

Efeito do butafosfan e da cianocobalamina no metabolismo pós-parto e na produção de leite em vacas leiteiras

R. A. Pereira^{1†}, P. A. S. Silveira¹, P. Montagner¹, A. Schneider¹, E. Schmitt^{1,2}, V. R. Rabassa¹, L. F. M. Pfeifer^{1,2}, F. A. B. Del Pino^{1,3}, M. E. Pulga⁴ and M. N. Corrêa¹

¹Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC), Departamento de Clínicas Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, CEP: 96010-900, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil; ²Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia – Embrapa CPAF, BR 364 - km 5,5 - Zona Rural, Caixa Postal 127 - CEP 76815-800, Porto Velho, Rondonia, Brazil; ³Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pelotas, CEP: 96010-900, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil; ⁴Bayer S. A. Animal Health, Rua Domingos Jorge, 1100 - Prédio 9701, CEP: 04779-900, São Paulo, SP, Brazil

(Recebido em 17 de junho de 2011; Aceito em 26 de novembro de 2012)

Resumo

O objetivo deste estudo foi determinar o efeito da suplementação de butafosfan e cianocobalamina (BTPC) sobre os metabólitos plasmáticos e a produção de leite em vacas leiteiras no pós-parto. Um total de 52 vacas holandesas foi aleatoriamente designado para receber: (1) 10 ml de solução salina (NaCl 0,9%; grupo controle); (2) 1000 mg de butafosfano e 0,5 mg de cianocobalamina (grupo BTPC1); e (3) 2000 mg de butafosfano e 1,0 mg de cianocobalamina (grupo BTPC2). Todas as vacas receberam injeções a cada 5 dias desde o parto até 20 dias em lactação (DEL). Amostras de sangue foram coletadas a cada 15 dias do parto até 75 DEL para determinar a concentração sérica de glicose, ácidos graxos não-esterificados (NEFA), b-hidroxibutirato (BHB), colesterol, ureia, cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), aspartato de aminotransferase (AST) e g-glutamilttransferase (GGT). O escore de condição corporal (ECC) e a produção de leite foram avaliados a partir do parto até os 90 DEL. Doses crescentes de BTPC causaram uma redução linear nas concentrações plasmáticas de NEFA e colesterol. A suplementação de BTPC também reduziu as concentrações de BHB, mas não diferiu entre as duas doses de tratamento. A produção de leite e proteína do leite teve um aumento linear com o aumento das doses de BTPC. Um efeito quadrático foi detectado para a gordura do leite e sólidos totais do leite de acordo com a dose do tratamento, e o BTPC1 teve os menores valores médios. Concentrações de glicose, ureia, P, Mg, AST, GGT, lactose do leite e BCS não foram afetadas pelo tratamento. Estes resultados indicam que as injeções de BTPC durante o período inicial pós-parto podem reduzir as concentrações de NEFA e BHB e aumentar a produção de leite em vacas holandesas.

Palavras-chave: butafosfan, cianocobalamina, vacas leiteiras pós-parto, ácido graxo não esterificado

Implicações

Este estudo apresenta uma nova estratégia metafilática destinada a reduzir a intensidade do balanço energético negativo (BEN) em vacas leiteiras no pós-parto. Diferentemente de estudos anteriores, o atual protocolo consiste em cinco aplicações de cianocobalamina e butafosfano com intervalo de 5 dias durante os primeiros 20 dias em lactação (DEL), período de maior desafio metabólico para vacas leiteiras. Os resultados deste experimento indicam que este protocolo pode melhorar a adaptação metabólica no período pós-parto precoce, reduzindo a mobilização do tecido adiposo e aumentando a produção de leite.

Introdução

A transição da gestação para a lactação é considerada um período crítico para vacas leiteiras de alta produção (Goff e Horst, 1997). O período de transição é um evento homeorrético importante, no qual várias modificações fisiológicas ocorrem de maneira coordenada para dar suporte à produção de leite pós-parto (Drackley, 1999). Durante este período, o aumento no consumo de matéria seca (CMS) não é capaz de atender à crescente demanda energética por manutenção e produção (Vazquez-Anon

et al., 1994), levando a um estado de balanço energético negativo (BEN) e à ativação de vias catabólicas. Como consequência, há um aumento da lipólise no início da lactação, ou seja, um aumento na concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados (AGNE; Adewuyi et al., 2005). Concentrações plasmáticas elevadas de AGNE podem exceder a capacidade de oxidação mitocondrial no fígado, resultando na formação de corpos cetônicos, como b-hidroxibutirato (BHB), acetoacetato e acetona (Drackley et al., 2001). Tanto os AGNE quanto o BHB podem ser usados como marcadores para indicar a intensidade do BEN durante o período periparto (Chung et al., 2008).

A maioria dos distúrbios metabólicos ocorre no pós-parto (Drackley, 1999), diminuindo a produção de leite, prejudicando o desempenho reprodutivo e aumentando o risco de abate (Huzzey et al., 2007). Várias estratégias têm sido tentadas para reduzir os efeitos do BEN, incluindo suplementação com glicerol (DeFraín et al., 2004), ácido nicotínico (Pires et al., 2007), ácido cis-linoleico (Mosley et al., 2007), gordura (Moallem et al., 2007), metionina (Preynat et al., 2009), colina (Chung et al., 2009), carnitina (Carlson et al., 2007) e monensina (Duffield et al., 2008). No geral, os tratamentos atuais tiveram sucesso limitado e mais pesquisas são necessárias. Uma alternativa em potencial é o uso de injeções de butafosfan e cianocobalamina

(BTPC; vitamina B12) após o parto, que mostraram efeitos positivos até agora (Furll et al., 2010; Rollin et al., 2010).

A cianocobalamina é a forma sintética da vitamina B12. A metilmalonil-CoA mutase, uma enzima mitocondrial, envolvida na conversão de propionato em succinil-CoA, é um importante substrato gluconeogênico dependente de vitamina B12 (Kennedy et al., 1990). Um suprimento inadequado de vitamina B12, especialmente no início da lactação, poderia levar à diminuição da função da metilmalonil-CoA mutase e impedir a produção de energia a partir do propionato, levando à cetogênese aumentada no animal.

O butafosfan é um composto usado como fonte orgânica de fósforo para suplementação animal. No gado leiteiro, o conteúdo de fósforo no tecido hepático é diminuído no início da lactação (Grunberg et al., 2009). O fósforo desempenha um papel importante no metabolismo dos carboidratos hepáticos, pois vários intermediários na via gliconeogênica devem ser fosforilados. Assim, as taxas de gliconeogênese e glicólise são reguladas pela disponibilidade de fósforo (Berg et al., 2006). Além disso, o fósforo é um componente importante dos ácidos nucleicos, ATP e AMP (Cunningham, 2002), e também está implicado no metabolismo energético.

Recentemente, um estudo mostrou que vacas tratadas com BTPC ao parto e 1 dia depois tiveram menor incidência de cetose (Rollin et al., 2010). Outro estudo também demonstrou que o BTPC melhorou o estado energético de vacas leiteiras durante o período periparto com base na concentração de glicose, AGNE, BHB e colesterol (Furll et al., 2010).

O objetivo deste estudo foi testar o efeito de BTPC sobre as concentrações plasmáticas de metabólitos e sobre a produção de leite em vacas leiteiras no pós-parto. Nossos resultados indicam que a suplementação de BTPC durante os primeiros 20 dias pós-parto reduziu a gravidade do BEN e aumentou a produção de leite de maneira dose-dependente.

Material e Métodos

Bem estar animal

O Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas aprovou todos os procedimentos realizados neste experimento.

Animais, protocolo experimental e tratamentos

Para este estudo, foram utilizadas 52 vacas holandesas multíparas mantidas sob manejo de semiconfinamento (alimentados com concentrado e a pasto) em um rebanho leiteiro comercial no sul do Brasil (328.160S, 528.320E). Vacas que pariram entre dezembro de 2008 e maio de 2009 foram incluídas no estudo. As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia e receberam suplementação concentrada após cada ordenha. O concentrado foi formulado para atender às necessidades nutricionais (National Research Council – NRC; 2001) de vacas holandesas pós-parto, composto por 35% de casca de soja, 30% de sorgo, 17% de farelo de arroz, 13% de farelo de soja, 4% de sal mineralizado e 0,5% de ureia. Entre as ordenhas,

as vacas tiveram acesso *ad libitum* à água e foram mantidas sob pastejo de *Sorghum bicolor* L. Moench e *Lotus corniculatus*. Imediatamente após o parto, as vacas foram distribuídas aleatoriamente em um dos três grupos: (1) Grupo Controle (n = 16), que recebeu 10 ml de solução salina (IM; NaCl 0,9%), a cada 5 dias do parto aos 20 dias em lactação (DEL); (2) 1000 mg de butafosfan e 0,5 mg de cianocobalamina (IM, 10 ml de Catosal® B12, Bayer Health Care, São Paulo, Brasil; Grupo BTPC1, n = 18) e (3) 2000 mg de butafosfan e 1,0 mg de cianocobalamina (grupo BTPC2, n = 18). Ambos os grupos BTPC1 e BTPC2 receberam injeções IM de BTPC a cada 5 dias, desde o parto até 20 DEL.

Escore de condição corporal (ECC) e amostragem de sangue

No início (0 DEL) e no final do experimento (75 DEL), o ECC foi determinado pelo mesmo técnico, com base em uma escala de 5 pontos, onde o obeso é igual a 5 (Wildman et al., 1982). Amostras de sangue foram coletadas da veia jugular a cada 15 dias do parto até 75 DEL. As amostras foram coletadas em dois tubos vacutainerheparinizados de 10 ml (Vacutainer Systems; Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EUA), com EDTA ou 15mg de NaF e 12mg de oxalato de potássio. As amostras de sangue foram imediatamente centrifugadas (1500 x g por 15 min). O plasma dos tubos contendo EDTA foi congelado a -80°C para análise de nitrogênio de ureia no sangue, AGNE e BHB. Plasma de tubos contendo NaF foi congelado a -20°C para teste de glicose.

Análise bioquímica

As concentrações de glicose, ureia, cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), g-glutamyltransferase (GGT), aspartato de aminotransferase (AST) e colesterol, foram analisadas por ensaio enzimático colorimétrico quantificado por espectrofotômetro (FEMTO 700 Plus, Femto Ind. E Com. De Instrumentos Ltda., São Paulo, Brasil). Os reagentes foram manuseados de acordo com as instruções do fabricante (Labtest R, Lagoa Santa, Brasil). O AGNE e o BHB foram analisados por um kit comercial (Wako NEFA-HR, Wako Chemicals USA R, Richmond, EUA e Randox R, Randox Laboratories E.U.A. R, Oceanside, CA, EUA, respectivamente), segundo Ballou et al. (2009). Os coeficientes de variação foram inferiores a 10% para todos os ensaios.

Produção e composição de leite

A produção de leite foi avaliada diariamente (ALPRO R Janelas, DeLaval, Kansas City, MO, EUA) de 2 a 12 semanas após o parto, e médias semanais foram geradas para análise estatística. Amostras compostas de leite foram coletadas a cada 15 dias, de 15 a 75 DEL, para determinar concentrações de gordura, lactose e proteína por espectrofotometria IV (Bentley 20000, Bentley Instruments Inc., Chaska, MN, EUA), e cálculo dos sólidos totais.

Análise estatística

Os dados foram analisados usando o procedimento MIXED do SAS. Todas as variáveis independentes foram analisadas como medidas repetidas e as vacas dentro de cada tratamento foram consideradas como um efeito aleatório. Os modelos incluíram tratamento, vaca dentro do tratamento, tempo e interação entre tratamento e tempo. Covariáveis adicionais como número de partos, mês de parto e BCS no parto foram incluídas quando $P > 0,10$. Os efeitos da suplementação (controle vs. BTPC1 + BTPC2) e efeitos da dose (BTPC1 vs. BTPC2) foram analisados por contrastes ortogonais. Relações lineares e quadráticas entre tratamentos e variáveis independentes foram avaliadas por contrastes polinomiais ortogonais.

Resultados

A concentração de AGNE foi maior ($P = 0,0008$) no grupo Controle em comparação com os grupos tratados e teve uma diminuição linear ($P = 0,0002$) com o aumento da concentração de BTPC administrada. Os níveis de AGNE aumentaram na 2ª semana e permaneceram elevados até a 6ª semana no grupo BTPC1 e Controle (Figura 1A). A concentração de BHB foi apenas maior ($P = 0,03$) no grupo Controle em comparação com os grupos tratados, sem efeitos de dose. O pico de concentração de BHB ($P < 0,001$) foi na 2ª semana pós-parto e reduziu gradualmente até 8 semanas pós-parto (Figura 1B). O colesterol também diminuiu ($P < 0,001$) à medida que a dose administrada aumentou. Os grupos BTPC1 e Controle tiveram um aumento gradual do colesterol de 1 a 8 semanas após o parto (Figura 1). As concentrações de glicose, ureia, P, Mg, AST e GGT não foram diferentes entre os grupos ($P > 0,05$).

A produção de leite também foi linearmente afetada pelo tratamento ($P = 0,006$), sendo maior ($P = 0,005$) para os grupos tratados em comparação com o grupo controle (Tabela 1). A produção de leite atingiu o pico ($P < 0,001$) na 6ª semana pós-parto e diminuiu gradualmente nas semanas subsequentes (Figura 2). Em relação à composição do leite, foi observado um aumento linear no teor de proteína ($P = 0,003$). Para o teor de gordura e sólidos totais, foi observado um efeito quadrático da suplementação ($P = 0,04$ e $P = 0,03$; respectivamente). O teor de lactose não diferiu entre os tratamentos. O BCS das vacas variou de 2,0 a 3,5, mas não diferiu significativamente entre grupos ($P = 0,71$).

Butafosfan e cianocobalamina no gado leiteiro

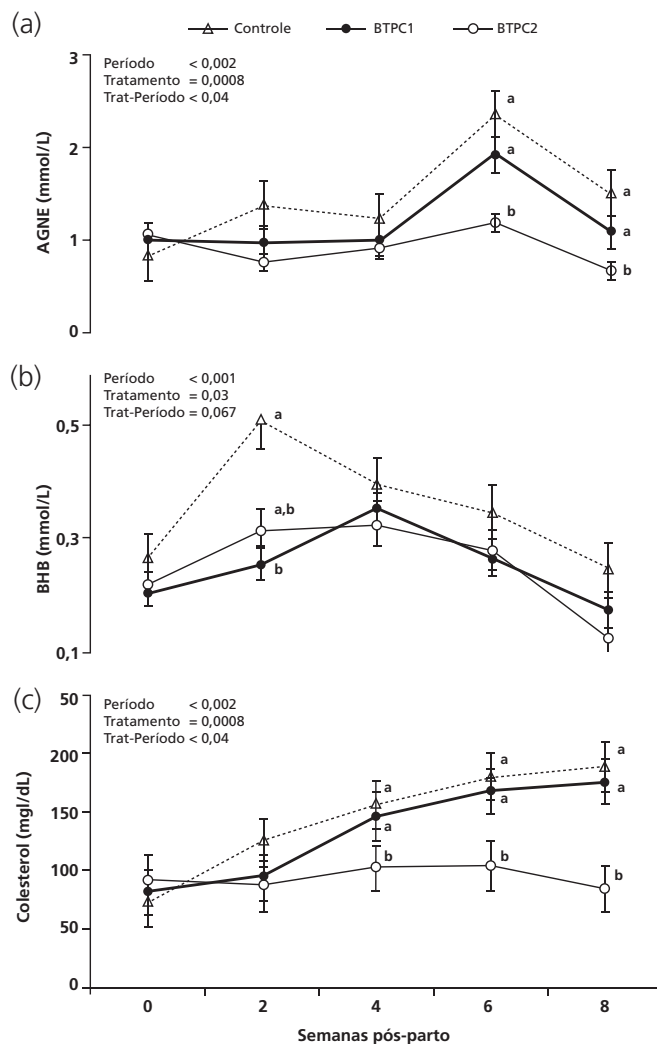


Figura 1 Concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (a) b-hidroxibutirato (BHB) (b) e colesterol (c) de vacas tratadas com placebo (Grupo Controle; n=16), 10ml de butafosfan e cianocobalamina (Grupo BTPC1; n = 18) ou 20 ml de butafosfano e cianocobalamina (grupo BTPC2; n = 18) aos 0, 5, 10, 15 e 20 dias em lactação. Sobrescritos diferentes indicam diferenças em $P < 0,05$ entre os grupos.

Tabela 1 Metabolitos plasmáticos, produção e composição de leite de vacas leiteiras no pós-parto tratadas com placebo (grupo controle, n = 16), com butafosfan+cianocobalamina (grupo BTPC1, n = 18; grupo BTPC2, n = 18).

Parâmetros	Tratamento ^b			Contrastes			
	Controle	BTPC-1	BTPC-2	Polinomial ^c		Ortogonal ^d	
				L	Q	Efeito da suplementação	Efeito da dose
Perfil bioquímico							
AGNE (mmol/l)	1,4 ± 0,07	1,1 ± 0,07	0,9±0,08	0,0002	0,88	<0,0001	0,0005
BHB (mmol/l)	0,3 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,2±0,02	0,22	0,02	0,02	0,16
Colesterol (mg/dl)	145,3 ± 5,89	135,1±5,34	94,8±5,95	<0,001	0,01	<0,001	< 0,001
AST (U/l)	33,8 ± 4,76	42,2±4,70	31,5±4,60	0,73	0,09	0,59	0,10
GGT (U/l)	39,4 ± 5,42	50,0±5,26	40,9±5,12	0,73	0,09	0,35	0,21
Ca (mg/dl)	9,6 ± 0,12	9,5±0,12	9,2±0,12	0,05	0,52	0,17	0,12
Mg (mg/dl)	2,0 ± 0,76	2,1±0,75	3,3±0,73	0,22	0,52	0,47	0,24
P (mg/dl)	5,3 ± 0,16	5,5±0,16	5,4±0,15	0,78	0,40	0,51	0,54
Glicose (mg/dl)	54,6 ± 0,87	55,7±0,85	55,7±0,83	0,32	0,59	0,26	0,97
Ureia (mg/dl)	32,0 ± 1,09	32,4±1,07	30,3±1,03	0,27	0,35	0,64	0,17
Produção e composição do leite							
Produção de leite (kg)	23,9 ± 0,52	25,3±0,54	25,9±0,46	0,006	0,48	0,005	0,41
Gordura	1,9 ± 0,25	1,4±0,26	2,1±0,27	0,64	0,04	0,53	0,04
Lactose	4,6 ± 0,03	4,6±0,03	4,5±0,03	0,10	0,23	0,40	0,06
Proteína	2,8 ± 0,02	2,9±0,02	3,0±0,02	0,003	0,73	0,01	0,08
Sólidos totais	10,3 ± 0,26	9,7±0,26	10,5±0,27	0,56	0,03	0,55	0,03

AGNE = ácidos graxos não esterificados; BHB = b-hidroxibutirato; AST = aspartato de aminotransferase; GGT = g-glutamyltransferase; Ca = cálcio; Mg = magnésio; P = fósforo; DEL = dias em lactação.

^aConcentração plasmática de AGNE, BHB, colesterol, AST, GGT, Ca, Mg, P, glicose, ureia, produção e composição do leite (gordura, lactose, proteína e sólidos totais) a cada 15 dias do parto até 75 DEL.

^bOs tratamentos consistiram em cinco injeções administradas nos dias 0, 5, 10, 15 e 20 após o parto. Controle = solução salina (n = 16); BTPC1 = 1000 mg de butafosfan e 0,5 mg de cianocobalamina (n = 18); BTPC2 = 2000 mg de butafosfan e 1,0 mg de cianocobalamina (n = 18).

^cL = efeito linear do tratamento; Q = efeito quadrático do tratamento.

^dEfeito de suplementação: Controle vs. BTPC; efeito da dose: BTPC1 vs. BTPC2.

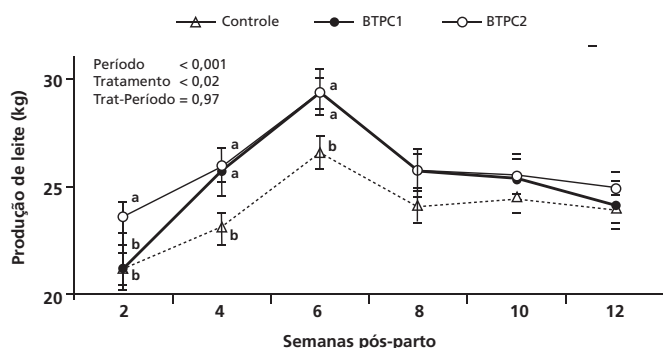


Figura 2 Produção de leite (kg) da semana 2 a 12 do pós-parto de vacas tratadas com placebo (Grupo Controle; n = 16), 10 ml de butafosfan e cianocobalamina (Grupo BTPC1; n = 18) ou 20 ml de butafosfan e cianocobalamina (Grupo BTPC2; n = 18) ao 0, 5, 10, 15 e 20 dias em lactação. Sobrescritos diferentes indicam diferenças em P < 0,05 entre os grupos.

Discussão

A terapia metafilática utilizada neste estudo, composta por cinco injeções de BTPC, reduziu a intensidade do BEN durante o período de transição, como indicado pelas menores concentrações plasmáticas de AGNE e BHB, e aumentou a produção de leite em vacas tratadas. Embora vários estudos tenham mostrado o efeito positivo do butafosfan na redução da intensidade do BEN em vacas leiteiras de alta produção durante o período de transição (Furll et al., 2010; Rollin et al., 2010), seu modo de ação ainda não está claro. O que se sabe sobre a farmacocinética desta molécula é que ela é rapidamente eliminada do organismo após a administração intravenosa, com uma meia-vida de 116 min em vacas leiteiras (EMEA, 2000).

Alguns estudos indicaram (Furll et al., 2010; Rollin et al., 2010) que a injeção de butafosfan (2 a 8 g / vaca) e cianocobalamina (1 a 4mg / vaca) em vacas leiteiras pode reduzir a intensidade do BEN em uma forma dependente

da dose com pelo menos três injeções de 2 g de butafosfano e 1 mg de cianocobalamina. Nossos resultados indicam que o uso de 1 g de butafosfan/vaca, ou seja, metade da dose mínima utilizada em outros estudos, ainda é capaz de induzir efeitos positivos sobre o BEN e a produção de leite.

Durante o período periparto de vacas leiteiras, há um aumento na concentração sérica de AGNE (Drackley, 1999; Douglas et al., 2004), que leva ao acúmulo de triacilglicerol (TAG) hepático e é prejudicial à produção de leite e ao desempenho reprodutivo (Grummer, 1993). A redução linear e dose-dependente na concentração de AGNE em vacas tratadas com BTPC pode ser atribuída à capacidade do butafosfan em melhorar a síntese de ATP (Deniz et al., 2008). Além disso, a cianocobalamina, atuando como cofator enzimático da enzima metilmalonil-CoA mutase, também pode contribuir para a redução do AGNE circulante (Kennedy et al., 1990). A cianocobalamina é uma vitamina B envolvida na síntese de metionina, um doador de metil para colina e carnitina. Estas duas substâncias participam no metabolismo e transporte de gordura no corpo (Rollin et al., 2010). Recentemente, um estudo mostrou que a suplementação de vacas leiteiras com ácido fólico e vitamina B aumentou a disponibilidade de glicose e reduziu o acúmulo de lipídios hepáticos durante o período de transição (Preynat et al., 2009).

Como dito anteriormente, as concentrações de AGNE e BHB foram reduzidas linearmente em vacas tratadas com BTPC. Isso indica que o protocolo atual pode ajudar a controlar a incidência de cetose subclínica. Está de acordo com os relatos por Lohr et al. (2006), que detectaram concentrações reduzidas de BHB em vacas que já desenvolveram cetose secundária e foram tratadas com BTPC. Além disso, a administração de 2,5 mg de butafosfan e 1,0 mg de cianocobalamina, no dia do parto e um dia depois, reduziu a incidência de cetose subclínica na primeira semana pós-parto em vacas multíparas (Rollin et al., 2010).

O presente estudo demonstrou o efeito do BTPC no metabolismo lipídico e na capacidade do fígado para metabolizar AGNE e reduzir a formação de BHB. A redução na concentração de colesterol foi dose dependente para vacas tratadas com BTPC e segue a mesma tendência, possivelmente porque o colesterol pode ser transportado com TAG na corrente sanguínea, e porque a secreção hepática de lipoproteínas está associada à conversão de NEFA em TAG. Assim, altas concentrações de AGNE aumentam a secreção de lipoproteínas e, consequentemente, de colesterol circulante (Grummer, 1993). O presente estudo demonstrou que a dose de 2000mg de butafosfan e 1mg de cianocobalamina pode manter a concentração sérica de colesterol estável durante o período pós-parto precoce.

Vacas tratadas com BTPC tiveram um aumento linear na produção de leite. Esse resultado pode ser devido à redução detectada na intensidade do BEN que, por sua vez, pode estar associada a um aumento do CMS e, consequentemente, ao aumento da produção de leite. Durante o BEN intenso, quando concentrações séricas elevadas de AGNE são detectadas, uma liberação excessiva de citocinas pode ocorrer e inibir a produção de leite e

CMS (Allen et al., 2005). Assim, mais estudos são necessários para indicar se o BTPC pode aumentar o CMS ou se eles têm um efeito direto na produção de leite.

Em resumo, os resultados deste estudo indicam que a administração metafilática de BTPC após o parto aumentou a produção de leite e reduziu a intensidade de BEN em vacas Holandesas, reduzindo as concentrações plasmáticas de AGNE e BHB.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Bayer Saúde Animal, pelo apoio financeiro.

Referências

- Adewuyi AA, Gruys E and van Eerdenburg FJ 2005. Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. *Veterinary Quarterly* 27, 117–126.
- Allen MS, Bradford BJ and Harvatine KJ 2005. The cow as a model to study food intake regulation. *Annual Review of Nutrition* 25, 523–547.
- Ballou MA, Gomes RC, Juchem SO and DePeters EJ 2009. Effects of dietary supplemental fish oil during the peripartum period on blood metabolites and hepatic fatty acid compositions and total triacylglycerol concentrations of multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 92, 657–669.
- Berg JM, Tymoczko JL and Stryer L 2006. *Glycolysis and gluconeogenesis*. In *Biochemistry*, 6th edition (ed. JM Berg, JL Tymoczko and L Stryer), pp. 433–474. W. H. Freeman and Co., New York, NY.
- Carlson DB, McFadden JW, D'Angelo A, Woodworth JC and Drackley JK 2007. Dietary L-carnitine affects periparturient nutrient metabolism and lactation in multiparous cows. *Journal of Dairy Science* 90, 3422–3441.
- Chung YH, Pickett MM, Cassidy TW and Varga GA 2008. Effects of prepartum dietary carbohydrate source and monensin on periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. *Journal of Dairy Science* 91, 2744–2758.
- Chung YH, Brown NE, Martinez CM, Cassidy TW and Varga GA 2009. Effects of rumen-protected choline and dry propylene glycol on feed intake and blood parameters for Holstein dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science* 92, 2729–2736.
- Cunningham JG 2002. *Textbook of veterinary physiology*, 3rd edition. W.B. Saunders, Philadelphia, PA.
- DeFraen JM, Hippen AR, Kalscheur KF and Jardon PW 2004. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. *Journal of Dairy Science* 87, 4195–4206.
- Deniz A, Westphal B and Illing C 2008. Effects of prepartum metaphylactic treatment with Catosal on postpartum metabolic functions in cows. Oral and Poster Presentations, Proceedings of the XXV World Buiatrics Congress, Budapest, Hungary, pp. 26–31.
- Douglas GN, Overton TR, Bateman HG II and Drackley JK 2004. Periparturient metabolism and production of Holstein cows fed diets supplemented with fat during the dry period. *Journal of Dairy Science* 87, 4210–4220.
- Drackley JK 1999. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science* 82, 2259–2273.
- Drackley JK, Overton TR and Dowlen HH 2001. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science* 84, E100–E112.
- Duffield TF, Rabiee AR and Lean IJ 2008. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. *Journal of Dairy Science* 91, 1334–1346.
- European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA) 2000.

- Veterinary Medicines and Information Technology Unit. EMEA/MRL/734/00-FINAL, p 1–2. EMEA, London, UK.
- Furll M, Deniz A, Westphal B, Illing C and Constable PD 2010. Effect of multiple intravenous injections of butaphosphan and cyanocobalamin on the metabolism of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93, 4155–4164.
- Goff JP and Horst RL 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science* 80, 1260–1268.
- Grummer RR 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76, 3882–3896.
- Grunberg W, Staufienbiel R, Constable PD, Dann HM, Morin DE and Drackley JK 2009. Liver phosphorus content in Holstein–Friesian cows during the transition period. *Journal of Dairy Science* 92, 2106–2117.
- Huzzey JM, Veira DM, Weary DM and von Keyserlingk MA 2007. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *Journal of Dairy Science* 90, 3220–3233.
- Kennedy DG, Cannavan A, Molloy A, O'Harte F, Taylor SM, Kennedy S and Blanchflower WJ 1990. Methylmalonyl-CoA mutase (EC 5.4.99.2) and methionine synthetase (EC 2.1.1.13) in the tissues of cobalt-vitamin B12 deficient sheep. *British Journal of Nutrition* 64, 721–732.
- Lohr B, Brunner B, Janowitz H, Hummel M, Seeger T, Weber I, Wittek T, Schmidt B and Hellmann K 2006. Efficacy of CatosalR for the treatment of ketosis in cows with left abomasal displacement. *Tiera" rztl Umschau* 61, 187–190.
- Moallem U, Katz M, Arieli A and Lehrer H 2007. Effects of peripartum propylene glycol or fats differing in fatty acid profiles on feed intake, production, and plasma metabolites in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90, 3846–3856.
- Mosley SA, Shahin AM, Williams J, McGuire MA and McGuire MK 2007. Supplemental conjugated linoleic acid consumption does not influence milk macronutrient contents in all healthy lactating women. *Lipids* 42, 723–729.
- National Research Council (NRC) 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th edition. National Academy Press, Washington, DC.
- Pires JA, Pescara JB and Grummer RR 2007. Reduction of plasma NEFA concentration by nicotinic acid enhances the response to insulin in feedrestricted Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 90, 4635–4642.
- Preynat A, Lapierre H, Thivierge MC, Palin MF, Matte JJ, Desrochers A and Girard CL 2009. Effects of supplements of folic acid, vitamin B12, and rumen-protected methionine on whole body metabolism of methionine and glucose in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92, 677–689.
- Rollin E, Berghaus RD, Rapnicki P, Godden SM and Overton MW 2010. The effect of injectable butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum serum beta-hydroxybutyrate, calcium, and phosphorus concentrations in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 93, 978–987.
- Vazquez-Anon M, Bertics S, Luck M, Grummer RR and Pinheiro J 1994. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 77, 1521–1528.
- Wildman EE, Jones GM, Wagner PE, Boman RL, Troutt JR and Lesch TN 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of Dairy Science* 65, 495–501.