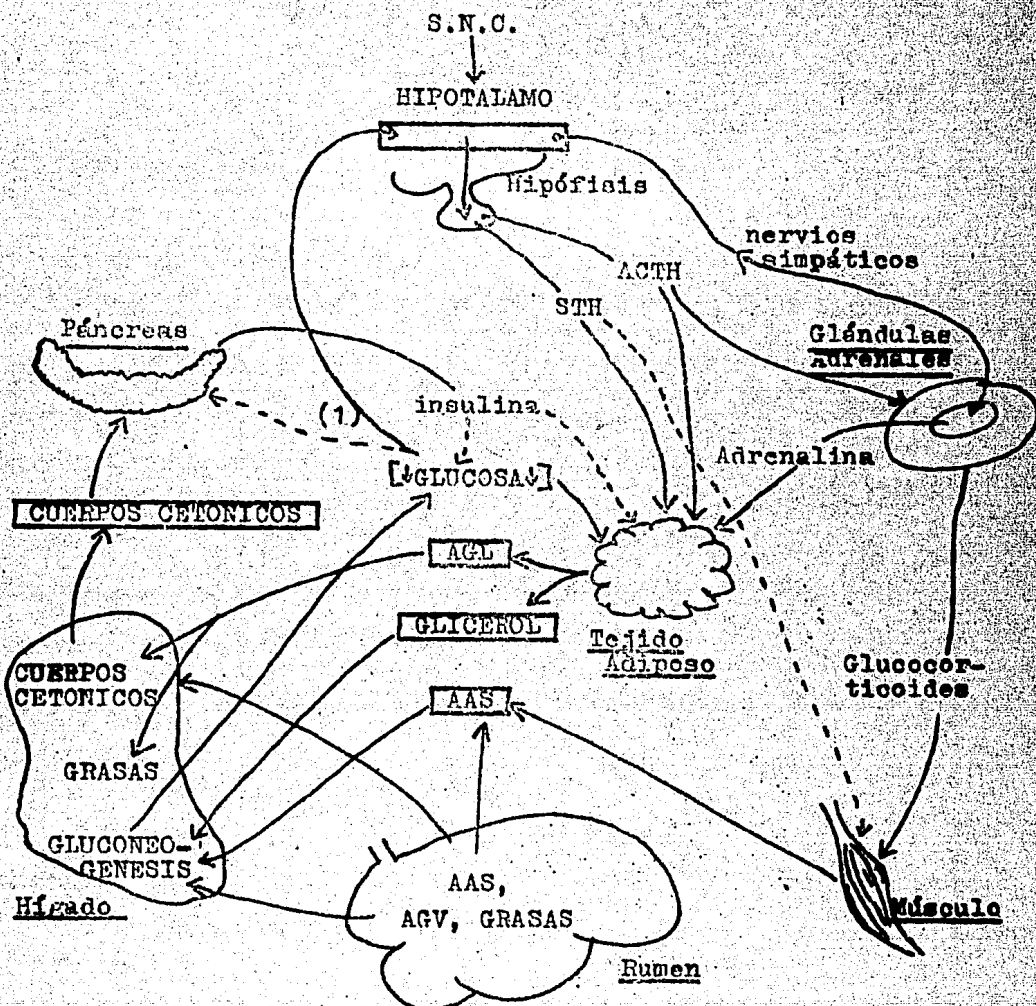


Fig. 4.- Diagrama que ilustra los principales controles hormonales para la regulación del aporte de precursores para la gluconeogénesis y cetogénesis hepáticas. Las líneas punteadas indican efectos inhibitorios: la insulina también puede afectar al músculo inhibiendo la liberación de aminoácidos. El glucagón puede hacer lo contrario e incrementar la liberación de aminoácidos por los músculos. Una hipoglucemia inicia un complejo de ajustes hormonales (1) interviniendo el hipotálamo, la hipófisis y el páncreas. No se ilustran los efectos directos de las hormonas sobre el hígado, por ejemplo el que la adrenalina y el glucagón aceleran la glucogenólisis y provocan hiperglucemia. Tomado de Bergman (8).

hipoglucemia, la primera respuesta es una glucogenólisis hepática y un aumento en la salida de glucosa del hígado. Al mismo tiempo (número 1 en la Fig. 4) se reduce la secreción de insulina (62) y los glucorreceptores del hipotálamo hacen que se estimule a la médula adrenal para que secrete adrenalina (68). La reducción en la secreción de insulina y el aumento en la adrenalina incrementan la glucogenólisis pero también estimulan la movilización de glicerol y AGL del tejido adiposo, provocando una hiperlipidemia. El aporte del glicerol incrementa la gluconeogénesis y los AGL proveen un combustible alterno para la oxidación metabólica. Es importante señalar que la absorción de glucosa por la glándula mamaria y el útero gestante no están influenciados por la insulina (30,55).

Los ajustes hormonales antes mencionados son rápidos y si la falta de glucosa persiste, se desarrollan acciones más prolongadas. Esto es a través de la hipófisis anterior (Fig. 4), la cual secreta ACTH y STH, las que incrementan la secreción de glucocorticoides por la corteza adrenal. La acción de los glucocorticoides sobre los músculos probablemente sea uno de sus efectos más benéficos, ya que se movilizan aminoácidos para suplir de precursores gluconeogénicos al hígado y riñones. Las concentraciones de glucocorticoides frecuentemente se encuentran elevadas en ruminantes con cetosis (54,58). Además, los glucocorticoides inhiben la utilización de la glucosa en muchos tejidos (18,21), lo cual es benéfico ya que ayuda a la conservación de glucosa y estimula la utilización de los AG y de los cuerpos cetónicos para llenar sus necesidades calóricas. En los animales lactando, los glucocorticoides reducen drásticamente la secreción láctea (18). En ovejas cetósicas el nivel de cortisol plasmático generalmente se encuentra muy elevado debido al stress y a la falla hepática para metabolizarlo.

## 2.- Metabolismo de los lípidos.

### a) Papel del oxalacetato en el hígado.

Otro factor involucrado en el desarrollo de la hipoglucemia y la cetosis es una deficiencia de oxalacetato. Si existe esta deficiencia se provocan profundas alteraciones en el metabolismo de las grasas (7). Existen solo tres caminos para la utiliza-

ción de los ácidos grasos en hígado (Fig. 2): 1) oxidación completa hasta  $\text{CO}_2$  en el ciclo de Krebs, 2) oxidación parcial a cuerpos cetónicos y 3) esterificación a triacilglicéridos. Estos tres caminos están interrelacionados y son competitivos. Si el primer camino, oxidación total, se reduce a causa de una deficiencia de oxalacetato, se incrementan la cetogénesis y formación de grasa hepática. Esto ha sido llamado el "factor hepático" para el desarrollo de la cetosis (7).

Hay dos hipótesis que explican una deficiencia de oxalacetato: a) Una utilización excesiva debido a una incrementada gluconeogénesis y b) una deficiente producción por falta de precursores (propionato, lactato y aminoácidos). Krebs (34) ha sugerido que la primera hipótesis es el factor responsable, ya que ha encontrado aumentada la actividad de la fosfoenol piruvato carboxicinasa en hígados de ratas diabetizadas por aloxana. Esto probablemente no ocurre en los rumiantes, ya que las vacas céticas no muestran una mayor utilización de glucosa que las vacas sanas (37), sus hígados no muestran mayor actividad de fosfoenol piruvato carboxicinasa (2,4) y están hipoglucémicas. En borregas gestantes céticas, la utilización y producción de glucosa también están disminuidas (6,33). La respuesta final involucra a las dos hipótesis, ya que en vacas lactando se requiere más glucosa al estar sintetizando lactosa y el resultado es una incrementada gluconeogénesis para suplir esta demanda y una hipoglucemia al no haber suficientes precursores. En ovejas gestantes sucede algo semejante al existir un excesivo drenaje de glucosa hacia los fetos.

#### b) Origen de los cuerpos cetónicos.

Los cuerpos cetónicos son los ácidos acetoacético (AA),  $\beta$ -hidroxi butírico (BHB) y la acetona. Estos cuerpos cetónicos se forman a partir de acetoacetyl CoA, que es un intermediario normal en la oxidación de los ácidos grasos, pero que también puede formarse a partir de la acetyl CoA. Durante la cetosis, el hígado es el principal sitio de formación de los cuerpos cetónicos, pero este órgano no es capaz de reconvertirlos en acetoacetyl CoA (Fig. 2).

El acetoacetato es el principal cuerpo cetónico y la acetona

y el BHB son sus derivados. Mucho del AA es reducido a BHB por acción de la enzima BHB deshidrogenasa. Esta reacción es reversible (11,49), pero el BHB es un compuesto inestable y tiende a formar acetona y  $\text{CO}_2$  en forma no enzimática a una tasa del 5% por hora a la temperatura corporal (11). La acetona es poco utilizada y al ser volátil se excreta en la respiración produciendo un olor característico (43,45). Los principales precursores de los cuerpos cetónicos son los ácidos grasos (26,42,47) de 16 y 18 carbonos que se movilizan de los depósitos de grasas del organismo. Los ácidos grasos dietéticos de cadena corta y número par de carbonos también son precursores, siendo el BHB (4 carbonos) el más importante (29,79). El propionato es gluconeogénico (Fig. 2). Algunos aminoácidos pueden ser cetogénicos.

Los sitios de mayor producción de cuerpos cetónicos son el hígado y el epitelio ruminal. Es importante mencionar que la glándula mamaria bovina en producción utiliza AA y BHB, pero durante la cetosis produce AA (37,64,69). No obstante, no se puede considerar a este órgano como cetógeno, ya que es mayor la utilización de BHB que la producción de AA.

Los cuerpos cetónicos que se forman en el epitelio ruminal son introducidos a la sangre, por lo cual se le ha denominado a este proceso cetogénesis "alimentaria" y cesa totalmente durante el ayuno (33,60). Las raciones ricas en granos generalmente causan un aumento en la producción de propionato, mientras que los ensilados muy húmedos aumentan la producción de butirato (1,65).

Durante la cetosis de los rumiantes, la cetogénesis hepática es la que aporta los cuerpos cetónicos, especialmente si los animales no se han alimentado (Fig. 5).

### c) Utilización de los cuerpos cetónicos.

Muchos tejidos pueden utilizar los cuerpos cetónicos y esto es debido principalmente a su capacidad para convertir al AA en acetoacetyl CoA, que luego es convertida a acetyl CoA pudiendo entonces oxidarse en el ciclo de Krebs o utilizarse para la síntesis de ácidos grasos, especialmente en glándula mamaria.

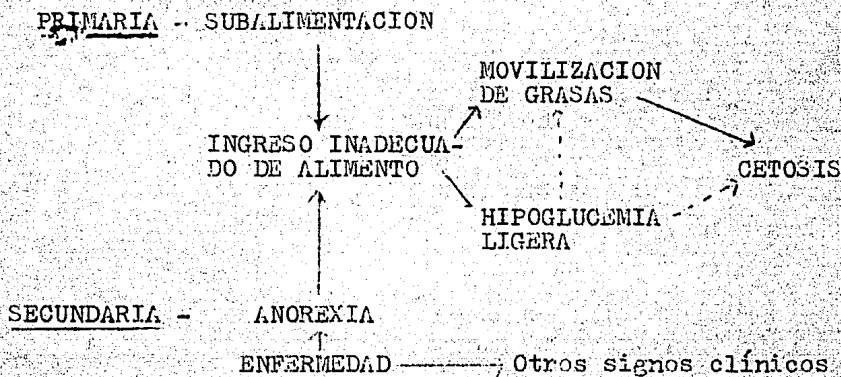


Fig. 5.- La cetosis subnutricional es debida principalmente a la movilización de las grasas e incrementada cetogénesis. La cetogénesis alimentaria disminuye (60) y no hay liberación de AA mamario (37) (no siempre se ha encontrado producción de AA por glándula mamaria). La movilización de las grasas esta estimulada por los nervios que liberan adrenalina en tejido adiposo. Puede verse facilitada por la hipoglucemia, pero no es esencial. Cuando vacas lactando son sometidas a ayuno, se desarrolla una ligera hipoglucemia inicial que puede revertir al incrementarse la cetonemia (4). Esta forma de cetosis puede presentarse por una subalimentación (cetosis primaria) o por una anorexia desarrollada en el curso de una enfermedad (cetosis secundaria) Tomado de Kronfeld (36).

Debido a que los cuerpos cetónicos son producidos en hígado pero utilizados en otros tejidos, una cetosis puede ser el resultado de: a) una pobre utilización por los tejidos extrahepáticos o b) una sobreproducción hepática. En la cetosis de los rumiantes, la causa es una sobreproducción hepática, aunque debe señalarse que hay una ligera disminución en la tasa de utilización de los cuerpos cetónicos en los finales de la enfermedad, ya cercana la muerte (5).

Cuando un rumiante deja de consumir alimento por cualquier causa, existen dos adaptaciones metabólicas de principal importancia para mantener la glucemia: la primera, ya se mencionó, es la "exclusión de glucosa" y la segunda es el ciclo de Cori, que reutiliza el lactato convirtiéndolo en glucosa. Por estas adaptaciones no se necesita producir una gran cantidad de glucosa a partir de los aminoácidos y la energía se obtiene a partir de los ácidos grasos. Pero si la disminución de la glucosa sanguínea ocurre rápidamente, los tejidos no pueden adaptarse

a la utilización de los cuerpos cetónicos y el animal entonces, mostrara signos nerviosos y puede morir rápidamente.

La vaca lactante tiene una ventaja sobre la oveja gestante, ya que se reduce bruscamente la producción de leche y de esta forma conserva glucosa, pudiendo sobrevivir, mientras que la oveja aborta o muere. Además, las vacas pueden excretar cuerpos cetónicos en la leche y no solo por la orina. Los riñones (72) y la glándula mamaria utilizan cuerpos cetónicos para su metabolismo, en especial esta última que utiliza al BHB para la lipogénesis (44). La cantidad total de cuerpos cetónicos excretados tal vez no sea mayor al 19% de los producidos.

#### d) Toxicidad de los cuerpos cetónicos.

Debido a que el AA y el BHB son ácidos fuertes, su excesiva acumulación en el organismo provoca una acidosis metabólica. Si su excreción por orina es prolongada puede causar una pérdida de iones sodio y potasio, así como reservas alcalinas del plasma. El BHB no es tóxico por sí mismo, pero el AA y la acetona en concentraciones elevadas producen signos nerviosos (7).

#### e) Regulación hepática de la cetogénesis.

La movilización de los ácidos grasos es el primer factor que debe ocurrir para iniciar la cetogénesis y esto se presenta cuando el organismo requiere de combustible adicional para mantener su metabolismo (46). Esto sucede en situaciones de emergencia que es cuando hay acción del sistema nervioso simpático (adrenalina).

Una gran demanda de combustible adicional se presenta cuando el ingreso de alimento es insuficiente para llenar los requerimiento mínimos de energía y cuando hay hipoglucemia.

Las concentraciones plasmáticas de los ácidos grasos libres y glucosa son inversamente proporcionales y los cuerpos cetónicos se incrementan en proporción directa a la concentración de los AGL, pero solo hasta cierto punto (cerca de 1.5 mEq/litro). Después, la concentración de estos cuerpos cetónicos se incrementa rápidamente (7) y es exactamente este punto donde se pasa de una cetosis "fisiológica" a una cetosis "patológica". - Antes de esta última, la cetogénesis estuvo controlada única-



mente por la tasa de movilización de los AGL desde el tejido adiposo en respuesta a una hipoglucemia, y solo una parte de estos AGL se convertían en cuerpos cetónicos. Hasta este momento, la concentración de los cuerpos cetónicos era relativamente baja y estaba balanceada con el incremento en la utilización por los tejidos extrahepáticos. ¿Por qué se incrementan tanto posteriormente los cuerpos cetónicos en sangre?. La explicación a este último fenómeno es la siguiente: Ya se mencionó que solo existen tres caminos para la utilización de los AGL en el hígado (46,47): a) oxidación completa hasta  $\text{CO}_2$  en el ciclo de Krebs, b) oxidación parcial a cuerpos cetónicos y c) esterificación para formar triacilglicéridos y fosfoglicéridos. Si los caminos a y c están reducidos, entonces se incrementa la cetogénesis. El mecanismo por el cual los caminos a y c estén disminuidos está estrechamente relacionado a la disponibilidad de carbohidratos por el hígado, ya que para la lipogénesis se requiere de  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  (Fig. 2), citrato y posteriormente glicerol para la esterificación (4,53,54), mientras que una deficiencia de oxalacetato reduce la vía de oxidación total - hasta  $\text{CO}_2$ .

#### f) Formación de hígado graso.

Es una observación común a la necropsia de vacas que sufrieron cetosis avanzada el encontrar el hígado graso. El hígado es considerado como la mayor fuente de lipoproteínas plasmáticas. Los triacilglicéridos son los lípidos más abundantes en hígado y son secretados principalmente como lipoproteínas de muy baja densidad. En los rumiantes, la vía de la citrato liasa hepática parece estar ausente para la lipogénesis a partir de carbohidratos (28), por lo cual los AGL provenientes del tejido adiposo son de mayor importancia. En la toxemia del embarazo ovina experimental, las concentraciones plasmáticas de triacilglicéridos no se alteran, por lo cual se deduce que la acumulación de lípidos en el hígado no es debida a una disminución en la liberación de lipoproteínas hepáticas (54). Aunque en la cetosis bovina los niveles de triacilglicéridos están reducidos y las lipoproteínas plasmáticas alteradas (48,56), la principal razón de la acumulación de lípidos en hígado es una excesiva - movilización del tejido adiposo.

Las evidencias encontradas hasta ahora sugieren que el desarrollo progresivo de un hígado graso en la vaca cetósica tiene un importante papel en el síndrome cetosis y explican en parte la reducida efectividad de los tratamientos conforme progresa la enfermedad (66).

#### SIGNOS CLINICOS.

a) Cetosis bovina. Tomados de Blood (17) y Fox (25).

Esta enfermedad puede presentarse a cualquier edad, aunque es mas frecuente en vacas de segundo parto en adelante y generalmente se presenta del décimo día a las cuatro semanas post-parto. Tiene dos presentaciones: la clásica y la nerviosa, aunque no son más que diferentes grados de un mismo síndrome.

La forma clásica es la más común y hay una pérdida gradual del apetito y disminución en la cantidad de leche secretada. Aunque generalmente hay rechazo del alimento, puede presentarse un apetito depravado. Es característica una rápida pérdida de peso. Las heces son firmes y secas. Los animales están moderadamente deprimidos; el pulso, la temperatura y frecuencia respiratoria son normales (la acidosis en vacas no es tan grave como en las ovejas). Los movimientos ruminales decrecen en número y amplitud hasta desaparecer. Se detecta un olor cetónico característico en el aliento, orina y leche. La tasa de mortalidad es casi nula aún sin tratamiento, su importancia radica principalmente en la baja producción láctea, la cual no llega a recuperarse.

En la forma nerviosa: caminan en círculos, recargan la cabeza contra la pared, muestran una aparente ceguera, incoordinación, se lamen vigorosamente, muestran apetito depravado, movimientos de masticación y salivación profusa. Pueden dañarse a si mismos durante los episodios de estos signos.

b) Toxemia del embarazo. Tomados de Blood (17) y Jensen (54).

En las ovejas y cabras los signos son semejantes a los descritos para la forma nerviosa de la cetosis bovina. Los primeros signos son la separación del rebaño y una aparente ceguera. Están alertas e inmóviles, no huyen al acercarse otros animales o el hombre. Si se les hace caminar tropiezan con los obstáculos

y recargan su cabeza contra ellos. La constipación es frecuente, hay heces secas y rechinar de dientes. El olor cetónico es detectable en el aliento.

Las hembras afectadas permanecen echadas tres o cuatro días presentando gran depresión. Previamente a presentarse la muerte puede haber convulsiones y salivación profusa seguidas por coma. Hay muerte fetal y una aparente mejoría de las hembras, pero la toxemia causada por los productos en descomposición las hace recaer. La recuperación espontánea puede presentarse en casos de aborto o si se les practica la operación cesárea. En un rebaño afectado, la enfermedad generalmente tiene el carácter de un brote.

Existe una prueba diagnóstica sencilla, el test de Rothera, el cual puede practicarse con orina o leche de los animales sospechosos. El reactivo utilizado consiste en 99 g de sulfato de amonio mezclado con 1 g de nitroprusiato de sodio. Se toma un gramo de esta mezcla, se coloca en un tubo de ensayo y se agregan de 5 a 7 ml de orina o leche, posteriormente se agrega un mililitro de solución 1 N de hidróxido de sodio. La lectura se hace 3 a 5 minutos después de mezclar los reactivos por agitación, pudiendo obtenerse los siguientes resultados:

ningún cambio de color	negativa
lila pálido	+
lila oscuro	++
púrpura	+++
púrpura opaco	++++

#### PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO.

a) Cetosis bovina. Tomados de Blood (17), Fox (25) y Schultz (66).

Aunque no se conoce un proceso preventivo que garantice la no presentación de la cetosis, las siguientes recomendaciones son efectivas:

- 1.- Evitar el engrasamiento excesivo antes del parto.
- 2.- Incrementar gradualmente la cantidad de concentrado durante el periodo de secado para que al día del nacimiento

- to este recibiéndolo como si ya estuviera en producción.
- 4.- Nunca hacer cambios bruscos en las raciones, especialmente hacia alimentos de baja calidad.
- 5.- Proporcionar los niveles adecuados de proteínas, minerales y vitaminas.
- 6.- Evitar el suministro de ensilado rico en ácido butírico.
- 7.- Proporcionar un lugar confortable, ejercicio adecuado y no someterlas a stress.
- 8.- En hatos con problemas frecuentes:
  - \* Monitorear el estado cetósico con la prueba de Rothera en la leche.
  - \* Suministrar propilenglicol a las vacas susceptibles.

Algunas personas acostumbran dar melaza o azúcar como preventivo de cetosis. Esto no es efectivo ya que estos carbohidratos son convertidos a AGV y no se absorben como glucosa.

El tratamiento más utilizado es la administración de suero - glucosado (dextrosado) al 50% por vía endovenosa en volumen de 500 ml. La mayoría de los casos muestran una notable mejoría con este tratamiento, aunque en ocasiones hay que repetirlo 2 a 3 veces. Posteriormente deben administrarse de 115 a 230 g de propilenglicol oral dividido en dos tomas diarias por un periodo de diez días.

En casos de cetosis secundaria es importante diagnosticar y corregir la enfermedad primaria para evitar las recaídas.

La administración de glucocorticoides ha dado resultados muy variables, pero su administración inhibe la producción láctea, lo cual ayuda a una más rápida recuperación (18).

b) Toxemia del embarazo. Tomados de Blood (17) y Jensen (54).

Las recomendaciones generales para prevenir la cetosis bovina pueden aplicarse para esta enfermedad. Asegurar que el plano nutricional se eleve en la segunda mitad del embarazo si es que se restringió al principio. Durante los dos últimos meses debe darse concentrado incrementándolo poco a poco.

Aunque la enfermedad en las ovejas y cabras es semejante a la de los bovinos, la respuesta a los tratamientos es muy variable y generalmente poco satisfactoria. Esta respuesta depende de la severidad de los casos y duración de la enfermedad. Al iniciarse

un caso clínico puede practicarse inmediatamente la operación cesárea o inducir el parto e instalar una terapia con suero glucosado al 50% intraperitonealmente.

Recientemente ha recibido atención el ácido nicotínico en relación a la cetosis, debido a sus efectos sobre el metabolismo de los lípidos. Ya que las dosis requeridas para tales efectos son mucho mayores que aquellas necesarias para el tratamiento de una deficiencia vitamínica, el ácido nicotínico debe clasificarse en este contexto como una droga más que como una vitamina.

El ácido nicotínico ha sido utilizado como agente para reducir el colesterol sanguíneo en humanos. Se ha encontrado que también reduce la concentración de los ácidos grasos libres y las cetonas sanguíneas en el hombre (22,23). Estos mismos efectos se han reportado en rumiantes (51,67).

El mecanismo por el cual esta sustancia ejerce sus efectos sobre el metabolismo de los lípidos no está bien aclarado. Se ha sugerido que la inhibición de la lipólisis es debida a la disminución de la actividad de la lipasa del tejido adiposo reduciendo los niveles de AMP cíclico, ya sea inhibiendo su síntesis (20) o estimulando la actividad de la fosfodiesterasa (35).

Estos datos son preliminares y el uso general del ácido nicotínico como material para el tratamiento de la cetosis no se ha recomendado. Se requieren trabajos adicionales para establecer la dosis y los efectos colaterales. Se ha reportado toxicidad a grandes dosis en cabras (67) pero no en bovinos.

#### PREGUNTAS BIOQUIMICAS.

1.- ¿Por qué los rumiantes con mayores producciones son más susceptibles a la cetosis? Explique para los casos de cetosis bovina y toxemia del embarazo.

2.- ¿Cuál es el mecanismo de producción de la cetosis?

3.- ¿Por qué al aumentar la concentración plasmática de cortisol se presenta una hiperglucemia?

4.- ¿ Como se encuentra el balance nitrogenado durante la cetosis? Explique.

5.- ¿Cuál es el mecanismo de producción del hígado graso en casos de cetosis avanzada?

6.- ¿Por qué una deficiencia de cobalto predispone a una cetosis? Explique.

7.- Explique el papel de los riñones ante una cetosis de los rumiantes.

#### BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Adler, J.H., S.J. Roberts and J.A. Dye. (1958) Further observations on stage as an etiological factor in bovine ketosis. Amer. Jour. Vet. Res. 19:314.
- 2.- Baird, G.D., K.G. Hibbitt, G.D. Hunter, P. Lund, M. Stubbs and H.A. Krebs. (1968) Biochemical aspects of bovine ketosis. Biochem. J. 107:683.
- 3.- Ballard, F.J., R.W. Hanson and D.S. Kronfeld. (1969) Gluconeogenesis and lipogenesis in tissue from ruminant and nonruminant animals. Fed. Proc. 28:216-231.
- 4.- Ballard, F.J., R.W. Hanson, D.S. Kronfeld and F. Raggi. (1968) Metabolic changes in liver associated with spontaneous ketosis and starvation in cows. J. Nutrition 95:160.
- 5.- Beatty, C.H., A. Marco, R.D. Peterson, R.M. Bocek and E.S. West. (-1960) Acetoacetic acid metabolism by skeletal muscle from control and diabetic rats. J. Biol. Chem. 235:2774.
- 6.- Bergman, E.N. (1963) Quantitative aspects of glucose metabolism in pregnant and nonpregnant sheep. Amer. J. Physiol. 204:147-152.
- 7.- Bergman, E.N. (1971) Hyperketonemia - ketogenesis and ketone body metabolism. J. Dairy Sci. 54:936-948.
- 8.- Bergman, E.N. (1973) Glucose metabolism in ruminants as related to hypoglycemia and ketosis. Cornell Vet. 63:341-382.
- 9.- Bergman, E.N., M.L. Katz and C.F. Kaufman. (1970) Quantitative aspects of hepatic and portal glucose metabolism and turnover in sheep. Am. J. Physiol. 219:785-793.
- 10.- Bergman, E.N., C.F. Kaufman, J.F. Wolf and H.H. Williams. (1974) Renal metabolism of amino acids and ammonia in fed and fasted pregnant sheep. Amer. J. Physiol. 226:833.
- 11.- Bergman E.N., K. Kon and M.L. Katz. (1963) Quantitative measurements of acetoacetate metabolism and oxidation in sheep. Amer. J. Physiol. 205:658.
- 12.- Bergman, E.N., R.S. Reid, M.G. Murray, J.M. Brockway and F.G. Whitlow. (1965) Interconversions and production of volatile fatty acids in the sheep rumen. Biochem. J. 97:53-58.
- 13.- Bergman, E.N., W.E. Roe and K. Kon. (1966) Quantitative aspects of propionate metabolism and gluconeogenesis in sheep. Am. J. Physiol. 211:793-799.

- 14.- Bergman, F.N., D.J. Starr and S.S. Reulain. (1968) Glycerol metabolism and gluconeogenesis in the normal and hypoglycemia ketotic sheep. *Am. J. Physiol.* 215:874-880.
- 15.- Bergman, F.N. and J. F. Wolff. (1971) Metabolism of volatile fatty acids by liver and portal-drained viscera in sheep. *Am. J. Physiol.* 221:586-592.
- 16.- Black, A.L., J.R. Luick, F. Moller and R.S. Anand. (1966) Pyruvate and propionate metabolism in lactating cows; Effect of butyrate on pyruvate metabolism. *J. Biol. Chem.* 241:5233-5237.
- 17.- Blood, D.C., J.A. Henderson and O.M. Radostits. (1979) *Veterinary Medicine*. 5th edition. Lea and Febiger. Philadelphia, U.S.A.
- 18.- Braun, R.K., F.N. Bergman and T.F. Albert. (1970) Effects of various synthetic glucocorticoids on milk production and blood glucose and ketone body concentrations in normal and ketotic cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 157:941-946.
- 19.- Brockman, R.P. (1979) Roles for insulin and glucagon in the development of ruminant ketosis - A review. *Can. Vet. J.* 20:121-126.
- 20.- Butcher, R.W., C.F. Baird and E.W. Sutherland. (1968) Effect of lipolytic and antilipolytic substances in adenosine 3',5' monophosphate levels in isolated fat cells. *J. Biol. Chem.* 243:1705.
- 21.- Butler, T.M. and J.M. Elliot. (1971) Effect of diet and glucocorticoid administration on liver phosphoenolpyruvate carboxylase activity in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 53:1727-1733.
- 22.- Carlsen, L.A., V. Fregschuss, J. Kjellberg and J. Ostman. (1967) Suppression of splanchnic ketone body production in man by nicotinic acid. *Diabetologia* 3:494.
- 23.- Carlsen, L.A. and J. Ostman. (1966) Plasma  $\beta$ -hydroxybutyric acid response to nicotinic acid induced plasma free fatty acid decrease in man. *Diabetologia* 2:127.
- 24.- Felig, P., T. Pozefsky, E. Marliss and G.F. Cahill. (1970) Alanine: Key role in gluconeogenesis. *Science* 167:1003-1004.
- 25.- Fox, F.H. (1971) Clinical diagnosis and treatment of ketosis. *J. Dairy Sci.* 54(6):974-978.
- 26.- Fritz, I.B. (1961) Factors influencing the rates of long-chain fatty acid oxidation and synthesis in mammalian systems. *Physiol. Rev.* 41:52.
- 27.- Gardner, R.W. and D.E. Hogue. (1966) Milk production, milk composition and energetic efficiency of Hampshire and Corriedale ewes fed to maintain body weight. *J. Anim. Sci.* 25:789-795.
- 28.- Hanson, R.W. and F.J. Ballard. (1967) The relative significance of acetate and glucose for lipid synthesis in liver and adipose tissue from ruminants. *Biochem. J.* 105:529.
- 29.- Hird, F.J.R. and R.H. Symons. (1961) The mode of formation of ketone bodies from butyrate by tissue from the rumen and omasum of the sheep. *Biochim. Biophys. Acta* 46:457.
- 30.- Hove, K. (1978) Maintenance of lactose during acute insulin deficiency in lactating goats. *Acta physiol. scand.* 103:173-179.
- 31.- Jensen, R. (1974) *Diseases of sheep*. Lea and Febiger Ed. Philadelphia, U.S.A.
- 32.- Kaneko, J.J. and C.F. Cornelius. (1970) *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Vol. I. 2nd. ed. New York: Acad. Press.
- 33.- Katz, M.L. and F.N. Bergman. (1969) Hepatic and portal metabolism of glucose, free fatty acids and ketone bodies in the sheep. *Am. J. Physiol.* 216:953-960.
- 34.- Krebs, H.A. (1966) Bovine ketosis. *Vet. Record* 78:187.



- 35.- Krishna, G., B. Weiss, J.J. Davies and S. Hynie. (1966) Mechanism of nicotinic acid inhibition of hormone-induced lipolysis. Fed. Proc. 25:718.
- 36.- Kronfeld, D.S. (1971) Hypoglycemia in ketotic cows. J. Dairy Sci. 54(6):949-961.
- 37.- Kronfeld, D.S., F. Raggi and C.F. Ramberg. (1968) Mammary blood-flow and ketone body metabolism in normal, fasted and ketotic cows. Am. J. Physiol 215:218.
- 38.- Leng, R.A. (1970) Glucose synthesis in ruminants. Adv. Vet. Sci. 14:209-260.
- 39.- Leng, R.A. and E.F. Annison. (1962) Metabolic activities of sheep erythrocytes. Australian J. Agric. Res. 13:31-44.
- 40.- Leng, R.A. and G.J. Leonard. (1965) Measurement of the rates of production of acetic, propionic and butyric acids in the rumen of sheep. Brit. J. Nutr. 19:469-484.
- 41.- Leng, R.A., J.W. Steel and J.R. Luick. (1967) Contribution of propionate to glucose synthesis in sheep. Biochem. J. 103:785-790.
- 42.- Leng, R.A. and E.C. West. (1969) Contribution of acetate, butyrate, palmitate, stearate, and oleate to ketone body synthesis in sheep. Res. Vet. Sci. 10:57.
- 43.- Lindsay, D.B. and R.F. Brown. (1966) Acetone metabolism in sheep. Biochem. J. 100:589.
- 44.- Linzell, J.L., E.F. Annison, S. Pazakerley and R.A. Leng. (1967) The incorporation of acetate, stearate and beta-hydroxybutyrate into milk fat by the isolated mammary gland of the goat. Biochem. J. 104:34.
- 45.- Luick, J.R., A.L. Black, M.G. Simesen, M. Kametaka and D.S. Kronfeld. (1967) Acetone metabolism in normal and ketotic cows. J. Dairy Sci. 50:544.
- 46.- Maves, P.A. (1968) A caloric deficiency hypothesis of ketogenesis. Metabolism 11:781.
- 47.- Maves, P.A. and J.M. Felts. (1967) Regulation of fat metabolism in the liver. Nature 215:716.
- 48.- McCarthy, R.D., G.A. Porter and L.C. Griel, Jr. (1968) Bovine ketosis and depressed fat test in milk: A problem of methionine metabolism and serum lipoprotein aberration. J. Dairy Sci. 51:459.
- 49.- Nielsen, N.C. and S. Fleischer. (1969) Beta-hydroxybutyrate dehydrogenase: lack in ruminant liver mitochondria. Science 166:1017.
- 50.- Nolan, J.V. and R.A. Leng. (1972) Dynamic aspects of ammonia and urea metabolism in sheep. Brit. J. Nutr. 27:177-194.
- 51.- Nye, E.R. and H. Buchanan. (1969) Short-term affect of nicotinic acid on plasma level and turnover of free fatty acids in sheep and man. J. Lipid Res. 10:193.
- 52.- Owen, O.F., A.P. Morgan, H.G. Kern, J.M. Sullivan, M.G. Herrera and G.F. Cahill. (1967) Brain metabolism during fasting. J. Clin. Invest. 46:1589-1595.
- 53.- Patterson, D.S.P. (1966) Depot fat mobilization and liver lipogenesis and ketogenesis in ovine pregnancy toxemia, and the effects of corticotrophin administration. Res. Vet. Sci. 7:484.
- 54.- Patterson, D.S.P., and N.F. Cunningham. (1969) Metabolic and hormonal aspects of bovine ketosis and pregnancy toxemia in the ewe. Brit. J. Nutr. 28:171.
- 55.- Prior, R.L. and R.K. Christenson. Insulin and glucose effects on glucose metabolism in pregnant and non-pregnant ewes. J. Anim. Sci. 46:201-210. (1978).

- 56.- Radloff, H.D. and L.H. Schultz. (1967) Blood and rumen changes in early stages of ketosis. *J. Dairy Sci.* 50:98.
- 57.- Rajú, K.G., B.C. Pong, S.K. Srungaram and W.C. Bowie. (1972) Effect of experimentally induced hyperketonemia on glucose metabolism of ovine brain in vivo. *Fed. Proc.* 31:345.
- 58.- Reid, R.L. (1968) The physiopathology of undernourishment in pregnant sheep, with particular reference to pregnancy toxemia. *Adv. Vet. Sci.* 12:163-238.
- 59.- Robertson, A. and C. Thin. (1953) A study of starvation ketosis in the ruminant. *Brit. J. Nutr.* 7:181.
- 60.- Roe, W.E., E.N. Bergman and K.S. Kon. (1966) Absorption of ketone bodies and other metabolites via the portal blood of sheep. *Am. J. Vet. Res.* 27:729.
- 61.- Ruderman, N.B. and P. Lund. (1972) Amino acid metabolism in skeletal muscle. Regulation of glutamine and alanine release in the perfused rat hindquarter. *Israel J. Med. Sci.* 8:295-302.
- 62.- Saba, N., K.N. Burns, W.F. Cunningham, C.N. Herbert and D.S.P. Paterson. (1968) Some biochemical and hormonal aspects of experimental ovine pregnancy toxemia. *J. Agr. Sci.* 67:129-138.
- 63.- Satter, L.D. and D.W. Wiltrout. (1970) Utilization of ruminal propionate for glucose synthesis in the lactating and non-lactating cow. *Fed. Proc.* 29:692.
- 65.- Schultz, L.H. (1968) Ketosis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 51:1133
- 66.- Schultz, L.H. (1971) Management and nutritional aspects of ketosis. *J. Dairy Sci.* 54:962-973.
- 64.- Schalm, J.W., R. Waterman, G.E. Schook and L.H. Schultz. (1969) Blood metabolite interrelationships and mammary arterio-venous differences in the ketotic cow. *J. Dairy Sci.* 52:915.
- 67.- Schultz, L.H., S. Yamdagni and R.A. Gill. (1968) Effect of nicotinic acid on lipid metabolism in the ruminant. *Abstr. J. Dairy Sci.* 51:955.
- 68.- Setchell, B.P. and G.M.H. Waites. (1962) Adrenaline release during insulin hypoglycemia in the sheep. *J. Physiol. (London)*. 164:200-209.
- 69.- Shaw, J.C. (1943) A comparison of acetone body metabolism of the lactating mammary gland of the normal cow with that of the cow with ketosis. *J. Biol. Chem.* 142:53.
- 70.- Shaw, J.C. (1965) Bovine ketosis. *Adv. Vet. Sci.* 2:262-301.
- 71.- Vaughn, M. (1961) The metabolism of adipose tissue in vitro. *J. Lipid Res.* 2:293-316.
- 72.- Weideman, M.J. and H.A. Krebs. (1969) The fuel of respiration of rat kidney cortex. *Biochem. J.* 112:149.
- 73.- Weingand, E., J.W. Young and A.D. McGilliard. (1972) Extent of propionate metabolism during absorption from the bovine ruminoreticulum. *Biochem J.* 126:201-209.
- 75.- Weinman, E.O., E.H. Striscwer and I.L. Chaikoff. (1957) Conversion of fatty acids to carbohydrates: application of isotopes to this problem and role of the Krebs cycle as a synthetic pathway. *Physiol. Rev.* 37:252-272.
- 76.- West, C.E. and R.F. Passey. (1967) Effect of glucose load and of insulin on the metabolism of glucose and of palmitate in sheep. *Biochem. J.* 102:58-64.
- 74.- Wainer, R., H.J. Hirsch and J.J. Spitzer. (1971) Cerebral extraction of ketones and their penetration into CSF in the dog. *Am. J. Physiol.* 220:1542-1546.

- 77.- Wolf, J.E., E.N. Bergman and H.H. Williams. (1972) Net metabolism of plasma amino acids by liver and portal-drained viscera of Fed sheep. *Am. J. Physiol.* 223:438-446.
- 78.- Yamdagni, S. and L.H. Schultz. (1969) Metabolism of <sup>14</sup>C palmitic acid in goats in various metabolic states. *J. Dairy Sci.* 52:1278.
- 79.- Yamdagni, S., L.H. Schultz and H.D. Radloff. (1968) Effect of carbon chain length of fatty acids on ketogenesis in the ruminant. *J. Dairy Sci.* 51:1094.
- 80.- Young, J.W. (1977) Gluconeogenesis in cattle: Significance and methodology. *J. Dairy Sci.* 60(1):1-15.