

Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2020; 10:1-24. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.15>
Revisión de Literatura. Recibido: 02/04/2020. Aceptado: 10/07/2020. Publicado: 16/07/2020.

Metabolismo en rumiantes y su asociación con analitos bioquímicos sanguíneos

Metabolism in ruminants and your association with blood biochemical analytes

Arias-Islas Erika^{*1} [ID](#), Morales-Barrera Jesús² [ID](#), Prado-Rebolledo Omar³ [ID](#), García-Casillas Arturo^{**3} [ID](#)

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma Metropolitana. México. ²Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana. México. ³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Colima. México. *Autor responsable: Arias-Islas Erika. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Coyoacán, México, CP 04960. **Autor de correspondencia: García-Casillas Arturo. Kilometro 40 Carretera Colima-Manzanillo, S/N, Tecomán, Colima. México. CP 28100. arisa82@hotmail.com, jemorab@yahoo.com.mx, omarpr@ucol.mx, cesargarciasillas@hotmail.com

RESUMEN

El presente estudio es un análisis de elementos científicos sobre el metabolismo de los rumiantes: polisacáridos, proteínas y lípidos. Donde i) la digestión fermentativa realizada por microorganismos, ii) la digestión y absorción posruminal y iii) el metabolismo de cada monómero, se asocian con analitos sanguíneos que otorgan una aproximación al metabolismo nutricional del animal, además confieren información sobre alteraciones y ajustes homeostáticos. Esta revisión hace énfasis en el metabolismo de monosacáridos, aminoácidos y ácidos grasos. Por lo tanto, la información revisada pretende hacer más accesibles los procesos catabólicos y anabólicos en la nutrición de los rumiantes.

Palabras claves: glucosa, lípidos, polisacáridos, proteínas y urea.

ABSTRACT

The present study is an analysis of scientific elements on the metabolism of ruminants: polysaccharides, proteins and lipids. Where i) the fermentative digestion carried out by microorganisms, ii) the posruminal digestion and absorption and iii) the metabolism of each monomer is associated with the blood analytes that give us an approximation to the nutritional metabolism of the animal, also confer information on alterations and adjustments homeostatic. This review emphasizes the metabolism of monosaccharides, amino acids, and fatty acids. Therefore, the revised information aims to make the understanding of catabolic and anabolic processes in ruminant nutrition.

Keywords: glucose, lipids, polysaccharides, proteins and urea.

INTRODUCCIÓN

Los mamíferos clasificados como rumiantes se caracterizan por la adaptación morfofisiológica de su sistema digestivo (Resende Jr *et al.*, 2019; Rotta *et al.*, 2014), fraccionado en cuatro cámaras: I) retículo, II) rumen, III) omaso y IV) abomaso (Qiyu *et al.*, 2019). El abomaso secreta hidrolasas digestivas y su función es similar al estómago de los monogástricos (Agarwal *et al.*, 2015). Los rumiantes se especializan por su capacidad para alimentarse de pastos y forrajes (Puppel y Kuczyńska, 2016), ya que pueden degradar polisacáridos estructurales p. ej., celulosa, hemicelulosa y pectina

(DePeters y George, 2014), muy poco digestibles para las especies no rumiantes (Kittelmann *et al.*, 2013; Zeng *et al.*, 2017). La degradación del alimento se realiza principalmente por digestión fermentativa, llevada a cabo por microorganismos presentes en el rumen (Ginane *et al.*, 2015; Wallace *et al.*, 2017). Las moléculas resultantes de la fermentación ruminal son aprovechadas para satisfacer los procesos fisiológicos del animal (Kittelmann *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2019^a). La cuantificación de los analitos bioquímicos en el plasma y/o suero, otorgan una aproximación al metabolismo nutricional (García *et al.*, 2015); además confieren información sobre alteraciones y ajustes homeostáticos (Moyano *et al.*, 2018). Por tal motivo es importante comprender los procesos de catabolismo y anabolismo que se llevan a cabo en el rumiante para entender los niveles de analitos presentes (Puppel y Kuczyńska, 2016). Debido a ello, es necesario incrementar nuestra comprensión sobre el metabolismo de los monosacáridos, aminoácidos (**aa**) y ácidos grasos. Por lo tanto, se realizó una revisión bibliográfica sobre su metabolismo en los rumiantes y su asociación con diferentes analitos bioquímicos.

Abreviaturas

aa	aminoácidos	His	histidina
AcAc	acetoacetato	Ile	isoleucina
AGNE	ácidos grasos no esterificados	K ⁺	ion potasio
AGV	ácidos grasos volátiles	Leu	leucina
ALB	albumina	Lys	lisina
Arg	arginina	Met	metionina
C=O	grupo carbonilo	Na ⁺	ion sodio
C16:0	palmítico	NH ₃	amoníaco
C ₃ H ₃ O ₃	piruvato	NNP	nitrógeno no proteico
C ₆ H ₁₂ O ₆	glucosa	pH	potencial de hidrógeno
CO ₂	dióxido de carbono	Phe	fenilalanina
COL	colesterol	PLP	cofactor piridoxal fosfato
COOH	grupo carboxilo	TAG	triacilgliceroles
CH ₄	metano	Thr	treonina
FAD	dinucleótido de flavina-adenina	Trp	triptófano
Glu	glutámico	Val	valina
H ₂ CO ₃	carbónico	VLDL	<i>very low density lipoproteins</i>
HCl	clorhídrico	β-HBA	β-hidroxibutirato
HCO ₃ ⁻	anión hidrógenocarbonato		

El Rumen

El rumen es una cámara de fermentación anaerobia (Armato *et al.*, 2016), con un potencial de hidrógeno (**pH**) entre ácido y neutro de 5.5 a 7.0 (Jiang *et al.*, 2017); siendo éste el principal determinante del tipo y número de microorganismos (Resende Jr *et al.*, 2019), y una temperatura que oscila entre 38 a 42 °C (Pourazad *et al.*, 2016; Yazdi *et al.*, 2016). El ecosistema ruminal está formado por tres grupos: I) bacterias, su concentración es de 1 x 10¹⁰ y 1 x 10¹¹/mL de líquido ruminal (Valente *et al.*, 2016), y está relacionada

con el contenido energético de la dieta (Krause *et al.*, 2013); además el nitrógeno no proteico (NNP), como la urea, debe ser convertido en amoníaco (NH_3) para que pueda ser utilizado por las bacterias (DePeters y George, 2014; Wallace *et al.*, 2017), transformando proteína de mala calidad en proteína de alta calidad (Puppel y Kuczyńska, 2016; Jin *et al.*, 2018); grupo II) protozoarios ciliados, su concentración oscila entre 1×10^4 y 1×10^6 /mL de líquido ruminal, su función es controlar el número de bacterias en el rumen (Francisco *et al.*, 2019), envuelven almidón que pasa al intestino, siendo una fuente de glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) para el rumiante (Wallace *et al.*, 2017), no sintetizan proteína a partir de NNP (Jin *et al.*, 2018); la mayoría son del género *Isotricha* o *Entodinium* (Gebreegziabher, 2016), y grupo III) hongos, se encuentran en una concentración de 1×10^3 a 1×10^5 /mL de líquido ruminal, poseen actividad celulolítica principalmente en forrajes maduros (Valente *et al.*, 2016); algunas especies son *Neocallimastix frontalis*, *Caecomycetes communis* y *Piromyces communis* (Krause *et al.*, 2013).

La Microbiota Ruminal Amilolítica-Celulolítica y la Fermentación Anaeróbica

La degradación de polisacáridos presente en los forrajes es llevada a cabo por bacterias celulolíticas (*Bacteriodes succinogenes*, *Ruminococcus albus*), amilolíticas (*Bacteroides amylophilus*, *Streptococcus bovis*), hemicelulolíticas (*Butyrivibrio fibrisolvens*, *Bacteroides ruminicola*) y pectinolíticas (*Lachnospira multiparus*, *Succinivibrio dextrinosolvens*) (Valente *et al.*, 2016), que obtienen $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ y otros monosacáridos como xilosa y fructosa-6-fosfato, a partir de celulosa y hemicelulosa (Krause *et al.*, 2013). Los monómeros son absorbidos por microorganismos y vía glucolítica forman nicotinamida adenina dinucleótido en su forma reducida ($\text{NADH}+\text{H}^+$), piruvato ($\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_3$) y adenosina trifosfato (ATP) para su crecimiento y mantenimiento (Wallace *et al.*, 2017; Francisco *et al.*, 2019). La digestión fermentativa es anaeróbica (Kittelmann *et al.*, 2013; Yazdi *et al.*, 2016), por lo que el $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_3$ funciona como captador de electrones, para generar NAD^+ y ATP, retirando $\text{NADH}+\text{H}^+$ (Górka *et al.*, 2017).

Los ácidos grasos volátiles (AGV): acético ($\text{CH}_3\text{-COOH}$), propiónico ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COOH}$) y butírico ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$) son los principales productos terminales de la digestión fermentativa (Aydin *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019^a); son absorbidos a través de la pared del rumen e incorporados a la circulación mediante la vena porta (Resende Jr *et al.*, 2019). Representan entre el 70-80% del combustible energético del rumiante (Mikołajczyk *et al.*, 2019).

La flora ruminal sintetiza $\text{CH}_3\text{-COOH}$ a partir de la descarboxilación de $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_3$ en acetil-coenzima A, liberando un carbono (Gebreegziabher, 2016; Chishti *et al.*, 2020). Para la formación de $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$ se requieren dos acetil-coenzima A (Górka *et al.*, 2017; Resende Jr *et al.*, 2019). Hay dos vías para la formación de $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COOH}$: I) vía reductiva directa, el $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_3$ pasa a lactato, y éste a acrilil-coenzima A (Aydin *et al.*, 2017), y II) vía aleatoria, se añade un carbono al $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_3$ y el oxaloacetato formado se transforma en succinato; posteriormente se sintetiza $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COOH}$, perdiendo un carbono y

formando dioxígeno molecular (Krehbiel, 2014; Gebregziabher, 2016). Además, se forma dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄) que se eliminan por eructo (Teklebrhan et al., 2020; Toral et al., 2017). La síntesis de CH₄ es necesaria para la producción de cofactores oxidados en las rutas para la formación de CH₃-COOH y CH₃-CH₂-CH₂-COOH (Kozłowska et al., 2019). Las bacterias encargadas de esta función son *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobacterium formicicum* y *Methanomicrobium mobile* (Baruah et al., 2019).

En la figura 1, se muestra la síntesis de AGV. La concentración ruminal de CH₃-COOH, CH₃-CH₂-COOH y CH₃-CH₂-CH₂-COOH en animales alimentados con forrajes; oscila entre 70:20:10% respectivamente, y en animales alimentados principalmente con cereales fluctúa entre 60:30:10% (Gebregziabher, 2016).

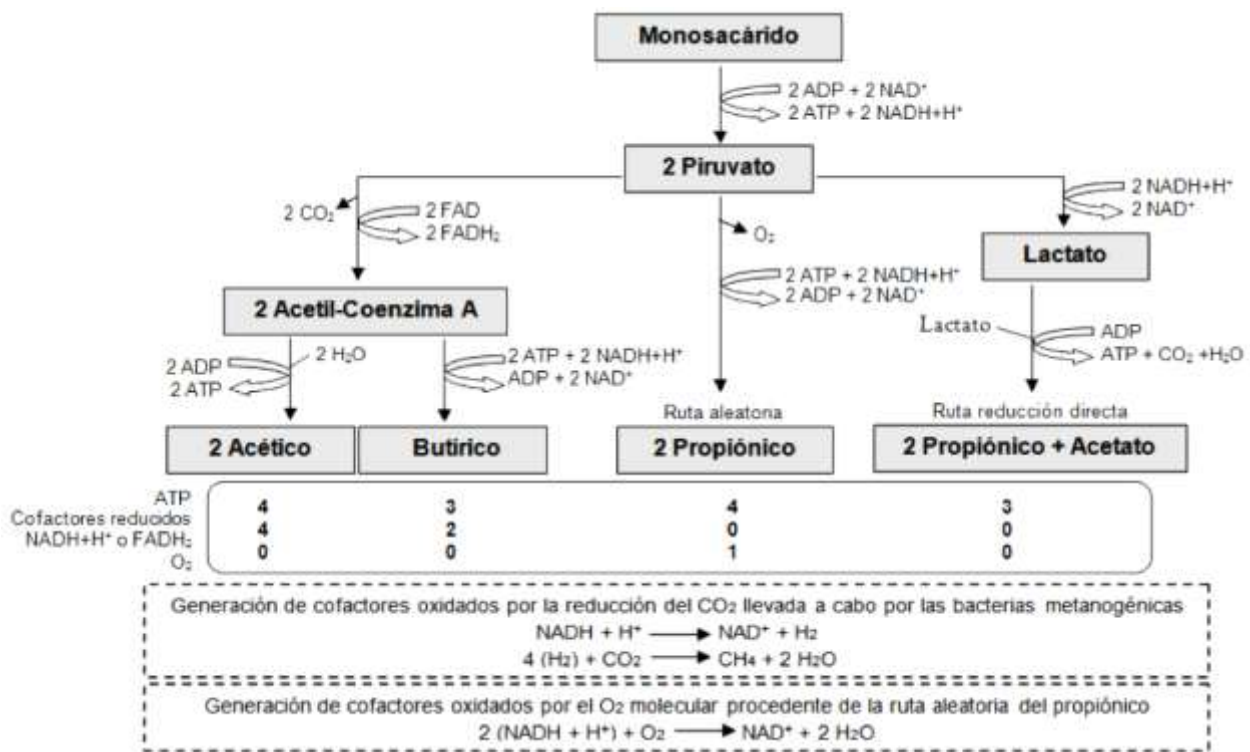


Figura 1. Síntesis de ácidos grasos volátiles a partir de monosacáridos en el rumen
 Fuente: información sintetizada de (Gebregziabher, 2016)

La Microbiota Ruminal Proteolítica y la Fermentación Anaeróbica

Los componentes proteicos suministrados en la dieta son fermentados por bacterias proteolíticas *Bacteroides amylophilus*, *Bacteroides ruminicola*, y algunas cepas de *Butyrivibrio fibrisolvens* (García et al., 2014), mediante sus proteasas microbianas, liberando péptidos (Alves et al., 2014; Rostom y Shine, 2018). Estos son absorbidos por el microorganismo, donde las peptidasas hidrolizan los enlaces peptídicos, liberando aa, utilizados para traducir proteínas propias o catabolizarlos para liberar energía (Li et al.,

2019^b; Silva *et al.*, 2016). El producto final es el NH₃ (Khezri *et al.*, 2016; Carvalho *et al.*, 2019), que sirve como sustrato de nitrógeno para las bacterias (Valente *et al.*, 2016). El NH₃ es absorbido mediante difusión pasiva a través de los canales de ion potasio (K⁺), ubicados en la membrana del rumen (García *et al.*, 2014), por circulación portal llega al hígado donde es sintetizado en urea (Rostom y Shine, 2018).

La síntesis de urea comienza en la matriz mitocondrial (Shi *et al.*, 2019) con la unión del anión hidrogenocarbonato (HCO₃⁻) y el NH₃, por medio de carbamoil fosfato sintetasa. El fosfato de carbamoil se une a la ornitina, por medio de ornitina transcarbamoilasa, generando citrulina. Esta se transporta al citoplasma donde reacciona con aspartato por medio de argininosuccinato sintasa, formando argininosuccinato; posteriormente argininosuccinato liasa lo divide, formando arginina (Arg) y fumarato (Hristov *et al.*, 2019). Por último, la Arg cataliza la hidrólisis para sintetizar ornitina, agua (H₂O) y urea (Gebreegziabher, 2016) (figura 2).

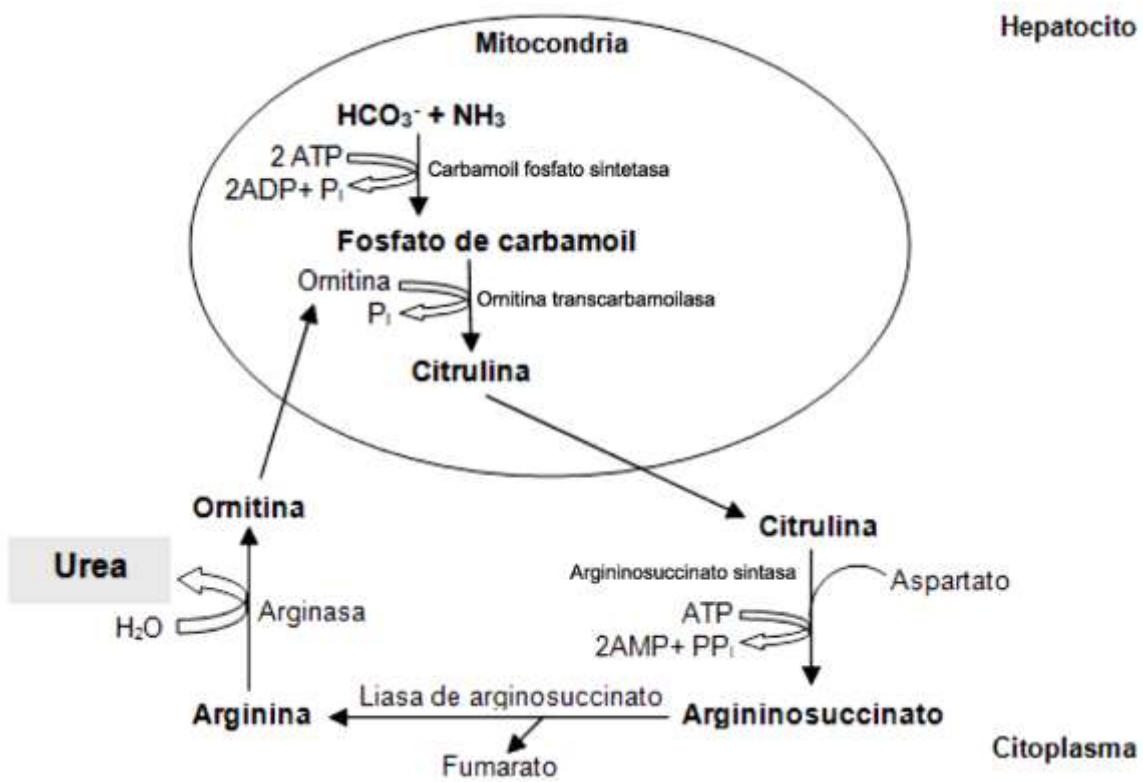


Figura 2. Síntesis de urea

Fuente: información sintetizada de (Shi *et al.*, 2019).

La urea pasa nuevamente a la circulación sanguínea, donde tiene tres rutas metabólicas: 1.) regresa al rumen vía saliva o a través de las capas epiteliales del rumen, con ayuda de las proteínas de transporte UT-B para ser reconvertida en NH₃ (García *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2019), 2.) excretada en la orina o heces fecales (Schuba *et al.*, 2017; Li

et al., 2019^b) o, 3.) formar parte del NNP de la leche (Alves *et al.*, 2014; Jin *et al.*, 2018) (figura 3).

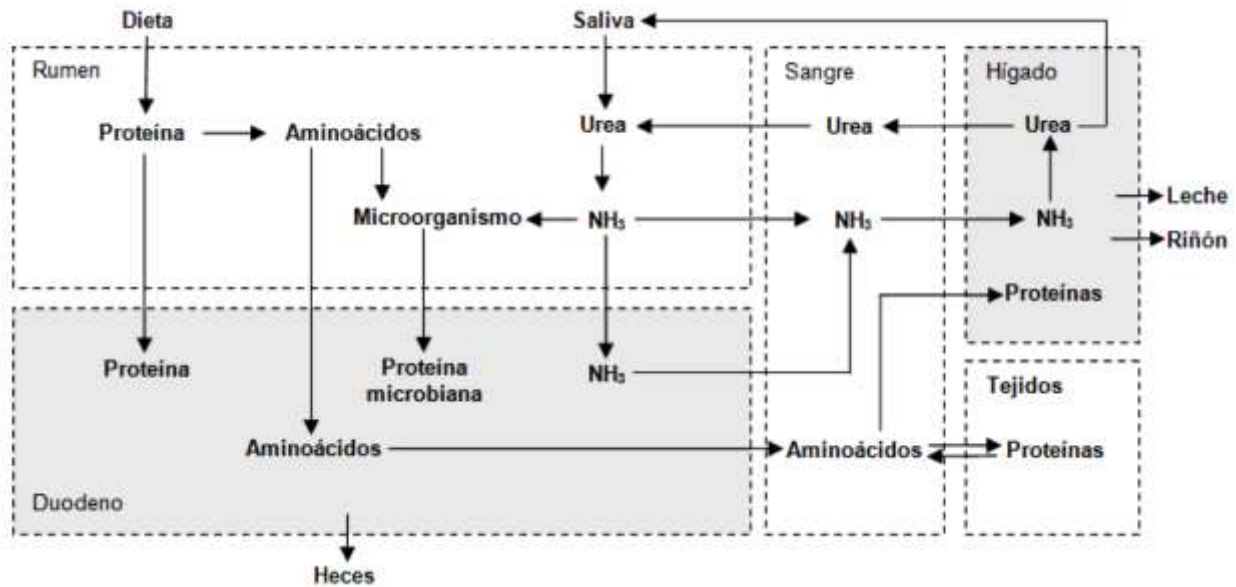


Figura 3. Metabolismo general de las proteínas en el rumiante

Fuente: información sintetizada de (Li *et al.*, 2019^b)

La Microbiota Ruminal Lipolítica y la Fermentación Anaeróbica

Los microorganismos encargados de catabolizar los componentes lipídicos de la dieta, son: *Anaerovibrio lipolytica*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Treponema bryantii*, *Eubacterium spp.*, *Fusocillus spp* y *Micrococcus spp.* (Valente *et al.*, 2016). Las lipasas bacterianas por hidrólisis liberan ácidos grasos no esterificados (**AGNE**) y glicerol (Prieto *et al.*, 2016); además alcoholes aminados (derivados de fosfolípidos) y galactosa (procedente de galactolípidos) (Toral *et al.*, 2018). El glicerol, los alcoholes aminados y la galactosa son metabolizados a AGV (Silva *et al.*, 2014; van Cleef *et al.*, 2018). Los AGNE que se encuentran libres en el rumen, llevan un proceso de hidrogenación microbiana (Tran *et al.*, 2017; Toral *et al.*, 2017), resultado de la adición de hidrógeno a los ácidos grasos saturados, para formar ácidos grasos insaturados con dobles enlaces (Francisco *et al.*, 2019). Este mecanismo es otra forma de eliminar los hidrógenos que resultan del catabolismo de los polisacáridos (Osorio *et al.*, 2015; Prieto *et al.*, 2016).

La absorción de los AGV se realiza en la pared del rumen (80%), en omaso (10%), y el resto pasa al abomaso para ser absorbidos en el duodeno (Yazdi *et al.*, 2016). Los AGV se difunden pasivamente hacia el interior del epitelio ruminal (Agarwal *et al.*, 2015; Yohe *et al.*, 2019). El hidrógeno necesario para que los AGV se disocien en el epitelio, es donado por el carbónico (**H₂CO₃**), formando **CO₂** y **H₂O**, de la disociación se obtiene un hidrógeno para unirse a los AGV y se forma una molécula de **HCO₃⁻** en la luz del rumen. Por lo tanto, este proceso ayuda a amortiguar el pH ruminal (Wang *et al.*, 2016).

La absorción de los AGV se realiza de la misma forma para todos, aunque en el interior de las células epiteliales del rumen cambia su conformación (Qumar *et al.*, 2016). Una parte del CH₃-COOH se oxida por completo dentro de las células, como fuente de energía; mientras el resto es absorbido sin ser alterado, pasando al hígado por la vena porta (Loncke *et al.*, 2015). El 80% del CH₃-COOH que llega al hígado escapa de la oxidación, pasando a la circulación general para ser aprovechado por otros tejidos (Qumar *et al.*, 2016).

En el citoplasma la conversión del CH₃-COOH a acetil-Coenzima A es catalizado por acetil-Coenzima A sintetasa (Chishti *et al.*, 2020). La mayor parte se oxida en el ciclo de Krebs o es utilizado para síntesis de ácidos grasos en los hepatocitos (Yohe *et al.*, 2019). Una fracción del CH₃-CH₂-COOH es degradado y convertido en lactato (2-5%) antes o durante la absorción; el resto pasa en la circulación portal hacia el hígado, donde los hepatocitos lo sintetizan en C₆H₁₂O₆, vía glucogénesis (Loncke *et al.*, 2015). Para entrar al ciclo de Krebs el propionil-Coenzima A mediante propionil-Coenzima A carboxilasa, forma metilmalonil-Coenzima A, y posteriormente se forma succinil-Coenzima A (Gebregziabher, 2016). El CH₃-CH₂-CH₂-COOH es convertido casi en su totalidad a β-hidroxibutirato (β-HBA) en la mucosa ruminal (Agarwal *et al.*, 2015). Este cuerpo cetónico, representa el 80% de las cetonas formadas (Górka *et al.*, 2017). El CH₃-COOH y el β-HBA se utiliza para la síntesis de ácidos grasos en el tejido adiposo y la glándula mamaria (García *et al.*, 2015; Song *et al.*, 2018).

Digestión y Absorción Posruminal

Aunque el rumiante se caracteriza por la fermentación microbiana en el rumen (Hristov *et al.*, 2019), la digestión posruminal es vital, ya que dispone de lípidos, proteínas y algunos polisacáridos no estructurales que escapan de la fermentación (Agarwal *et al.*, 2015). El alimento no fermentado junto con proteína microbiana, pasa al omaso por el orificio retículo-omasal, donde se absorben AGV, NH₃, H₂O, ion sodio (Na⁺) y K⁺ (Hussain *et al.*, 2013; Freitas Jr *et al.*, 2019). Posteriormente pasan al abomaso que contiene ácido clorhídrico (HCl) y pepsina (Rotta *et al.*, 2014). El alimento es mezclado, pasando al duodeno (Hristov *et al.*, 2019). El almidón y disacáridos que escapan de la digestión ruminal son hidrolizados por amilasas pancreáticas obteniéndose monosacáridos (Rotta *et al.*, 2014).

La absorción se lleva a cabo en las vellosidades de los enterocitos (Harmon, 2009). Los monosacáridos se transportan en contra de su gradiente de concentración por medio del cotransportador de Na⁺ (Harmon y Swanson, 2020). La bomba ATPasa - Na⁺- K⁺ crea el gradiente de concentración del Na⁺ que aporta la energía (Bergman *et al.*, 2019).

Otra forma de transporte para C₆H₁₂O₆ es el transportador GLUT2 (Harmon, 2009). La proteína que llega al intestino delgado procede de la dieta que escapa de la fermentación, proteína endógena (García *et al.*, 2015) y la contenida en los microorganismos que están unidos al alimento (Batista *et al.*, 2016; Golshan *et al.*, 2019). El catabolismo inicia en el

abomaso por la pepsina e hidrólisis ácida; posteriormente en el duodeno por enzimas pancreáticas y duodenales (tripsinasa, quimiotripsinasa y carboxipeptidasa), que rompen enlaces peptídicos para liberar aa y pequeños péptidos para su absorción en yeyuno e íleon (Emery, 2015; Hristov *et al.*, 2019). La absorción consiste en un transporte a través de Na^+ dependiente, el consumo de energía se asocia con el flujo continuo de Na^+ hacia el exterior, como resultado de la actividad de la bomba $\text{ATPasa} - \text{Na}^+ - \text{K}^+$ (Silva *et al.*, 2016). El Na^+ que entra a la célula a favor de un gradiente de concentración, va unido a una molécula de aa a través de la membrana celular (Emery, 2012; Rostom y Shine, 2018).

Los lípidos que llegan al abomaso en forma de AGNE representan entre el 70 y 80%, el resto son fosfolípidos de origen microbiano (Aibibula *et al.*, 2015; Toral *et al.*, 2018). Estos últimos son emulsionados por sales biliares e hidrolizados por lipasas pancreáticas para liberar AGNE (Dawson y Karpen, 2015; Kohan *et al.*, 2015). La micela se forma de sales biliares, AGNE saturados, triacilgliceroles (TAG) y lecitina (Cao *et al.*, 2018), transportándose hasta las vellosidades de los enterocitos (Park *et al.*, 2019). Los AGNE de menos de 12 carbonos, se absorben y son transportados por vena porta al hígado unidos por enlaces no covalentes en la albumina (ALB) (Dawson y Karpen, 2015). En cambio, los AGNE de 12 o más carbonos, son esterificados para formar TAG y fosfolípidos (Vargas, 2019). Los TAG, cantidades pequeñas de mono y diacilgliceroles, fosfolípidos y colesterol (COL) son unidos a apoproteínas para formar quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (*very low density lipoproteins VLDL*), que salen al sistema linfático, para ser incorporados al torrente sanguíneo (Kohan *et al.*, 2015; Prieto *et al.*, 2016). Los lípidos se absorben por difusión o pinocitosis (Walther y Farese Jr, 2012).

Metabolismo de Monosacáridos en Rumiantes

El torrente sanguíneo es el medio por el cual los nutrientes absorbidos se dirigen al hígado y a otros órganos para su catabolismo o anabolismo, según la necesidad celular (Goyal y Longo, 2015). Las enzimas juegan un papel muy importante en el metabolismo, ya que son proteínas catalizadoras de reacciones específicas (Jindal y Warshel 2017); sin ellas las reacciones biológicas serían muy lentas para la vida celular (Ramsay *et al.*, 2019). Su función es unirse temporalmente a una molécula, para aplicar cambios atómicos (Menger y Nome, 2019). El metabolismo de los monosacáridos gira en torno al suministro y destino de $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, siendo este monómero la principal fuente de energía para las células (Hooijberg *et al.*, 2017). La vía catabólica de $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ es la glucólisis, llevada a cabo en el citoplasma celular (Dashty, 2013). Este proceso consta de ocho reacciones: 1) la glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) ingresa al citoplasma para ser fosforilada (adición de un grupo fosfato), a partir de ATP. Esta reacción es catalizada por la hexoquinasa. La glucosa-6-fosfato ($\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_9\text{P}$) (aldohexosa) resultante abunda en todas las células, ya que la gran mayoría de $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ que ingresa al citoplasma termina siendo fosforilada, con el fin de impedir

que pueda atravesar de regreso la membrana citoplasmática y difundirse al medio extracelular (Donnelly y Finlay, 2015); 2) la $C_6H_{11}O_9P$ presenta isomerización [una molécula es transformada en otra que posee los mismos átomos, pero dispuestos de forma distinta –cambia de lugar el grupo carbonilo ($C=O$)–] y es transformada en fructosa-6-fosfato (cetohehexosa). Reacción catalizada por glucosa-6-fosfato isomerasa (Dashty, 2013); 3) la fructosa-6-fosfato, es fosforilada a partir de ATP, en los carbonos 1 y 6 para dar lugar a la fructosa-1,6-bisfosfato. Reacción catalizada por fosfofructoquinasa (Ashrafi y Ryan, 2017); 4) la fructosa-1,6-bisfosfato es dividida en dos: gliceraldehido-3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato. Reacción catalizada por aldosa (Watts y Ristow, 2017); 5) triosa fosfato isomerasa cataliza la conversión de dihidroxiacetona fosfato para obtener más gliceraldehido-3-fosfato (Bommer *et al.*, 2020); 6) el gliceraldehido-3-fosfato es oxidado y fosforilado, en los carbonos 1 y 6 formando 1,3-bisfosfoglicerato por gliceraldehido-fosfato deshidrogenasa (Poher *et al.*, 2018). Posteriormente, transfiere su grupo fosfato, para sintetizar ATP y se transforma en 3-fosfoglicerato. Reacción catalizada por fosfoglicerato quinasa (Dashty, 2013); 7) el 3-fosfoglicerato presenta isomerización del C3 al C2 y es transformado en 2-fosfoglicerato por la fosfoglicerato mutasa (Donnelly y Finlay, 2015). Posteriormente la enolasa propicia la formación de un enlace doble, eliminando una molécula de H_2O y formando fosfoenolpiruvato (Bommer *et al.*, 2020) y 8) el fosfoenolpiruvato transfiere su grupo fosfato, para sintetizar ATP y se transforma en $C_3H_3O_3$, reacción catalizada por piruvato quinasa (figura 4).

El $C_3H_3O_3$ sale del citoplasma e ingresa a la matriz mitocondrial, utilizando la fuerza protón-motriz generada por la cadena respiratoria (Poher *et al.*, 2018). Por cada $C_6H_{12}O_6$ se generan dos $C_3H_3O_3$, dos ATP, dos $NADH+H^+$, dos hidrogeniones y dos moléculas de H_2O (Dashty, 2013; Watts y Ristow, 2017). Las células aerobias metabolizan el $C_3H_3O_3$ a acetil-Coenzima A, por medio de piruvato deshidrogenasa (Edinburgh *et al.*, 2017), permitiendo su ingreso al ciclo de Krebs para su participación en la fosforilación oxidativa (Bergman *et al.*, 2019).

Por cada acetil-Coenzima A que ingrese en el ciclo de Krebs se producen 12 ATP. Este proceso es fuente esencial de intermediarios para otras rutas metabólicas, p. ej., glucogenogénesis en el hígado y músculo estriado (Dashty, 2013; Edinburgh *et al.*, 2017), ruta de las pentosas fosfato (figura 4) y síntesis de lípidos y aa. La ruta de las pentosas fosfato, es una vía metabólica alterna que no produce ATP (Kohan *et al.*, 2015), sintetiza equivalentes reductores como nicotinamida adenina dinucleótido (**NADPH**), para la síntesis *de novo* de ácidos grasos, esteroides, el mantenimiento de glutatión para la actividad antioxidante (Chen *et al.*, 2016) y fuentes de ribosa para la síntesis de ácidos nucleicos y nucleótidos (Norris *et al.*, 2016).

El intermediario triosa fosfato de la glucólisis forma la porción de glicerol en los TAG (Edinburgh *et al.*, 2017). Por otro lado, el $C_3H_3O_3$ y los intermediarios del ciclo de Krebs suministran los esqueletos carbonados para la síntesis de aa (Valdebenito *et al.*, 2016) y

la acetil-Coenzima A es el precursor de AGNE, COL y hormonas esteroideas (Edinburgh *et al.*, 2017). La gluconeogénesis sintetiza $C_6H_{12}O_6$ a partir de lactato, aa y glicerol (Cantalapiedra *et al.*, 2015; Campos *et al.*, 2018), en el citoplasma y la mitocondria de los hepatocitos (Chen *et al.*, 2016; Qaid y Abdelrahman, 2016). En esta ruta se consumen seis ATP por cada $C_6H_{12}O_6$ producida (Gebreegziabher, 2016) y el propionato CH_3-CH_2-COOH es el único AGV glucogénico (Wallace *et al.*, 2017).

La importancia de la glucogénesis en rumiantes (figura 4), se debe a que su organismo absorbe cantidades pequeñas de $C_6H_{12}O_6$ por el tracto digestivo y su capacidad de almacenar glucógeno en el hígado es limitada (Qaid y Abdelrahman, 2016).

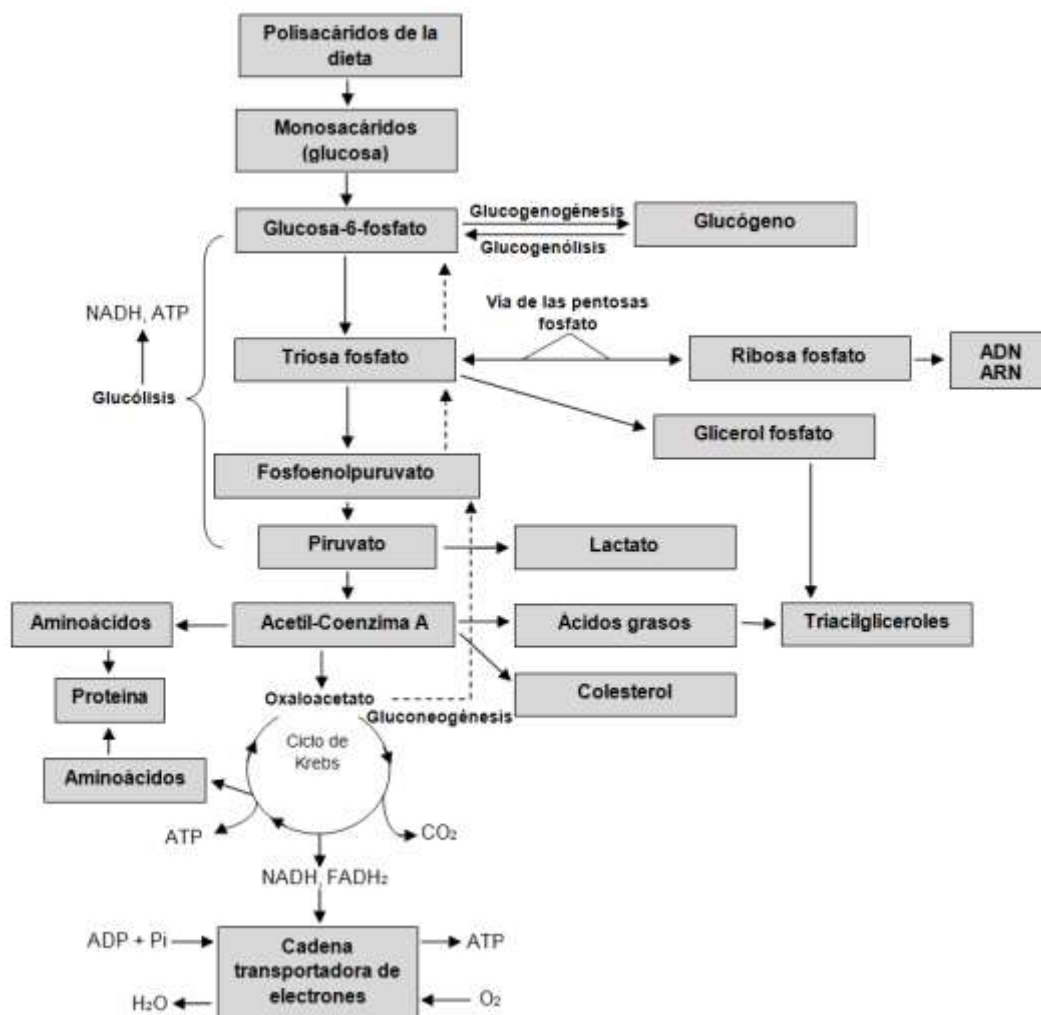


Figura 4. Metabolismo general de los monosacáridos

Fuente: información sintetizada de (Dashty, 2013)

Metabolismo de Ácidos Grasos en Rumiantes

El metabolismo de los lípidos depende principalmente de ácidos grasos y COL (Watts y Ristow, 2017). La fuente de AGNE de cadena larga es proporcionada por la dieta o por síntesis *de novo* a partir de acetil-Coenzima A, que se deriva de monosacáridos o esqueletos carbonados de aa (Walther y Farese Jr, 2012). La síntesis de ácidos grasos inicia en la mitocondria con la formación de acetil-Coenzima A, a partir de la oxidación de $\text{CH}_3\text{-COOH}$ y $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$ (Vargas, 2019). Dentro de la mitocondria, se produce acetil-Coenzima A; sin embargo, la membrana mitocondrial es impermeable a su paso. Por lo tanto, se requiere del sistema tricarboxilato y de la acción de citrato sintetasa para convertir acetil-Coenzima A en citrato y permitir su paso al citoplasma celular (Civeira *et al.*, 2013; Nunes-Nesi *et al.*, 2013).

Una vez en el citoplasma, el citrato es transformado nuevamente en acetil-Coenzima A por medio de ATP-citrato liasa, obteniéndose además oxaloacetato y adenosina difosfato (ADP) (Walther y Farese Jr, 2012). Como el proceso para la síntesis de ácidos grasos es endergónico (acumula energía a partir de carbonos), el acetil-Coenzima A presenta carboxilación [se estructura un grupo carboxilo (**COOH**) en la molécula], a través de su unión con HCO_3^- en una reacción catalizada por acetil-Coenzima A carboxilasa (García *et al.*, 2014).

El oxaloacetato es reducido por malato deshidrogenasa a malato, y este a su vez, es convertido en $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_3$ por malato deshidrogenasa, dando a la donadora de electrones nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma reducida (**NADPH+H⁺**) (Watts y Ristow, 2017; Vargas, 2019). A partir de malonil-Coenzima A, la síntesis de ácidos grasos se realiza por elongación, mediante ácido graso sintasa (Du *et al.*, 2018). Este complejo proteico efectúa síntesis, reducción, deshidratación, y nuevamente reducción, condensando los grupos de malonil-Coenzima A con acetil-Coenzima A (Civeira *et al.*, 2013; Norris *et al.*, 2016). En la elongación se van añadiendo grupos de dos carbonos al ácido graso, obteniendo palmítico (**C16:0**) como ácido graso final (Shi *et al.*, 2018).

Los ácidos grasos (figura 5), se pueden oxidar a acetil-Coenzima A mediante β -oxidación mitocondrial, o esterificarse con glicerol para formar TAG y funcionar como la principal reserva energética del organismo (Osorio *et al.*, 2015). La síntesis de TAG inicia con la formación de glicerol-3-fosfato (Fong *et al.*, 2016), posteriormente acil-Coenzima A graso sintasa activa ácidos grasos y tres de ellos se esterifican a la molécula (Civeira *et al.*, 2013).

En el catabolismo de TAG se hidrolizan los enlaces éster en C1 o en C3, obteniendo AGNE. Reacción catalizada por lipasa sensible a hormona (McFadden, 2020). Los AGNE se transportan en el torrente sanguíneo, mediante unión no covalente con ALB, donde son captados y oxidados por miocitos o hepatocitos, o almacenados por adipocitos (Edinburgh *et al.*, 2017). La β -oxidación se realiza en la matriz mitocondrial (Morita *et al.*, 2016), llevándose a cabo mediante, la activación de ácidos grasos por medio de tiosinasa

en acil-Coenzima A (Walther y Farese Jr, 2012); este proceso requiere ATP para formar adenilil (Fukao *et al.*, 2014). El acil-Coenzima A activado entra a la matriz mitocondrial por medio de la carnitina palmitoiltransferasa (Nunes-Nesi *et al.*, 2013; Morita *et al.*, 2016), y se oxida por medio de acil-Coenzima A graso deshidrogenasa (Houten y Wanders, 2010). Los átomos de hidrógeno son aceptados por el dinucleótido de flavina-adenina (FAD) que se reduce a FADH₂ (Norris *et al.*, 2016). Posteriormente, enoil-Coenzima A hidratasa introduce H₂O en el doble enlace recién formado entre C2 y C3 (Kong *et al.*, 2017) y β-hidroxiacil Coenzima A deshidrogenasa forma al 3-cetoacil-Coenzima A (Walther y Farese Jr, 2012; Martines *et al.*, 2017). Los dos átomos eliminados se transfieren a NAD⁺ generando NADH+H⁺ (Kohan *et al.*, 2015).

Por último tiolasa divide el C1 y C2 del 3-cetoacil-Coenzima A, liberando acetil-Coenzima A (Martines *et al.*, 2017), esto acorta la cadena de acil-Coenzima A de dos carbonos, necesitándose otra Coenzima A, para finalizar la molécula recién acortada (Kong *et al.*, 2017). Estos pasos se repiten hasta dejar un acil-Coenzima A de cuatro carbonos, donde se repiten los cuatro pasos, sólo que en vez de liberarse un acetil-Coenzima A se liberan dos (Civeira *et al.*, 2013).

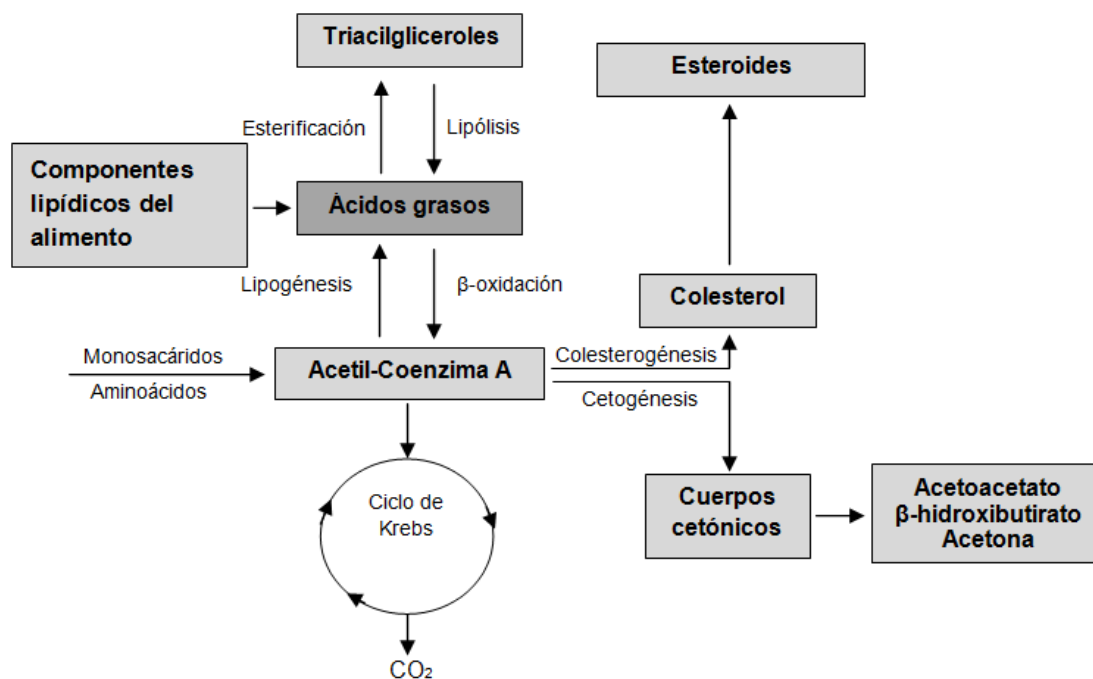


Figura 5. Metabolismo general de los lípidos

Fuente: información sintetizada de (Du *et al.*, 2018)

Cuando se trata de un ácido graso impar la penúltima repetición deja un acil-Coenzima A graso de cinco carbonos y éste se somete a los cuatro pasos anteriores, pero los dos pasos finales dan una molécula de acetil-Coenzima A y una molécula de propionil-Coenzima A de tres carbonos (Houten y Wanders, 2010). La acetil-Coenzima A como

producto de la β -oxidación de los ácidos grasos, puede tener tres destinos: a) entrar al ciclo de Krebs para oxidarse hasta CO_2 y H_2O para la liberación de energía (Fukao *et al.*, 2014; Panov *et al.*, 2014); b) fungir como precursor para la síntesis de COL y otros esteroides (Walther y Farese Jr, 2012) y c) participar en la cetogénesis (Watts y Ristow, 2017). Los cuerpos cetónicos acetoacetato (**AcAc**), β -HBA y acetona (Garzón y Espinosa, 2018), sirven como sustrato para la producción de ATP (McFadden, 2020). Se sintetizan en el hígado, en concentraciones bajas, pero cuando disminuye la $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ intracelular su síntesis se eleva (Norris *et al.*, 2016).

La cetogénesis tiene lugar en la matriz mitocondrial (Fukao *et al.*, 2014). Cuando las reservas hepáticas de glucógeno disminuyen, se estimula la actividad de la carnitina palmitoiltransferasa, provocando el transporte de AGNE hacia el interior de la mitocondria hepática (Walther y Farese Jr, 2012), donde se realiza una serie de sucesivas β -oxidaciones que conducen a la formación de acetil-Coenzima A (McFadden, 2020). Esta molécula se combina con oxaloacetato para su ingreso al ciclo de Krebs (García *et al.*, 2015). Si esta oxidación es completa se liberará CO_2 y átomos de hidrógeno, que donarán sus electrones para efectuar reacciones óxido reducción, que culminarán con la formación de H_2O y ATP (McFadden, 2020).

Si el oxaloacetato se reduce el acetil-Coenzima A, se acumula dentro de la mitocondria hepática (Walther y Farese Jr, 2012); por lo que dos moléculas de acetil-Coenzima A reaccionan para formar acetoacetil-Coenzima A, catalizada por tiolasa (Fukao *et al.*, 2014). El acetoacetil-Coenzima A se une con otra molécula de acetil-Coenzima A para formar β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA, catalizada por 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintasa (Norris *et al.*, 2016). Por último, la molécula, se metaboliza en AcAc (figura 5) y sale de la mitocondria al citoplasma, donde puede reducirse en β -HBA o descarboxilarse, hasta acetona (García *et al.*, 2015).

Metabolismo de Aminoácidos en Rumiantes

El metabolismo de los aa involucra la transaminación y desaminación (Dong *et al.*, 2016), reacciones necesarias para el anabolismo y catabolismo de las proteínas (Golshan *et al.*, 2019). Los aa Arg, histidina (**His**), isoleucina (**Ile**), leucina (**Leu**), lisina (**Lys**), metionina (**Met**), fenilalanina (**Phe**), treonina (**Thr**), triptófano (**Trp**) y valina (**Val**), son producidos en su mayoría por fermentación ruminal (Zhou *et al.*, 2019). Los aa están compuestos por un grupo amino ($-\text{NH}_2$) y un grupo COOH ; además de una cadena lateral R, que les da propiedades hidrofílicas, hidrofóbicas, ácidas, básicas y aromáticas (Rostom y Shine, 2018). La transaminación se lleva a cabo por aminotransferasas, el grupo $-\text{NH}_2$ se transfiere de un aa ácido a un aa cetoácido (Zhou *et al.*, 2019; Batista *et al.*, 2016). Las aminotransferasas se localizan en el citoplasma y mitocondrias, teniendo dos tipos de especificidad: I) el tipo de aa que dona el $-\text{NH}_2$ (Emery, 2015) y II) el cetoácido que acepta el $-\text{NH}_2$ (Dong *et al.*, 2016). Aunque las enzimas varían dependiendo del tipo de aa que unen, la mayoría usan glutámico (**Glu**) como donador de $-\text{NH}_2$ (Rostom y Shine, 2018).

Estas reacciones requieren del cofactor piridoxal fosfato (PLP) (Witus *et al.*, 2013). En la desaminación oxidativa los aa pierden el $-NH_2$, reacción catalizada por glutamato deshidrogenasa (Dong *et al.*, 2016). Los esqueletos carbonados resultantes se degradan para obtener uno de los siete productos metabólicos posibles: acetil-Coenzima A, acetoacetil-Coenzima A, $C_3H_3O_3$, cetoglutarato, succinil-Coenzima A, fumarato u oxaloacetato (Rostom y Shine, 2018). Los aa que se degradan de acetil-Coenzima A, a acetoacetil-Coenzima A se conocen como cetogénicos (Lys y Leu) (Batista *et al.*, 2016). Los esqueletos carbonados de los aa glucogénicos se degradan a $C_3H_3O_3$ o un intermediario del ciclo de Krebs, pero también pueden convertirse en $C_6H_{12}O_6$ mediante glucogénesis (Emery, 2012). El NH_3 resultante de la desaminación de los aa (figura 6) se transporta a los hepatocitos periportales para participar en la ureagénesis (García *et al.*, 2014).

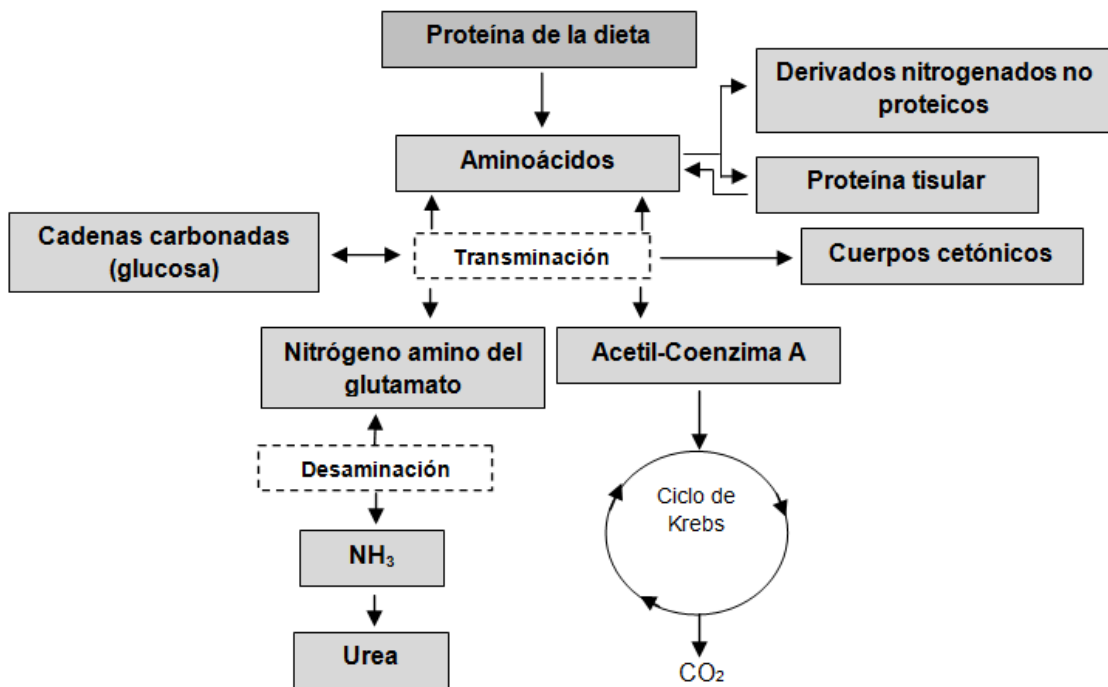


Figura 6. Metabolismo general de aminoácidos

Fuente: información sintetizada de (Golshan *et al.*, 2019)

CONCLUSIÓN

Los elementos científicos presentados sobre el anabolismo y el catabolismo de los nutrientes, manifiestan que la absorción intestinal de glucosa en los rumiantes es limitada. Por lo tanto, la microbiota ruminal juega un papel importante en la transformación, asimilación y síntesis de cada uno de los monómeros bioquímicos; elementos de vital importancia en la glucogénesis, proteogénesis, ureagénesis, lipogénesis y cetogénesis; procesos metabólicos que confieren información sobre las alteraciones y los ajustes homeostáticos en los rumiantes.

LITERATURA CITADA

- AGARWAL U, Hu Q, Baldwin RL, Bequette BJ. 2015. Role of rumen butyrate in regulation of nitrogen utilization and urea nitrogen kinetics in growing sheep. *Journal of Dairy Science*. 93(1):2382-2390. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8738>
- AIBIBULA Y, Halidai R, Masaaki H, Meiji O. 2015. Rumen degradability and post-ruminal digestion of nitrogen and amino acids by cows grazing temperate pasture. *Asian Agricultural Research*. 7(5):72-78. ISSN: 1011-2367. <http://dx.doi.org/10.22004/ag.econ.207047>
- ALVES EM, Magalhães DR, Freitas MA, Dos Santos EJ, Pereira MLA, Pedreira MS. 2014. Nitrogen metabolism and microbial synthesis in sheep fed diets containing slow release urea to replace the conventional urea. *Acta Scientiarum: Animal Sciences*. 36(1):55-62. ISSN: 1807-8672. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v36i1.21377>
- ARMATO LM, Gianesella M, Morgante M, Fiore E, Rizzo M, Giudice E, Piccione G. 2016. Rumen volatile fatty acids x dietary supplementation with live yeast and yeast cell wall in feedlot beef cattle. *Acta Agriculturae Scandinavica: Animal Science*. 66(2):119-124. ISSN: 0906-4702 <http://dx.doi.org/10.1080/09064702.2016.1272628>
- ASHRAFI G, Ryan TA. 2017. Glucose metabolism in nerve terminals. *Current Opinion in Neurobiology*. 45(1):156-161. ISSN: 0959-4388. <http://dx.doi.org/10.1016/j.conb.2017.03.007>
- AYDIN S, Yıldırım E, Ince O, Ince B. 2017. Rumen anaerobic fungi create new opportunities for enhanced methane production from microalgae biomass. *Algal Research*. 23(1):150-160. ISSN: 2211-9264. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2016.12.016>
- BARUAH L, Malik PK, Kolte AP, Goyal P, Dhali A, Bhatta R. 2019. Rumen methane amelioration in sheep using two selected tanniferous phyto-leaves. *Carbon Management*. 10(3):299-308. ISSN: 1758-3004. <https://doi.org/10.1080/17583004.2019.1605480>
- BATISTA ED, Detmann E, Titgemeyer EC, Valadares-Filho SC, Valadares RFD, Prates LL, Rennó LN, Paulino MF. 2016. Effects of varying ruminally undegradable protein supplementation on forage digestion, nitrogen metabolism, and urea kinetics in Nellore cattle fed low-quality tropical forage. *Journal Animal Science*. 94(1):201-216. ISSN: 1525-3163. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9493>
- BERGMAN RN, Piccinini F, Kabir M, Ader M. 2019. Novel aspects of the role of the liver in carbohydrate metabolism. *Metabolism Clinical and Experimental*. 99(1):119-125. ISSN: 0026-0495. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2019.05.011>
- BOMMER GT, Schaftingen EV, Veiga-da-Cunha M. 2020. Metabolite repair enzymes control metabolic damage in glycolysis. *Trends in Biochemical Sciences*. 45(3):16-32. ISSN: 0968-0004. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2019.07.004>
- CAMPOS GR, Correa-Orozco A, Zambrano BGL, Ospina CA. 2018. Alteraciones bioquímicas y metabólicas en el período de transición en vacas lecheras. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 9(2):166-179. ISSN: 2145-6097. <https://doi.org/10.22490/21456453.2123>

- CANTALAPIEDRA-HIJAR G, Ortigues-Marty I, Sepchat B, Agabriel J, Huneau JF, Fouillet H. 2015. Diet-animal fractionation of nitrogen stable isotopes reflects the efficiency of nitrogen assimilation in ruminants. *British Journal of Nutrition*. 113(1):1158-1169. ISSN: 0007-1145. <https://doi.org/10.1017/S0007114514004449>
- CAO YC, Yang XJ, Guo L, Zheng C, Wang DD, Cai CJ, Yao JH. 2018. Regulation of pancreas development and enzymatic gene expression by duodenal infusion of leucine and phenylalanine in dairy goats. *Livestock Science*. 216(1):9-15. ISSN: 1871-1413. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.03.010>
- CARVALHO IPC, Doelman J, Martín-Tereso J. 2019. Post-ruminal non-protein nitrogen supplementation as a strategy to improve fibre digestion and N efficiency in the ruminant. *Journal of Animal Physiology Animal Nutrition*. 104(1):64-75. ISSN: 1439-0396. <https://doi.org/10.1111/jpn.13233>
- CIVEIRA F, Baila-Rueda L, Castro-Orós I, Mateo-Gallego R, Cénarro A. 2013. Novedades en el metabolismo lipídico. *Revista Nefrológica*. 4(4):9-17. ISSN: 0211-6995. <http://dx.doi.org/10.3265/NefrologíaSuplementoExtraordinario.pre2013.Nov.12338>
- CHEN L, Tuo B, Dong H. 2016. Regulation of intestinal glucose absorption by ion channels and transporters. *Nutrients*. 8(43):2-13. ISSN: 2072-6643. <https://doi.org/10.3390/nu8010043>
- CHISHTI GA, Salfer IJ, Suarez-Mena FX, Harvatine KJ, Heinrichs AJ. 2020. *Short communication*: Relationships between physical form of oats in starter, rumen pH, and volatile fatty acids on hepatic expression of genes involved in metabolism and inflammation in dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 103(1):10-18. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16296>
- DASHTY M. 2013. A quick look at biochemistry: Carbohydrate metabolism. *Clinical Biochemistry*. 46(1):1339-1352. ISSN: 0009-9120. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.04.027>
- DAWSON PA, Karpen SJ. 2015. Intestinal transport and metabolism of bile acids. *Journal of Lipid Research*. 56(1):1085-1099. ISSN: 0022-2275. <https://doi.org/10.1194/jlr.R054114>
- DePETERS EJ, George LW. 2014. Rumen transfaunation. *Immunology Letters*. 162(1):69-76. ISSN: 0165-2478. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2014.05.009>
- DONG J, Jeong HJ, Ueda H. 2016. Preparation of quenchbodies by protein transamination reaction. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 122(1):125-130. ISSN: 1389-1723. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.12.010>
- DONNELLY RP, Finlay DK. 2015. Glucose, glycolysis and lymphocyte responses. *Molecular Immunology*. 68(1):513-519. ISSN: 0161-5890. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2015.07.034>
- DU X, She T, Wang H, Qin X, Xing D, Ye Q, Shi Z, Fang Z, Zhu Y, Yang Y, Peng Z, Zhao C, Lv B, Li X, Liu G, Li X. 2018. Adaptations of hepatic lipid metabolism and mitochondria in dairy cows with mild fatty liver. *Journal Dairy Science*. 101(10):9544-9558. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14546>

- EDINBURGH RM, Betts JA, Burns SF, González TJ. 2017. Concordant and divergent strategies to improve postprandial glucose and lipid metabolism. *Nutrition Bulletin*. 42(1):113-122. ISSN: 1467-3010. <https://doi.org/10.1111/nbu.12259>
- EMERY PW. 2012. Basic metabolism: protein. *Surgery*. 30(5):209-213. ISSN: 0039-6060. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2012.02.008>
- EMERY PW. 2015. Basic metabolism: protein. *Surgery*. 33(4):143-147. ISSN: 0039-6060. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2015.01.008>
- FONG LG, Young SG, Beigneux AP, Bensadoun A, Oberer M, Jiang H, Ploug M. 2016. GPIHBP1 and plasma triglyceride metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 27(7):445-469. ISSN: 1043-2760. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2016.04.013>
- FRANCISCO AE, Santos-Silva JM, Portugal APV, Alves SP, Bessa RJB. 2019. Relationship between rumen ciliate protozoa and biohydrogenation fatty acid profile in rumen and meat of lambs. *PLoS ONE*. 14(9):221-243. ISSN: 1932-6203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221996>
- FREITAS Jr JE, Bettero VP, Zanferari F, Del Valle TA, De Paiva PG, De Jesus EF, Takiya CS, Leite LC, Dias M, Rennó FP. 2019. Ruminal fatty acid outflow in dry cows fed different sources of linoleic acid: reticulum and omasum as alternative sampling sites to abomasum. *Archives of Animal Nutrition*. 70(3):171-193. ISSN: 1745-039X. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2019.1595886>
- FUKAO T, Mitchell G, Sass JO, Hori T, Orii K, Aoyama Y. 2014. Ketone body metabolism and its defects. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 37(1):541-551. ISSN: 0141-8955. <http://dx.doi.org/10.1007/s10545-014-9704-9>
- GARCÍA CAC, Montiel RLA, Borderas TF, Girard V. 2015. Relationship between β -hydroxybutyrate and the fat: protein ratio of milk during early lactation in dairy cows. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 47(1):21-25. ISSN: 0301-732X. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2015000100005>
- GARCÍA CAC, Montiel RLA, Borderas TF. 2014. Grasa y proteína de la leche de vaca: componentes, síntesis y modificación. *Archivos de Zootecnia*. 63(1):85-105. ISSN: 1885-4494. <https://doi.org/10.21071/az.v63i241.592>
- GARZÓN AAM, Espinosa OJ. 2018. Epidemiología de la cetosis en bovinos: una revisión. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 13(1):42-61. ISSN: 1900-9607. <http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.13.1.4>
- GEBREEGZIABHER Z. 2016. Factors affecting feed intake and its regulation mechanisms in ruminants. A Review. *International Journal of Livestock Research*. 6(4):19-40. ISSN: 2277-1964. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20160328085909>
- GINANE C, Bonnet M, Baumont R, Revell DK. 2015. Feeding behaviour in ruminants: a consequence of interactions between a reward system and the regulation of metabolic homeostasis. *Animal Production Science*. 55(1):247-260. ISSN: 1836-0939. <http://dx.doi.org/10.1071/AN14481>

- GOLSHAN S, Pirmohammadi R, Khalilvandi-Behroozyar H. 2019. Microwave irradiation of whole soybeans in ruminant nutrition: Protein and carbohydrate metabolism *in vitro* and *in situ*. *Veterinary Research Forum*. 10(4):343-350. ISSN: 2008-8140. <https://dx.doi.org/10.30466%2Fvrf.2019.35896>
- GÓRKA P, Śliwiński B, Flaga J, Wieczorek J, Godlewski MM, Wierzchoś E, Zabielski R, Kowalski ZM. 2017. Effect of butyrate infusion into the rumen on butyrate flow to the duodenum, selected gene expression in the duodenum epithelium, and nutrient digestion in sheep. *Journal Animal Science*. 95(1):2144-2155. ISSN: 1525-3163. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.1218>
- GOYAL R, Longo LD. 2015. Metabolic profiles in ovine carotid arteries with developmental maturation and long-term hypoxia. *PLoS ONE*. 10(6):33-66. ISSN: 1932-6203. <https://dx.doi.org/10.1371%2Fjournal.pone.0130739>
- HARMON DL, Swanson CK. 2020. Review: Nutritional regulation of intestinal starch and protein assimilation in ruminants. *Animal*. 14(1):17-28. ISSN: 2076-2615. <https://doi.org/10.1017/S1751731119003136>
- HARMON DL. 2009. Understanding starch utilization in the small intestine of cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 22(7):915-922. ISSN: 1011-2367. <https://doi.org/10.5713/ajas.2009.r.08>
- HOOIJBERG EH, Steenkamp G, Buss P, Goddard A. 2017. Method comparison and generation of plasma biochemistry RIs for the White rhinoceros on a point-of-care and wet chemistry analyzer. *Veterinary Clinical Pathology*. 46(2):287-298. ISSN: 0275-6382. <https://doi.org/10.1111/vcp.12490>
- HOUTEN SM, Wanders RJA. 2010. A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid β -oxidation. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 33(1):469-477. ISSN: 0141-8955. <http://dx.doi.org/10.1007/s10545-010-9061-2>
- HRISTOV AN, Bannink A, Crompton LA, Huhtanen P, Kreuzer M, McGee M, Nozière P, Reynolds CK, Bayat AR, Yáñez-Ruiz DR, Dijkstra J, Kebreab E, Schwarm A, Shingfield KJ, Yu Z. 2019. *Invited review*: Nitrogen in ruminant nutrition: A review of measurement techniques. *Journal of Dairy Science*. 102(1):5811-5852. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15829>
- HUSSAIN SA, Uppal SK, Randhawa C, Sood NK, Mahajan SK. 2013. Clinical characteristics, hematology, and biochemical analytes of primary omasa impaction in bovines. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 37(1):329-336. ISSN: 1300-0128. <https://doi.org/10.3906/vet-1205-31>
- JIANG FG, Lin XY, Yan ZG, Hu ZY, Liu GM, Sun YD, Liu XW, Wang ZH. 2017. Effect of dietary roughage level on chewing activity, ruminal pH, and saliva secretion in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 100(4):1-12. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11559>
- JIN D, Zhao SG, Zheng N, Bu DP, Beckers Y, Wang JQ. 2018. Urea nitrogen induces changes in rumen microbial and host metabolic profiles in dairy cows. *Livestock Science*. 210(1):104-110. ISSN: 1871-1413. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.02.011>

- JINDAL G, Warshel A. 2017. Misunderstanding the preorganization concept can lead to confusions about the origin of enzyme catalysis. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 85(12):2-19. ISSN: 1097-0134. <https://doi.org/10.1002/prot.25381>
- KHEZRI A, Dayani O, Tahmasbi R. 2016. Effect of increasing levels of wasted date palm on digestion, rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 101(1):53-60. ISSN: 0931-2439. <https://doi.org/10.1111/jpn.12504>
- KITTELMANN S, Seedorf H, Walters WA, Clemente JC, Knight R, Gordon JI, Janssen PH. 2013. Simultaneous amplicon sequencing to explore co-occurrence patterns of bacterial, archaeal and eukaryotic microorganisms in rumen microbial communities. *PLoS ONE*. 2(1):1112-1126. ISSN: 1932-6203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047879>
- KOHAN AB, Wang F, Lo CM, Liu M, Tso P. 2015. ApoA-IV: current and emerging roles in intestinal lipid metabolism, glucose homeostasis, and satiety. *Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiologpy*. 308(1):472-481. ISSN: 0193-1857. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00098.2014>
- KONG F, Liang Y, Légeret B, Beyly-Adriano A, Blangy S, Haslam RP, Napier JA, Beisson F, Peltier G, Li-Beisson Y. 2017. Chlamydomonas carries out fatty acid β -oxidation in ancestral peroxisomes using a bona fide acyl-CoA oxidase. *The Plant Journal*. 90(1):358-371. ISSN: 0960-7412. <http://dx.doi.org/10.1111/tj.13498>
- KOZŁOWSKA M, Cieślak A, Jóźwik A, El-Sherbiny M, Stochmal A, Oleszek W, Kowalczyk M, Filipiak F, Szumacher-Strabel M. 2019. The effect of total and individual alfalfa saponins on rumen methane produc. *Journal of the Science Food and Agriculture*. 100(1):1922-1930. ISSN: 0022-5142. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10204>
- KRAUSE DO, Nagaraja TG, Wright ADG, Callaway TR. 2013. Board-invited review: Rumen microbiology: Leading the way in microbial ecology. *Journal Animal Science*. 91(1):331-339. ISSN: 1525-3163. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5567>
- KREHBIEL CR. 2014. Invited review: Applied nutrition of ruminants: Fermentation and digestive physiology. *The Professional Animal Scientist*. 30(1):129-139. ISSN: 1080-7446. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30100-5](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30100-5)
- LI MM, Sengupta S, Hanigan MD. 2019^a. Using artificial neural networks to predict pH, ammonia, and volatile fatty acid concentrations in the rumen. *Journal of Dairy Science*. 102(1):20-32. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15964>
- LI MM, Titgemeyer EC, Hanigan, MD. 2019^b. A revised representation of urea and ammonia nitrogen recycling and use in the Molly cow model. *Journal of Dairy Science*. 102(6):67-88. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15947>
- LONCKE C, Nozière P, Bahloul L, Vernet J, Lapierre H, Sauvant D, Ortigues-Marty I. 2015. Empirical prediction of net splanchnic release of ketogenic nutrients, acetate, butyrate and β -hydroxybutyrate in ruminants: a meta-analysis. *Animal*. 9(3):449-463. ISSN: 2076-2615. <https://doi.org/10.1017/S1751731114002638>

- MARTINES A-CMF, van Eunen K, Reijngoud D-J, Bakker BM. 2017. The promiscuous enzyme medium-chain 3-keto-acyl-CoA thiolase triggers a vicious cycle in fatty-acid beta-oxidation. *PLoS Computational Biology*. 13(4):100-123. ISSN: 1553-734X. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005461>
- McFADDEN JW. 2020. Review: Lipid biology in the periparturient dairy cow: contemporary perspectives. *Animal* 14(S1): s165-s175. ISSN: 0968-0004. ISSN: 2076-2615. <https://doi.org/10.1017/S1751731119003185>
- MENGER MF, Nome F. 2019. Interaction vs preorganization in enzyme catalysis. A dispute that calls for resolution. *ACS Chemical Biology*. 14(1):1386-1392. ISSN: 1554-8929. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.8b01029>
- MIKOŁAJCZYK K, Pecka-Kiełb E, Zachwieja A. 2019. Impact of the volume and the profile of volatile fatty acids in the rumen fermentation on cow productivity and milk composition. *Mljekarstvo*. 69(4):222-228. ISSN: 0026-704X. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2019.0402>
- MORITA M, Matsumoto S, Okazaki A, Tomita K, Watanabe S, Kawaguchi K, Minato D, Matsuya Y, Shimozawa N, Imanaka T. 2016. A novel method for determining peroxisomal fatty acid β -oxidation. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 39(1):725-731. ISSN: 0141-8955. <http://dx.doi.org/10.1007/s10545-016-9952-y>
- MOYANO JC, López JC, Galván DC, Marini PR, Fischman ML. 2018. Daily variations in protein and energy metabolism during the day in hair sheep in the ecuadorian Amazon Region. *Journal of Veterinary Science & Technology*. 9(2):19-23. ISSN: 2157-7579. <https://doi.org/10.4172/2157-7579.1000530>
- NORRIS GH, Jiang C, Ryan J, Porter CM, Blesso CN. 2016. Milk sphingomyelin improves lipid metabolism and alters gut microbiota in high fat diet-fed mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 30(1):93-101. ISSN: 0955-2863. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.12.003>
- NUNES-NESI A, Araujo WL, Obata T, Fernie AR. 2013. Regulation of the mitochondrial tricarboxylic acid cycle. *Current Opinion in Plant Biology*. 16(1):335-343. ISSN: 1369-5266. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2013.01.004>
- OSORIO JH, Barrera LM, Pérez JE. 2015. Comparación del perfil lipídico por sexo y edad en ovinos. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. 62(1):11-19. ISSN: 0120-2952. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v62n1.49381>
- PANOV A, Orynbayeva Z, Vavilin V, Lyakhovich V. 2014. Fatty acids in energy metabolism of the central nervous system. *BioMed Research International*. 20(1):30-42. ISSN: 2414-6133. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/472459>
- PARK CJ, Armenia SJ, Shaughnessy MP, Greig CJ, Cowles RA. 2019. Potentiation of serotonin signaling leads to increased carbohydrate and lipid absorption in the murine small intestine. *Journal of Pediatric Surgery*. 54(1):1245-1249. ISSN: 0022-3468. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2019.02.027>

- POHER AL, Tschöp MH, Müller TD. 2018. Ghrelin regulation of glucose metabolism. *Peptides*. 100(1):236-242. ISSN: 0196-9781. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2017.12.015>
- POURAZAD P, Khiaosa-ard R, Kumar M, Wetzels SU, Klevenhusen F, Metzler-Zebeli BU, Zebeli Q. 2016. Transient feeding of a concentrate-rich diet increases the severity of subacute ruminal acidosis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 94(1):726-738. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9605>
- PRIETO ME, Mahecha LL, Angulo AJ, Vargas SJE. 2016. Efecto de la suplementación lipídica sobre ácidos grasos en leche de vaca, énfasis en ácido ruménico. *Agronomía Mesoamericana*. 27(2):421-437. ISSN: 2215-3608. <https://doi.org/10.15517/am.v27i2.22022>
- PUPPEL K, Kuczyńska B. 2016. Metabolic profiles of cow's blood; a review. *Journal of the Science Food and Agriculture*. 96(1):4321-4328. ISSN: 0022-5142. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7779>
- QAID MM, Abdelrahman MM. 2016. Role of insulin and other related hormones in energy metabolism-A review. *Cogent Food and Agriculture*. 2(1):126-142. ISSN: 2331-1932. <http://dx.doi.org/10.1080/23311932.2016.1267691>
- QIYU D, Rong Z and Tong F. 2019. Review of strategies to promote rumen development in calves. *Animals*. 9(8):2-15. ISSN: 2076-2615. <https://doi.org/10.3390/ani9080490>
- QUMAR M, Khiaosa-ard R, Pourazad P, Wetzels SU, Klevenhusen F, Kandler W, Aschenbach JR, Zebeli Q. 2016. Evidence of *in vivo* absorption of lactate and modulation of short chain fatty acid absorption from the reticulo-rumen of non lactating cattle fed high concentrate diets. *PloS ONE*. 11(10):1-15. ISSN: 1932-6203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164192>
- RAMSAY JD, Evanoff R, Mealey RH, Simpson EL. 2019. The prevalence of elevated γ -glutamyltransferase and sorbitol dehydrogenase activity in racing Thorough bred and their associations with viral infection. *Equine Veterinary Journal*. 51(1):738-742. ISSN: 0425-1644. <https://doi.org/10.1111/evj.13092>
- RESENDE Jr JC, Daniel JLP, Barreto-Vianna ARC, Peixoto JV, Guimarães GC, Costa SF, Lima RF, Meirelles FC. 2019. Determination of volatile fatty acids clearance in intact ruminal digesta. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 14(1):8-17. ISSN: 1900-9607. <http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.14.1.1>
- ROSTOM H, Shine B. 2018. Basic metabolism: proteins. *Journal of Basic Science*. 30(6):234-240. ISSN: 2448-4997. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2018.01.009>
- ROTTA PP, Valadares-Filho SC, Detmann E, Costa-Silva LF, Paulino MF, Marcondes MI, Lobo AAG, Villadiego FAC. 2014. Digesta sampling sites and marker methods for estimation of ruminal outflow in bulls fed different proportions of corn silage or sugarcane. *Journal of Dairy Science*. 92(1):2996-3006. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7364>
- SCHUBA J, Südekum KH, Pfeffer E, Jayanegara A. 2017. Excretion of faecal, urinary urea and urinary non-urea nitrogen by four ruminant species as influenced by dietary

nitrogen intake: A meta-analysis. *Livestock Science*. 198(1):82-88. ISSN: 1871-1413. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2017.01.017>

SHI F, Wang H, Degen AA, Zhou J, Guo N, Mudassar S, Long R. 2019. Rumen parameters of yaks (*Bos grunniens*) and indigenous cattle (*Bos taurus*) grazing on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Journal of Animal Physiology Animal Nutrition*. 103(1):969-976. ISSN: 1439-0396. <https://doi.org/10.1111/jpn.13095>

SHI HB, Du Y, Zhang CH, Sun C, He YL, Wu YH, Liu JX, Luo J, Loo JJ. 2018. Fatty acid elongase $\Delta 5$ (ELOVL $\Delta 5$) alters the synthesis of long-chain unsaturated fatty acids in goat mammary epithelial cells. *Journal Dairy Science*. 101(5):4586-4594. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14061>

SILVA M, Rosani VM, Pinto de Carvalho GG, Vieira PAJ, Albuquerque PML, Pereira L. Campos SF, Fernandes PA, Santana BL, Jeruzia VM, Almeida RLM. 2016. Nitrogen balance, microbial protein synthesis and ingestive behavior of lambs fed diets containing cottonseed cake in substitution of soybean meal semina. *Ciências Agrárias*. 37(4):2155-2166. ISSN: 2183-041X <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n4p2155>

SILVA VO, Lopes E, Andrade EF, Sousa RV, Zangeronimo MG, Pereira LJ. 2014. Use of biodiesel co-products (Glycerol) as alternative sources of energy in animal nutrition: a systematic review. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 46(1):111-120. ISSN: 0301-732X. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2014000100015>

SONG S, Wu J, Zhao S, Casper DP, Zhang L, He B, Lang X, Wang C, Gong X, Wang F, Liu L. 2018. The effect of periodic energy restriction on growth performance, serum biochemical indices, and meat quality in sheep. *Journal Animal Science*. 96(1):4251-4263. ISSN: 1525-3163. <http://dx.doi.org/10.1093/jas/sky299>

TEKLEBRHAN T, Wang R, Wang M, Wen MW, Tan LW, Zhang XM, Ma ZY, Tan ZL. 2020. Effect of dietary corn gluten inclusion on rumen fermentation, microbiota and methane emissions in goats. *Animal Feed Science and Technology*. 259(1):114-122. ISSN: 0377-8401. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114314>

TORAL PG, Hervás G, Carreño D, Leskinen H, Belenguer A, Shingfield JK, Frutos F. 2017. In vitro response to EPA, DPA, and DHA: Comparison of effects on ruminal fermentation and biohydrogenation of 18-carbon fatty acids in cows and ewes. *Journal of Dairy Science*. 100(8):6187-6198. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12638>

TORAL PG, Monahan FJ, Hervá G, Frutos P, Moloney AP. 2018. Review: Modulating ruminal lipid metabolism to improve the fatty acid composition of meat and milk. Challenges and opportunities. *Animal*. 12(3):449-463. ISSN: 2076-2615. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001994>

TRAN LV, Malla AM, Kumar S, Tyagi TKA. 2017. Polyunsaturated fatty acids in male ruminant reproduction-A Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 30(5):622-637. ISSN: 1011-2367. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.1034>

VALDEBENITO R, Ruminot I, Garrido-Gerter P, Fernández-Moncada I, Forero-Quintero L, Alegría K, Becker HM, Deitmer JW, Barros LF. 2016. Targeting of astrocytic glucose

- metabolism by β -hydroxybutyrate. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 36(10):1813-1822. ISSN: 0271-678X. <https://doi.org/10.1177/0271678X15613955>
- VALENTE TNP, Lima ES, dos Santos WBR, Cesário AS, Tavares CJ, Fernandes IL, de Freitas MAM. 2016. Ruminant microorganism consideration and protein used in the metabolism of the ruminants: A review. *African Journal of Microbiology Research*. 10(14):456-562. ISSN: 1996-0808. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.7627>
- Van CLEEF EHCB, Almeida MT, Leal PH, Paschoaloto JR, Filho ESC, Ezequiel JMB. 2018. Effects of partial or total replacement of corn cracked grain with high concentrations of crude glycerin on rumen metabolism of crossbred sheep. *Small Ruminant Research*. 159(1):45-51. ISSN: 0921-4488. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.12.011>
- VARGAS JAC. 2019. Función y metabolismo de ácidos grasos en el tejido adiposo y hepático de rumiantes en producción: una revisión. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 14(2):30-44. ISSN: 1900-9607. <http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.14.2.3>
- WALTHER TC, Farese Jr. RV. 2012. Lipid droplets and cellular lipid metabolism. *Annual Review of Biochemistry*. 81(1):687-714. ISSN: 0066-4154. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061009-102430>
- WALLACE RJ, Snelling TJ, McCartney CA, Tapio I, Strozzi F. 2017. Application of meta-omics techniques to understand greenhouse gas emissions originating from ruminal metabolism. *Genetics Selection Evolution*. 49(9):3-14. ISSN: 0999-193X. <https://doi.org/10.1186/s12711-017-0285-6>
- WANG M, Wang R, Janssen PH, Zhang XM, Sun XZ, Pacheco D, Tan ZL. 2016. Sampling procedure for the measurement of dissolved hydrogen and volatile fatty acids in the rumen of dairy cows. *Journal Animal Science*. 94(1):1159-1169. ISSN: 1525-3163. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9658>
- WATTS JL, Ristow M. 2017. Lipid and carbohydrate metabolism in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*. 207(1):413-446. ISSN: 1943-2631. <https://doi.org/10.1534/genetics.117.300106>
- WITUS LS, Netirojjanakul C, Palla KS, Muehl EM, Weng CH, Iavarone AT, Francis MB. 2013. Site-Specific protein transamination using *N*-Methylpyridinium-4-carboxaldehyde. *Journal of the American Chemical Society*. 135(1):17223-17229. ISSN: 0002-7863. <https://doi.org/10.1021/ja408868a>
- YAZDI MH, Mirzaei-Alamouti HR, Amanlou H, Mahjoubi E, Nabipour A, Aghaziarati N, Baumgard LH. 2016. Effects of heat stress on metabolism, digestibility, and rumen epithelial characteristics in growing Holstein calves. *Journal of Dairy Science*. 94(1):77-89. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9364>
- YOHE TT, Schramm S, White RR, Hanigan MD, Parsons CLM, Tucker HLM, Enger BD, Hardy NR, Daniels KM. 2019. Form of calf diet and the rumen. II: Impact on volatile fatty acid absorption. *Journal of Dairy Science*. 102(9):8502-8512. ISSN: 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16450>

ZENG Y, Zeng D, Ni X, Zhu H, Jian P, Zhou Y, Xu S, Lin Y, Li Y, Yin Z, Pan K, Jing B. 2017. Microbial community compositions in the gastrointestinal tract of Chinese Mongolian sheep using illumina MiSeq sequencing revealed high microbial diversity. *AMB Express*. 7(75):2-10. ISSN: 2191-0855. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0378-1>

ZHOU H, Meng L, Yin X, Liu Y, Xu G, Wu J, Wu M, Yang L. 2019. Artificial biocatalytic cascade with three enzymes in one pot for asymmetric synthesis of chiral unnatural amino acids. *European Journal Organic Chemistry*. 38(1):6470-6477. ISSN: 1099-0690. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201900828>