

## RELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE D Y L LACTATO Y EL ESTRÉS OXIDATIVO EN VACUNO LECHERO EN FASE DE TRANSICIÓN: OBSERVACIONES PRELIMINARES

Abuelo, A\*., Castillo, C., Hernández, J., Pereira, V., García-Vaquero, M.A., López-Alonso, M., Benedito, J.L.

Dpto. de Patología Animal, Universidad de Santiago de Compostela. Campus Universitario s/n, 27002 – Lugo (Lugo). \*E-mail: angel.abuelo@rai.usc.es

### INTRODUCCIÓN

Grummer (1995) describió el período de transición como el período comprendido desde las 3 semanas preparto hasta las 3 semanas postparto. Este período se caracteriza por los marcados cambios en el estado endocrino del animal, que son mucho más dramáticos que en cualquier otro momento del ciclo lactación-gestación; y por la reducción de la capacidad de ingesta cuando se incrementa la demanda de nutrientes para el desarrollo de la concepción y la inminente lactogénesis (Grummer, 1995). En adición a los cambios endocrinos, metabólicos y del sistema inmune experimentados por las vacas en transición, éstas también tienen que soportar frecuentemente estresores ambientales surgidos de los cambios de grupos (de vacas lactantes y en período de secado) asociados con el manejo de las granjas lecheras. Cuando se combinan todos estos efectos con los esfuerzos del parto, no es sorprendente que el período de mayor riesgo para el desarrollo de enfermedades sea el período inmediatamente siguiente al parto.

Una de las enfermedades más frecuentes en el postparto es la acidosis ruminal, si bien en muchas ocasiones se presenta en su forma subaguda y pasa desapercibida para los ganaderos, a pesar de las pérdidas económicas que ocasiona (disminución de la ingesta, disminución de la producción láctea, disminución de la concentración de proteína y grasa en la leche...) y de los perjuicios en la salud del animal (formación de abscesos hepáticos, inducción de laminitis, disbiosis ruminal...). En los rumiantes el lactato es uno de los productos secundarios de la fermentación de los carbohidratos, y su sobreproducción es la que provoca la caída brusca del pH ruminal. El L-lactato es metabolizado a piruvato en el hígado y eliminado vía renal de forma rápida, por lo que no tiende a acumularse. Sin embargo, la forma D-lactato se metaboliza muy lentamente y no se elimina de manera tan fácil, con lo que puede alcanzar niveles sanguíneos que dan lugar a una acidosis metabólica (Gentile et al., 2002) y a lesiones neurotóxicas a nivel del sistema nervioso central, debido a que este isómero es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica (Gentile et al., 2004). La determinación de D- y L-lactato en sangre reviste gran interés a la hora de obtener una evaluación general del estado de salud del animal en casos de acidosis ruminal, pues se ha encontrado que guardan una estrecha correlación con sus respectivos isómeros a nivel ruminal (Montaño et al., 1999).

El estrés oxidativo se define como el desequilibrio existente entre los niveles de sustancias oxidantes y reductoras (o antioxidantes) a nivel celular o de individuo. El daño oxidativo es un resultado de este desequilibrio e incluye la modificación oxidativa de macromoléculas celulares, muerte celular por apoptosis o necrosis, así como daño tisular estructural. El considerable aumento de los requerimientos de oxígeno durante momentos de demandas metabólicas incrementadas resulta en un incremento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO o ROS del inglés Reactive Oxygen Species). Un desequilibrio entre el incremento de producción de ERO y la disponibilidad de las defensas antioxidantes necesarias para reducir la acumulación de ERO durante el período del periparto puede exponer a las vacas a un mayor estrés oxidativo. Los primeros estudios sugerían el papel del estrés oxidativo en las etiologías de los desórdenes del ganado vacuno lechero, dado que la suplementación con ciertos antioxidantes podía mejorar la severidad de una variedad de enfermedades metabólicas e infecciosas (Miller et al., 1993). Estudios más recientes apoyan el concepto de que el estrés oxidativo es un factor a tener en cuenta en respuestas inmunes e inflamatorias no funcionales, lo que puede incrementar la susceptibilidad del ganado vacuno lechero a una variedad de desórdenes de la salud, particularmente durante el estado de transición (Bernabucci et al., 2005; Castillo et al., 2005; Mulligan y Doherty, 2008).

Por ello, el objetivo del presente estudio es valorar y relacionar, en condiciones de campo, el grado de estrés oxidativo con la función ruminal en ganado vacuno lechero en fase de transición.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para el presente estudio se emplearon 62 animales de una explotación de régimen intensivo situada en el ayuntamiento de Arzúa (A Coruña - España). Se establecieron dos grupos, el primero de ellos (denominado experimental) estaba formado por vacas en gestación avanzada y fue muestreado desde el mes antes del parto hasta el mes después del mismo (EXP, n=17). Para analizar los valores obtenidos en función del estado productivo, este grupo experimental se dividió a su vez en 2 subgrupos: i) parto (desde 1 mes antes del parto hasta el día del parto) y ii) postparto (desde el parto hasta 1 mes después). El segundo grupo (denominado control) estaba formado por 40 vacas gestantes y en lactación, pero con una menor demanda metabólica, esto es, vacas con aproximadamente unos siete meses de lactación, con una producción media de 18 kg leche/animal/día, coincidiendo con el cuarto o quinto mes de gestación (120-150 días desde la IA fecundante) (CTRL, n=40).

Se obtuvieron muestras de sangre mediante venopunción coccígea cada 15 días. Las muestras fueron refrigeradas hasta su traslado al laboratorio y en este fueron centrifugadas a 2500 rpm y el suero fue congelado a -20°C hasta su posterior análisis. Se determinaron los niveles de metabolitos reactivos de oxígeno (d-ROM) y de la barrera plasmática a la oxidación (OXY) mediante un kit comercial suministrado por Diacron Internacional S.a.S. (Italia); a su vez, los niveles de ácido D- y L-láctico fueron determinados empleando kits comerciales de los laboratorios BEN-Biochemical Enterprise® (Italia) y Spinreact® (España) respectivamente. El análisis estadístico fue realizado con el paquete PASW Statistics 18 para Windows. Tras comprobar que los datos seguían una distribución normal, mediante la prueba de Kolmogorov Smirnov, las diferencias entre medias se establecieron con el Test T-Student y la significación estadística se declaró con un valor de  $p \leq 0,05$ . Asimismo, las relaciones entre los distintos parámetros, en cada momento productivo concreto, se obtuvieron aplicando el coeficiente de correlación de Pearson.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios de los enantiómeros del ácido láctico se encontraban dentro de los rangos fisiológicos publicados (Carlson, 2010), no habiendo, en conocimiento de los autores, rangos fisiológicos publicados de los niveles de d-ROM y OXY.

En las fases productivas estudiadas, sólo se encontraron niveles de D-Lactato con diferencias estadísticas entre el grupo EXP y el CTRL, no habiendo diferencias significativas en los niveles de los parámetros estudiados en los subgrupos parto y postparto.

Se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre los niveles de ambos enantiómeros del lactato tanto en el parto como en el postparto ( $r=0.548$  y  $r=0.462$  respectivamente). Teniendo en cuenta que los niveles de estos enantiómeros en suero guardan relación con los del rumen (Montaño et al., 1999), y que en éste se producen ambos a consecuencia de las fermentaciones ruminales, se entiende que las concentraciones séricas de ambas formas guarden una relación.

Además, se encontró en el parto una correlación significativa entre los niveles de D-Lactato y los de los metabolitos reactivos de oxígeno ( $r=0.510$ ). Y en el postparto los niveles de L-Lactato guardan una correlación con la defensa antioxidante ( $r=0.553$ ). Las diferencias en las relaciones de ambos enantiómeros pueden ser debidos a su metabolización en el organismo, ya que el L-Lactato se hidrogena rápidamente por la enzima lactato deshidrogenasa (L-LDH) para formar piruvato, que es un antioxidante natural (Das, 2006a; 2006b), de ahí su relación con los antioxidantes. En cambio, los mamíferos carecen de la enzima D-lactatodeshidrogenasa, por lo que el D-Lactato se metaboliza muy lentamente y no se elimina con facilidad, acumulándose y produciendo reacciones que causan un incremento de los ROM. Este es el primer estudio en el que se busca establecer la relación existente entre los niveles de D y L lactato – como biomarcadores de la función ruminal - y el

balance oxidante/antioxidante en fase de transición. Los primeros resultados nos permiten señalar que esta relación, efectivamente existe, aunque con funciones distintas: prooxidante para el D-lactato y antioxidante en el caso de L-lactato. Los siguientes estudios estarán encaminados a perfilar el papel de cada enantiómero sobre todo, en el contexto clínico.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., Nardone, A., 2005. *J. Dairy Sci.* 88, 2017-2026. ● Carlston, G.P., 2010, en *Medicina Interna de Grandes Animales*, Ed. Bradford P. Smith; Barcelona, Elsevier ● Castillo, C., Hernandez, J., Bravo, A., Lopez-Alonso, M., Pereira, V., Benedito, J.L., 2005. *Vet. Journal* 169, 286-292 ● Das, U.N., 2006a, *Nutrition* 22, 965-972.; 2006b, *Med Sci Monit* 12, RA79-84 ● Gentile, A., Sconza, S., Lorenz, I., Otranto, G., Rademacher, G., Famigli-Bergamini, P., Klee, W., 2002. XXII World Buiatrics Congress ● Gentile, A., Sconza, S., Lorenz, I., Otranto, G., Rademacher, G., Famigli-Bergamini, P., Klee, W., 2004. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 51, 64-70, ● Grummer, R.R., 1995. *J. Anim. Sci.* 73, 2820-2833 ● Miller, J.K., Brzezinska-Slebodzinska, E., Madsen, F.C., 1993, *J. Dairy Sci.* 76, 2812-2823 ● Montaña, M.F., Chai, W., Zinn-Ware, T.E., Zinn, R.A., 1999. *J. Anim. Sci.* 77, 780-784. ● Mulligan y Doherty, 2008. *Vet. Journal* 176, 3-9.

Agradecimientos: Este estudio ha sido financiado con un proyecto de investigación de la Xunta de Galicia (Ref. 10MRU261004PR). Los autores agradecen a Lucía Casanova Iglesias su experiencia técnica.

Tabla 1: Niveles medios de d-ROM, OXY, D- y L-Lactato en cada una de las fases

PARÁMETRO	UNIDAD	Grupo Control	Grupo Experimental	
			Preparto (N = 19)	Postparto (N =17)
d-ROM	Carr U	135,57 ± 6,07	129,82 ± 8,61	152,99 ± 10,48
OXY	$\mu\text{mol HClO/mL}$	480,05 ± 20,58	516,85 ± 18,99	489,80 ± 31,78
D-Lactato	mmol/L	0,77 ± 0,03	0,58 <sup>a</sup> ± 0,05	0,56 <sup>a</sup> ± 0,04
L-Lactato	mmol/L	0,31 ± 0,01	0,30 ± 0,02	0,33 ± 0,03

<sup>a</sup>. Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control.

#### RELATIONSHIP BETWEEN THE LEVELS OF D AND L LACTATE AND THE OXIDATIVE STATUS IN DAIRY CATTLE IN THE TRANSITION PERIOD: PRELIMINARY OBSERVATIONS

**ABSTRACT:** The transition period (3 weeks pre-calving until 3 weeks post-calving) is characterised by marked changes in the endocrine status of the animal that are much more dramatic than at any other time in the lactation-gestation cycle. The aim of this report was to evaluate, under field conditions, the relationship between the oxidative status and the levels of D and L Lactate during this period. We found a relationship between the levels of both enantiomers of the lactic acid in all the study period, as well as between the oxidants agents and the D-Lactate in the prepartum and between the antioxidant barrier and the L-Lactate during the postpartum.

**Keywords:** oxidative status, D- and L-lactate, dairy cow, transition period