

## Utilización de las sales aniónicas en la prevención de la paresia puerperal hipocalcémica

Use of anionic salts for the prevention of milk fever

L Espino, M L Suárez, G Santamarina, A Goicoa, L E Fidalgo.\*

### SUMMARY

Milk fever is one of the most common metabolic diseases of dairy cattle. Of the various methods used in attempting to control the disease, most progress has been made in terms of dietary management. Many authors have shown that adding anionic salts to a ration has dramatic effects on the incidence of milk fever. Anionic salts are added to the diet of dry cows 2-3 weeks before calving in order to achieve metabolic acidosis. The exact mechanism of how dietary anions work is still unresolved. Previous reports suggested that metabolic acidosis induced by anionic salts increases tissue responsiveness to parathyroid hormone, ameliorates the absorption of calcium in the intestine and enhances calcium resorption from bone. In this work, we review the concept of dietary cation-anion difference (DCAD) with special emphasis on the physiologic effects this can have on acid-base status, bone resorption, renal production of  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  and resorption of calcium, and intestinal absorption of calcium in cows.

*Palabras clave:* sales aniónicas, DCAD, fiebre de leche.

*Key words:* anionic salts, DCAD, milk fever.

### INTRODUCCION

La paresia puerperal hipocalcémica o fiebre de leche es una enfermedad metabólica que en su forma clásica afecta a la vaca con insuficiente movilización de calcio entre las 24 horas previas al parto y 72 horas posparto. Es una de las patologías metabólicas más frecuentes en vacas lecheras y aunque la incidencia varía mucho según los rebaños, se estima que en Estados Unidos afecta entre un 5-10% de los animales generando pérdidas económicas muy importantes (Howard y Smith 1999). La enfermedad es de difícil prevención, pero de las diferentes medidas profilácticas empleadas para reducir su incidencia, especialmente la manipulación de la dieta, en la que los cambios en el diferencial catión-anión (DCAD) han obtenido buenos resultados (Block 1984, Goff y Horst 1998, Schonewille y col 1999).

La posibilidad de acidificar la ración para prevenir la fiebre de leche fue evaluada por primera vez en Noruega a principios de los años 70 (Ender y col 1971). Estos investigadores consiguieron reducir de forma significativa el número de animales que desarrollaban hipocalcemia en el posparto cuando añadían ácidos inorgánicos (mezcla de ácido sulfúrico y clorhídrico) a la ración de preparto. Pocos años después, Dishington (1975) utilizó por pri-

mera vez las sales aniónicas en la alimentación de vacas secas y destacó que el contenido de sodio, potasio, cloro y azufre de la ración era un factor decisivo para la inducción y prevención de la fiebre de leche. A pesar de los buenos resultados obtenidos en estos experimentos, el empleo de las sales aniónicas permaneció en el olvido durante un largo período de tiempo, debido en parte al desconocimiento del posible mecanismo de acción y también porque en esa época se descubrieron y aplicaron diferentes metabolitos derivados de la vitamina D (Sachs y col 1977, Morrissey y Cohn 1978). En la actualidad, la vitamina D y sus metabolitos han caído en desuso debido, por una parte, a la necesidad de predecir con exactitud la fecha del parto para garantizar su efectividad, y por otra, a que dosis altas de esta hormona pueden provocar diversas complicaciones, entre ellas destaca la mineralización de tejidos blandos (Goff 2000).

Block (1984) observó una reducción del 47% en la incidencia de la fiebre de leche en vacas que consumían sales aniónicas reavivando la investigación en este campo. A partir de ese momento, y hasta la actualidad, son numerosos los trabajos en los que se valoraron las ventajas e inconvenientes de la utilización de estas sales en la ración de las vacas secas (Tucker y col 1992, Horst y col 1997, Mellau y col 2002).

La mayoría de estos trabajos se han llevado a cabo en Estados Unidos y Europa, con un sistema de producción lechera en el que los concentrados representan una proporción muy alta de la ración (Goff y col 1991, Howard y Smith 1999, Pehrson y col 1999, Schonewille y col 1999).

Aceptado: 07.09.04.

\* Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias, Universidad de Santiago de Compostela, Facultad de Veterinaria de Lugo, Campus Universitario s/n, 27002 Lugo, España.

Sin embargo, experimentos recientes, desarrollados en Australia, han demostrado la eficacia de las sales aniónicas en la prevención de la fiebre de la leche en sistemas de producción basados en el consumo de pasto y ensilado y un pequeño suplemento de cereales (Roche y col 2003). Si bien las sales aniónicas podrían ser una estrategia para reducir la incidencia de la paresia puerperal en rebaños en pastoreo, no está recomendada su aplicación en rebaños que consuman pastos con un alto contenido de potasio, ya que en esta situación se necesitarían dosis muy altas de sales, que van a tener efectos negativos en el consumo de alimento, existiendo otras alternativas, entre las que destaca, el empleo de raciones con un bajo contenido de calcio (Goff y Horst 1997).

A pesar de los trabajos publicados y del interés que están despertando en medicina humana los efectos del contenido de iones de la dieta en el metabolismo del calcio (Maurer y col 2003), todavía se desconoce con exactitud cuál es el mecanismo de acción de las sales aniónicas. El objetivo de este trabajo es revisar las diferentes hipótesis sobre el modo de acción de estas sales, lo que puede ser de gran utilidad para comprender, y evaluar sus efectos, y también describir datos recientes de nuestra investigación en este campo.

## TEORIA DE IONES FUERTES (PRINCIPIO DE ELECTRONEUTRALIDAD)

La utilización de las sales aniónicas se basa en la teoría de iones fuertes (Stewart 1983). Los postulados básicos en los que se asienta esta teoría son los siguientes:

- El número de moles de partículas con carga positiva (cationes) en cualquier solución debe ser igual al número de moles de partículas con carga negativa (aniones) presentes en la misma:  $n^{\circ}$  cationes =  $n^{\circ}$  aniones.
- El producto de la concentración de iones hidrógeno e iones hidroxilo presentes en una solución debe ser igual a la constante de disociación del agua.  $(H^+) \times (OH^-) = 1 \times 10^{-14}$ .

Además, ambas ecuaciones deben de cumplirse al mismo tiempo para mantener la electroneutralidad en la solución. Teniendo en cuenta que el pH de una solución es el logaritmo negativo de la concentración de protones ( $pH = -\log (H^+)$ ), el empleo de esta teoría implica que el pH de dicha solución es dependiente de la diferencia entre el número de cationes y aniones presentes en la misma. De este modo, si se incrementa el contenido de cationes en el plasma, la concentración de protones debe disminuir y la de iones hidroxilo aumentar para mantener la electroneutralidad y, en esta situación, el plasma se vuelve alcalino. En el caso contrario, la adición de aniones produce una elevación de la concentración de protones y un descenso en la de iones hidroxilo y por lo tanto dismi-

nuye el pH plasmático. De lo comentado con anterioridad, se deduce que la diferencia en el número de equivalentes de aniones y cationes de la dieta (DCAD) determina el estado ácido-base de un individuo.

Con las ventajas e inconvenientes que posee cada una de ellas, y que no son objeto del presente estudio, las dos ecuaciones que se emplean con mayor frecuencia en el cálculo del diferencial catión-anión de la dieta (DCAD) son las siguientes:

- $DCAD = (Na^+ + K^+) - (Cl^- + SO_4^{-2})$  mEq/kgMS (Block 1984).
- $DCAD = (Na^+ + K^+ + 0.15 Ca^{+2} + 0.15 Mg^{+2}) - (Cl^- + 0.6 SO_4^{-2} + 0.5 P^{-2})$  mEq/kgMS (Goff y Horst 2003).

La mayoría de los trabajos publicados coinciden en que los animales alimentados con un DCAD negativo muestran una reducción del pH sanguíneo ( $pH < 7,45$ ) acompañada de una disminución del pH urinario y en menor grado de la  $pCO_2$ , hallazgos típicos de un estado de acidosis metabólica con compensación respiratoria parcial (Joyce y col 1997, Bailey y Pablo 1998, Goff y Horst 1998, Pehrson y col 1999, Schonewille y col 1999). En todos estos experimentos, los mecanismos homeostáticos fueron capaces de amortiguar la acidosis metabólica y mantener el pH y la  $pCO_2$  sanguíneos dentro del rango fisiológico. Desde el punto de vista práctico, una de las aportaciones más interesantes de estos trabajos es el descubrimiento de la existencia de una fuerte correlación entre el pH urinario y la excreción neta de ácido ( $r^2 = 0,95$ ;  $P < 0,001$ ) en las vacas que consumían sales aniónicas (Vagnoni y Oetzel 1998). Por ello, la medición del pH urinario es una herramienta útil para evaluar la efectividad de las sales aniónicas. Se recomienda que el pH urinario se encuentre entre 6,2 y 6,8 para que las sales sean efectivas en la prevención de la fiebre de leche y que no baje de 5,5, ya que en este caso pueden aparecer signos clínicos de acidosis metabólica (Horst y col 1997, Goff y Horst 2003).

Las modificaciones en el estado ácido-base, provocadas por las sales aniónicas, podrían explicar la mayoría de los efectos beneficiosos atribuidos a estas sales en la homeostasis cálcica actuando sobre diferentes tejidos, principalmente, hueso, intestino y riñón.

### 1. HUESO

En el hueso, la acidosis metabólica favorece la movilización de calcio mediante tres mecanismos:

1.1. Incrementa la sensibilidad de las células óseas a la acción de la hormona paratiroidea (PTH) (Abu Damir y col 1994, Gant y col 1998, Espino y col 2003). Diferentes investigadores han comprobado que con un pH sanguíneo en torno a 7,35, la PTH y su receptor, localizado en la

superficie de las células renales y óseas, interactúan como una unión estrecha (“llave-cerradura”) permitiendo que la actividad de esta hormona sea máxima. Sin embargo, cuando aumenta el pH sanguíneo (7,45) cambia la conformación estructural del receptor y la unión no es tan eficaz (Goff 2000). En este sentido, en estudios previos *in vitro* se ha podido demostrar que la alcalosis metabólica reduce la reabsorción ósea inducida por la PTH (Beck y Webster 1976, Martín y col 1980).

1.2. Estimula la liberación de cationes (principalmente calcio, sodio y potasio) para intentar mantener la homeostasis ácido-base (Goff y Horst 1998). Así, en medicina humana se ha comprobado que el incremento de la osteoporosis con la edad puede ser debido, en parte, a la utilización a largo plazo de la capacidad tampón de las sales básicas del hueso (Bushinsky 1989).

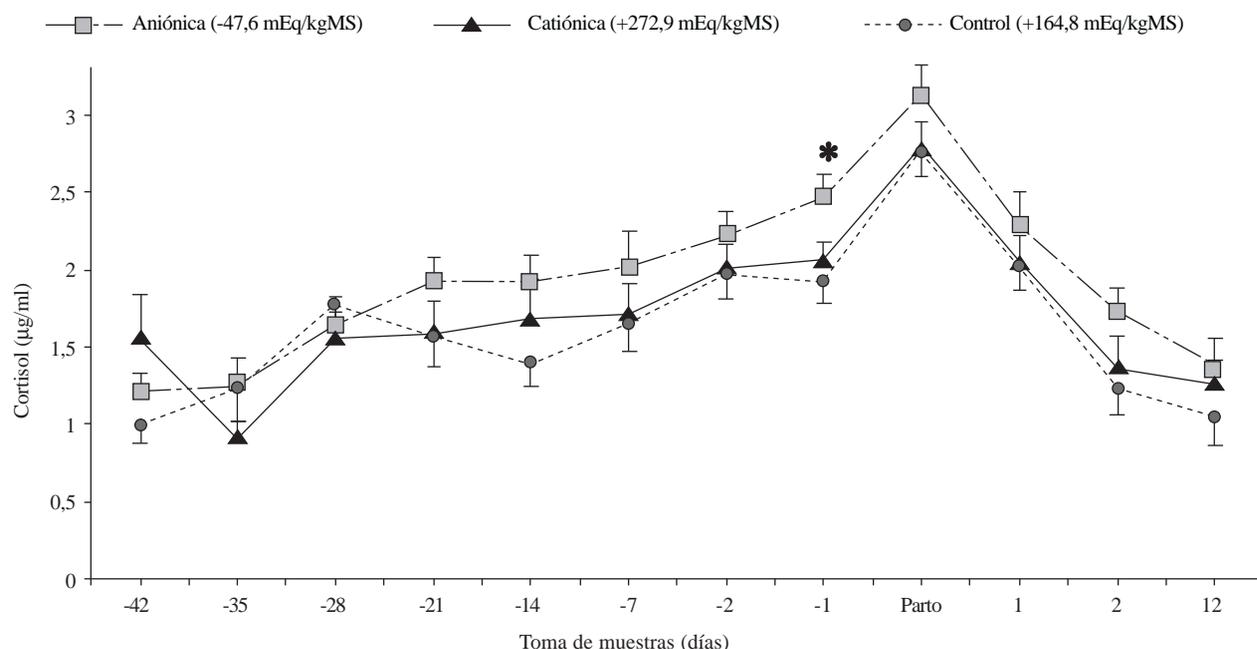
1.3. Incremento de la secreción de cortisol, hormona que limita la neoformación y favorece la resorción ósea (Maurer y col 2003). La concentración de cortisol está incrementada en pacientes con acidosis metabólica ya que esta hormona participa en la amoniogénesis renal que está aumentada como respuesta a este desequilibrio ácido-base (May y col 1986). Recientemente, se ha podido comprobar que personas que consumen una dieta acidificante durante un período prolongado, muestran una acidosis metabólica leve acompañada de una elevación de la concentración plasmática de cortisol a la que se le atribuye el

incremento de la liberación de calcio óseo observado en estas personas (Maurer y col 2003). Este mecanismo debería ser evaluado en el futuro en animales a los que se les administran sales aniónicas, aunque en estudios preliminares realizados por los autores, la acidosis metabólica inducida por las sales aniónicas no provocó un cambio significativo en la secreción de cortisol (figura 1) (Espino 2003).

## 2. INTESTINO

Aunque la mayoría de los trabajos muestran resultados que los animales alimentados con sales aniónicas tienen una mayor absorción de calcio desde el tracto gastrointestinal, no existe consenso a la hora de establecer si una dieta rica en aniones puede mejorar la absorción de calcio activa y/o por difusión facilitada (Takagi y Block 1991, Goff y Horst 1998, Pehrson y col 1999).

En diferentes experimentos, se afirma que la dieta acidificante reduce el pH intestinal favoreciendo la disolución de las sales de calcio y, por lo tanto, su absorción pasiva, sin la participación del calcitriol (Dishington 1975, Lomba y col 1978, Takagi y Block 1991, Joyce y col 1997). Sin embargo, en otras investigaciones se han detectado aumentos significativos en la concentración sérica de calcitriol en los animales que consumían las sales aniónicas, lo que justificaría que la absorción intestinal activa de calcio estuviese incrementada (Abu Damir y col 1994, Phillippo y col 1994).



**Figura 1.** Variaciones en los niveles plasmáticos de cortisol (media  $\pm$  desviación estándar) en ovejas que recibían la dieta aniónica, catiónica o control antes y después del parto (\* $P < 0,05$ ; entre tratamientos).

Changes in plasma cortisol concentrations (mean  $\pm$  standard deviation) in sheep given anionic, control or cationic diets before and after parturition (\* $P < 0.05$ ; between treatments).

Otro dato interesante sobre la acción de las sales aniónicas es que las vacas alimentadas con estas sales muestran un aumento en el número de receptores para la vitamina D en los enterocitos (Goff y col 1995). Este hecho implica que estos animales van a mostrar una mayor respuesta al calcitriol. Si bien no se conocen con exactitud todos los factores que controlan la síntesis y expresión de estos receptores, se ha comprobado que los glucocorticoides, endógenos y exógenos, aumentan su síntesis en diferentes tejidos (Midorikawa y col 1999, Akeno y col 2000). Como se señalaba en nuestro estudio pertinente al hueso (Espino 2003), en los animales alimentados con sales aniónicas sólo se observa un leve incremento en la secreción de cortisol; sería interesante confirmar si este leve incremento se acompaña o no de un aumento en el número de receptores para la vitamina D, ya que este dato nos permitiría establecer con más precisión la forma en que las sales aniónicas mejoran la absorción intestinal de calcio.

### 3. RIÑÓN

Dos son las respuestas provocadas por el consumo de una dieta con un DCAD negativo en el riñón:

3.1. Aumenta la sensibilidad de las células renales a la acción de la PTH. Este hecho se traduce en un aumento de la actividad de la 1- $\alpha$ -hidroxilasa renal, enzima que regula la síntesis del 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> (calcitriol), y, en consecuencia, una mayor producción de calcitriol por unidad de PTH (Abu Damir y col 1994, Phillip y col 1994, Van Dijk y Lourens 2001).

3.2. Produce hiper calciuria. Este incremento de la excreción urinaria de calcio tiene 3 orígenes:

3.2.1. Respuesta a la acidosis metabólica (Oetzel y col 1988). En un estado de acidosis metabólica, la respuesta renal consiste en un aumento de la reabsorción de bicarbonato; teniendo en cuenta que la reabsorción tubular de calcio está correlacionada de forma negativa con la de bicarbonato, el incremento de la reabsorción de bicarbonato se acompaña de una mayor excreción de calcio en orina (Oetzel y col 1988).

3.2.2. Interacción con el azufre de la dieta (Whiting y Draper 1981). Todas las sales aniónicas producen hiper calciuria, pero las sales con azufre son las que provocan la mayor excreción de calcio (Oetzel y col 1991). Ello se debe a que el anión sulfato tiene una reabsorción renal limitada y forma complejos insolubles con el calcio presente en el filtrado glomerular, lo que acrecienta la excreción urinaria de calcio en forma de sulfato cálcico (Whiting y Draper 1981).

3.2.3. Mayor disponibilidad de calcio (Tucker y col 1992, Schonewille y col 1999), los que atribuyen a que la hiper calciuria refleja la mayor disponibilidad

de calcio por aumento de la absorción intestinal y reabsorción ósea.

Sobre la hiper calciuria, en las vacas que consumían sales aniónicas, Schonewille y col (1999) pudieron demostrar que en momentos donde existía una gran demanda de calcio (Ej. inicio de lactación), el calcio del filtrado glomerular (4-5 gramos/día) se reabsorbía por completo, y podría ser utilizado para las diferentes funciones metabólicas.

Además, la acidosis metabólica también tiene una acción directa sobre la concentración sérica de calcio iónico (Joyce y col 1997, Mellau y col 2002, Espino y col 2003), ya que existe una competición entre los iones hidrógeno y el calcio por los puntos de unión a las proteínas plasmáticas, por ello cuando se eleva la tasa de protones se favorece la disociación del calcio de las proteínas plasmáticas, con el correspondiente aumento de la fracción iónica de este mineral que es la que posee actividad biológica.

### SALES ANIONICAS

Las sales aniónicas son ricas en aniones fijos, no metabolizables a formas más sencillas, principalmente cloro y azufre, en relación a los cationes como sodio y potasio (Gant y col 1998). Las características de las sales aniónicas que se utilizan con mayor frecuencia en la prevención de la paresia puerperal hipocalcémica se resumen en el cuadro 1. Estas sales tienen un poder acidificante similar e intensifican la excreción urinaria de calcio de una forma equivalente (Oetzel y col 1991). En general, las sales de calcio y magnesio son más palatables que las de amonio. Aunque no aparece mencionada en el cuadro 1, el sulfato de aluminio (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>) fue la primera sal utilizada para reducir el DCAD (Dishington 1975). Un inconveniente de esta sal es que la ingestión en grandes cantidades de aluminio (> 2000 ppm) va a reducir el consumo de alimento además de interferir con la absorción intestinal de fósforo (Block 1984).

1. *Dosificación.* La administración de las sales aniónicas tiene como objetivo conseguir una ración de parto con un DCAD entre -50 y -150 mEq/kgMS (Howard y Smith 1999). Si bien se han publicado estudios donde se han utilizado dietas con un DCAD desde -4 mEq/kgMS (Van Mosel y col 1993) hasta -302 mEq/kgMS (Wang y Beede 1992), en la experiencia de los autores un DCAD entre -50 y -100 mEq/kgMS es eficaz para reducir la incidencia de la fiebre de leche. No es recomendable emplear valores inferiores a -50 mEq/kgMS ya que no garantizan una acidificación adecuada, y tampoco valores superiores a -150 mEq/kgMS ya que no mejoran la efectividad de las sales, incrementan el costo y favorecen la aparición de los efectos negativos de las sales aniónicas, principalmente el descenso del consumo de alimento y la aparición de acidosis metabólica.

**Cuadro 1.** Características químicas de las sales aniónicas (Modificada de Oetzel y col 1993).

Chemical properties of anionic salts (Modified from Oetzel et al 1993).

Sales aniónicas	MgCl <sub>2</sub> -6H <sub>2</sub> O	MgSO <sub>4</sub> -7H <sub>2</sub> O	CaCl <sub>2</sub> -2H <sub>2</sub> O	CaSO <sub>4</sub> -2H <sub>2</sub> O	NH <sub>4</sub> Cl	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Peso molecular (g)	203,3	246,5	147	172,2	53,5	132,1
Peso equivalente (g)	101,7	123,3	73,5	86,1	53,5	66,1
Magnesio (%)	11,96	9,86				
Calcio (%)			27,26	23,28		
Nitrógeno no proteico (%)					26,2	21,2
Cloro (%)	34,87		48,22		66,26	
Azufre (%)		13,01		18,62		24,26
Reducción pH urinario	↓↓↓	↓	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓	↓↓

Antes de utilizar las sales aniónicas es recomendable determinar el DCAD de la ración preparada, para decidir si el empleo de dichas sales va a ser de utilidad y calcular la dosis necesaria. De este modo, en rebaños con una ración de parto con un DCAD > + 250 mEq/kgMS no es aconsejable utilizar sales aniónicas y se deberían recomendar otras medidas profilácticas para reducir la incidencia de la fiebre de leche (Horst y col 1997). Esta situación se observa con frecuencia en rebaños en pastoreo, especialmente en regiones donde se emplean fertilizantes con un alto contenido de potasio (Goff y Horst 1997). A pesar de lo comentado con anterioridad, hay un trabajo que plantea la posibilidad de emplear una dosis estándar de sales aniónicas para cualquier rebaño, sin conocer el DCAD de la ración de parto (Shaver y Oetzel 1990).

2. *Efectos beneficiosos.* La administración de una ración suplementada con sales aniónicas tiene un efecto beneficioso sobre la homeostasis cálcica en el parto. Este hecho se traduce en la reducción del número de casos de fiebre de leche e hipocalcemia subclínica (Block 1984, Gant y col 1998). Además, también se han detectado mejoras sustanciales en la eficiencia reproductiva ya que incrementó en un 17% la tasa de concepción y disminuyó hasta en 14 días el período de espera (Wang y Beede 1992). Las sales aniónicas no tienen ningún efecto sobre la incidencia de otras patologías del parto, tales como, desplazamiento de abomaso, mastitis, metritis y retención de placenta (Goff y col 1997, Joyce y col 1997).

3. *Efectos adversos.* El efecto negativo más importante de las sales aniónicas es la reducción de la ingesta de alimento debido a su mala palatabilidad, en especial la de las sales de amonio (Vagnoni y Oetzel 1998). Para intentar solucionar esta limitación se diseñaron diferentes protocolos para la administración de las sales, entre los que

se podrían destacar: mezclar las sales con el concentrado (Oetzel y Barmore 1993), incluir las sales en una ración totalmente mezclada (Phillipo y col 1994) y administrar las sales en un bolo ruminal (Gant y col 1998). En nuestra experiencia las dos medidas más efectivas para minimizar el impacto de las sales aniónicas en la ingesta de materia seca son:

- Mezclar las sales con toda la ración y si es posible incorporar alimentos muy palatables como silo de maíz o melazas para enmascarar su sabor. Además, es recomendable usar una combinación de varias sales para disminuir los posibles efectos tóxicos individuales de cada sal (Oetzel 1993).
- En ningún caso añadir más de 3 Eq/día de sales aniónicas a la ración (De Blas y col 1999). De nuevo conviene recordar que las sales aniónicas no presentan ninguna ventaja cuando se emplean en dietas con un DCAD positivo alto, circunstancia que se observa con frecuencia cuando se emplean forrajes con un alto contenido en potasio.

El empleo de las sales aniónicas se ha asociado en algunos trabajos a un descenso en la producción y calidad de la leche (West y col 1992, Tucker y col 1992, Delaquis y Block 1995). Sobre esto existe discrepancia, ya que en otros experimentos se ha detectado un aumento significativo en la producción láctea en el grupo de vacas que consumían la ración con sales aniónicas (Block 1984, Wang y Beede 1992).

Otro de los posibles efectos adversos de las sales aniónicas es el desarrollo de una acidosis metabólica severa cuando se administra una dosis alta de sales. Esta situación sólo se ha descrito cuando los animales son forzados a ingerir las sales (Ej: administración de un bolo ruminal) (Gant y col 1998).

La eficacia de la reducción del DCAD de la ración de parto en la prevención de la fiebre de leche ha sido probada en múltiples estudios. Aunque dichas sales se han utilizado con éxito en vacas alimentadas en pastoreo, no se deberían emplear cuando los animales consuman pastos con altos niveles de potasio y una cantidad escasa de concentrados. A pesar de la complejidad y los conocimientos insuficientes sobre los cambios precisos inducidos por las dietas ricas en aniones sobre la homeostasis ácido-base y cálcica, es necesario conocer sus posibles mecanismos de acción, por su implicación en la prevención de enfermedades como la fiebre de leche, de urolitos de oxalato cálcico en ruminantes, inducción de osteoporosis en personas y quizás, en un futuro próximo, su empleo en la nutrición de pequeños animales para reducir la incidencia de determinadas urolitiasis.

## RESUMEN

La fiebre de leche es una de las enfermedades metabólicas más frecuentes en el ganado bovino de leche. De los diferentes métodos empleados para la prevención de esta enfermedad, el manejo dietético es el que más ha evolucionado. Muchos investigadores han comprobado que la adición de sales aniónicas a la ración disminuye la incidencia de la fiebre de leche. Las sales aniónicas se incluyen en la dieta de las vacas secas durante 2-3 semanas antes del parto para inducir un estado de acidosis metabólica leve. El mecanismo de acción preciso de los aniones de la dieta no está bien establecido. En estudios previos se ha sugerido que la acidosis metabólica inducida por las sales aniónicas incrementa la respuesta de los tejidos a la hormona paratiroidea, mejora la absorción intestinal de calcio y aumenta la reabsorción ósea de calcio. En este trabajo, revisamos el concepto de diferencial catión-anión de la dieta, con especial énfasis en los efectos fisiológicos que éste puede ejercer en el estado ácido-base, reabsorción ósea, producción renal de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , reabsorción renal de calcio y absorción intestinal de calcio en vacas.

## REFERENCIAS

- Abu-Damir H, M Phillippo, BH Thorp, JS Milne, L Dick, IM Nevison. 1994. Effects of dietary acidity on calcium balance and mobilization, bone morphology and  $1,25$  dihydroxyvitamin D in prepartal dairy cows. *Res Vet Sci* 56, 310-318.
- Akeno N, A Matsunuma, T Maeda, T Kawane, N Horiuchi. 2000. Regulation of vitamin-D-1-alpha-hydroxylase and 24-hydroxylase expression by dexamethasone in mouse kidney. *J Endocrinol* 164, 339-348.
- Bailey JE, LS Pablo. 1998. Practical approach to acid-base disorders. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 28, 645-661.
- Beck N, SK Webster. 1976. Effects of acute metabolic acidosis on parathyroid hormone action and calcium mobilization. *Am J Physiol* 230, 127-131.
- Block E. 1984. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *J Dairy Sci* 67, 2939-2948.
- Bushinsky DA. 1989. Net calcium efflux from live bone during chronic metabolic, but not respiratory, acidosis. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 256, F836-F842.
- De Blas C, C Resch, J Amor, P García. 1999. Utilización de sales aniónicas en dietas para vacas secas. *Prod Anim* 141, 48-58.
- Delaquis AM, E Block. 1995. Dietary cation-anion difference, acid-base status, mineral metabolism, renal function, and milk production of lactating cows. *J Dairy Sci* 78, 2259-2284.
- Dishington IW. 1975. Prevention of milk fever (hypocalcemic paresis puerperalis) by dietary salt supplements. *Acta Vet Scand* 16, 503-512.
- Ender F, IW Dishington, A Helgebostad. 1971. Calcium balance studies in dairy cows under experimental induction and prevention of hypocalcaemic paresis puerperalis. The solution of the aetiology and the prevention of milk fever by dietary means. *Z Tierphysiol Tierernaehr Futtermittelkd* 28, 233-256.
- Espino L. 2003. Efectos de la diferencia de cationes y aniones de la dieta en la homeostasis ácido-base y mineral y en la morfología ósea en ovejas. Tesis, M. V., Universidad de Santiago de Compostela, Facultad de Veterinaria, Lugo, España.
- Espino L, F Guerrero, ML Suárez, G Santamarina, A Goicoa, LE Fidalgo. 2003. Long-term effects of dietary anion-cation balance on acid-base status and bone morphology in reproducing ewes. *J Vet Med A* 50, 488-495.
- Gant RG, W Sánchez, RL Kincaid. 1998. Effect of anionic salts on selenium metabolism in nonlactating, pregnant dairy cows. *J Dairy Sci* 81, 1637-1642.
- Goff JP. 2000. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet Clin North Am Food Pract* 16, 319-337.
- Goff JP, RL Horst. 1997. Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows. *J Dairy Sci* 80, 176-186.
- Goff JP, RL Horst. 1998. Use of hydrochloric acid as a source of anions for prevention of milk fever. *J Dairy Sci* 81, 284-288.
- Goff JP, RL Horst. 2003. Role of acid-base physiology on the pathogenesis of parturient hypocalcaemia (Milk fever)-the DCAD theory in principal and practice. *Acta Vet Scand* 97, 51-56.
- Goff JP, RL Horst, FJ Mueller, JK Miller, GA Kiess, HH Dowlen. 1991. Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases  $1,25$ -dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. *J Dairy Sci* 74, 3863-3871.
- Goff JP, TA Reindhart, RL Horst. 1995. Milk fever and dietary cation-anion balance effects on concentration of vitamin D receptor in tissue of periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 78, 2388-2394.
- Horst RL, JP Goff, AT Reinhardt, DR Buxton. 1997. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J Dairy Sci* 80, 1269-1280.
- Howard JL, RA Smith. 1999. *Current veterinary therapy 4: food animal practice*. 4<sup>th</sup> ed. W.B Saunders, Philadelphia.
- Joyce PW, WK Sánchez, JP Goff. 1997. Effect of anionic salts in prepartum diets based on alfalfa. *J Dairy Sci* 80, 2866-2875.
- Lomba F, G Chauvaux, E Teller, L Lengels, V Bienfet. 1978. Calcium digestibility in cows as influenced by the excess of alkaline ions over stable acid ions in their diets. *Br J Nutr* 39, 425-429.

- Martin KJ, JJ Freitag, E Bellorin-Font, MB Conrades, S Khlar, Slatopolsky E. 1980. The effect of acute acidosis on the uptake of parathyroid hormone and the production of adenosine 3',5'-monophosphate by isolated perfused bone. *Endocrinology* 106, 1607-1611.
- Maurer M, W Riensen, J Muser, HN Hulter, R Krapf. 2003. Neutralization of Western diet inhibits bone resorption independently of K intake and reduces cortisol secretion in humans. *Am J Physiol Renal Physiol* 284, F32-F40.
- May RC, RA Kelly, WE Mitch. 1986. Metabolic acidosis stimulates protein degradation in rat muscle by a glucocorticoid-dependent mechanism. *J Clin Invest* 77, 614-621.
- Mellau LSB, RJ Jorgensen, DM Kambarage. 2002. The influence of short-term anion salt exposure on urine pH and on resistance to experimentally induced hypocalcaemia in cows. *J Vet Med A* 49, 225-229.
- Midorikawa K, DM Sayama, Y Shirakata, Y Hanakawa, L Sun, Hashimoto K. 1999. Expression of vitamin D receptor in cultured human keratinocytes and fibroblasts is not altered by corticosteroids. *J Dermatol Sci* 21, 8-12.
- Morrissey JJ, DN Cohn. 1978. The effects of calcium and magnesium on the secretion of parathormone and parathyroid secretory protein by isolated porcine parathyroid cells. *Endocrinology* 103, 2081-2090.
- Oetzel GR, JA Barmore. 1993. Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts to pregnant, non lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 76, 1617-1623.
- Oetzel GR, JD Olson, CR Curtis, MJ Fettman. 1988. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *J Dairy Sci* 71, 3302-3309.
- Oetzel GR, MJ Fettman, DW Hamar, JD Olson. 1991. Screening of anionic salts for palatability, effects on acid-base status and urinary calcium excretion in dairy cows. *J Dairy Sci* 74, 965-971.
- Pehrson B, C Svensson, I Gruvaeus, Virkki 1999. The influence of acidic diets on the acid-base balance of dry cows and the effect of fertilization on the mineral content of grass. *J Dairy Sci* 82, 1310-1316.
- Phillippo M, GW Reid, IM Nevison. 1994. Parturient hypocalcaemia in dairy cows: effects of dietary acidity on plasma minerals and calciotropic hormones. *Res Vet Sci* 56, 303-309.
- Roche JR, D Dalley, P Moate, C Grainger, M Rath, F O'Mara. 2003. Dietary cation-anion difference and the health and production of pasture-fed dairy cows 2. Nonlactating periparturient cows. *J Dairy Sci* 86, 979-987.
- Sachs M, A Bar, R Cohen, Y Mazur, E Mayer, S Hurwitz. 1977. Use of 1-a-hydroxycholecalciferol in the prevention of bovine parturient paresis. *Am J Vet Res* 38, 2039-2041.
- Schonewille JT, AT Van't Klooster, H Wourtese, AC Beynen. 1999. Hypocalcemia induced by intravenous administration of disodium ethylenediaminetetraacetate and its effects on excretion of calcium in urine of cows fed a high chloride diet. *J Dairy Sci* 82, 1317-1324.
- Shaver R, G Oetzel. 1990. New feed ingredients may help prevent milk fever. *Hoard's Dairyman* 135, 344.
- Stewart PA. 1983. Modern quantitative acid-base chemistry. *Can J Physiol Pharmacol* 61, 1444-1461.
- Takagi H, E Block. 1991. Effects of manipulating dietary cation-anion balance on macromineral balance in sheep. *J Dairy Sci* 74, 4202-4214.
- Tucker WB, JF Hogue, GD Adams, M Aslam, LS Shin, G Morgan. 1992. Influence of dietary cation-anion balance during the dry period on the occurrence of parturient paresis in cows fed excess calcium. *J Anim Sci* 70, 1238-1250.
- Vagnoni DB, GR Oetzel. 1998. Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. *J Dairy Sci* 81, 1643-1652.
- Van Dijk CJ, DC Lourens. 2001. Effects of anionic salts in a parturient dairy ration on calcium metabolism. *J S Afr Vet Assoc* 72, 76-80.
- Van Mosel M, AT Van't Klooster, F Van Mosel, J Van Der Kuilen. 1993. Effects of reducing dietary (Na + K) – (Cl + SO<sub>4</sub>) on the rate of calcium mobilization by dairy cows at parturition. *Res Vet Sci* 54, 1-9.
- Wang C, DK Beede. 1992. Effects of diet ammonium chloride and sulfate on acid-base status and calcium metabolism of dry Jersey cows. *J Dairy Sci* 75, 820-828.
- West JW, KD Haydon, BG Mullinix, TG Dandifer. 1992. Cation-anion balance and cation source effects on acid-base status of heat-stressed cows. *J Dairy Sci* 75, 2776-2786.
- Whiting SJ, HH Draper. 1981. Effect of chronic acid load as sulfate or sulfur amino acids on bone metabolism in adult rats. *J Nutr* 111, 1721-1726.