



# *Programación fetal en vacas lecheras*

Trabajo final de la Especialización de Nutrición Animal de la Facultad de Cs Veterinarias de la U.N.L.P.

Autora: MV Ayelén Chiarle

Director: PhD Alejandro E. Relling

Jurados: Dra. Cecilia Furnus

Dra. Paula Turiello

Dr. Mauricio Giuliadori

## INDICE

Resumen.....	3
Introducción.....	4
Materiales y métodos.....	7
Resultados.....	9
Discusión.....	11
Conclusiones.....	13
Bibliografía.....	14

## Resumen

La programación fetal representa los cambios en la expresión génica del feto que son promovidos por causas nutricionales y/o endócrinas que ocurren en la vaca durante la gestación. Lo interesante es que estos cambios repercuten en aspectos de la vida adulta de la progenie, como por ejemplo, su *performance* productiva. El objetivo del estudio fue evaluar qué efecto poseen en la primera lactancia de las hijas (producción de leche acumulada hasta los 150 días): 1) la lactancia de la madre durante la gestación; 2) el número de gestaciones de la madre (1 a 8); 3) los días en lactancia y 4) la secreción de energía en la leche de la madre al momento de la concepción. Los datos se obtuvieron de una base de que contiene registros de 1131 tambos de la región pampeana durante el período 1981 a 2011 y se analizaron con un modelo de regresión lineal mixto (SAS 9.3). La producción de leche de las hijas a los 150 días disminuyó a medida que aumentaba el número de partos de la madre (valor de  $P < 0,05$ ). Las hembras que fueron concebidas antes de los 150 días en leche produjeron menos que las que fueron concebidas posteriormente ( $P < 0,05$ ). Por el contrario, la energía secretada en leche no tuvo efecto ( $P < 0,05$ ) sobre la producción de las hijas ( $P > 0,1$ ). En conclusión, los cambios metabólicos que enfrentan las vacas en lactancia al momento de la concepción y posiblemente, a consecuencia de las sucesivas gestaciones, repercuten en la producción futura de la descendencia.

## Introducción

El desarrollo fetal en etapas tempranas es influenciado por factores exógenos tales como el consumo de alimento, la partición de energía de la madre, las concentraciones de hormonas y de anticuerpos y el manejo productivo de la madre (Banos y col., 2007). Generalmente, en las vacas lecheras las primeras etapas del desarrollo fetal coinciden con el pico de producción de leche de la lactancia. Esta parte de la lactancia genera una gran demanda energética que es parcialmente cubierta mediante la movilización de las reservas corporales. En las últimas décadas se ha incrementado la producción de leche, en parte por selección genética de vacas mejores productoras que a su vez, daban una descendencia que lograba superar la producción materna (Berry y col., 2008) y, en parte, por mejoras en la alimentación de las vacas. Sin embargo, no se conoce con exactitud si todas las crías de una misma vaca reciben la misma herencia genética. Puesto que por efecto de la programación fetal el desarrollo no será el mismo para un individuo que es gestado en un ambiente con un adecuado aporte de nutrientes, que un feto en cual su madre está produciendo altas cantidades de leche o tiene una pobre nutrición pobre.

Se ha demostrado en diversas especies que el ambiente uterino influencia el desarrollo del feto y esto repercute en la adultez (Krechowec, 2006). En el caso particular de los bovinos, Berry y col. (2008) sugieren que las condiciones prenatales que experimenta el feto podrían afectar la *performance* y la salud en el animal adulto. Por lo tanto, el fenotipo resultante además de estar relacionado al genotipo del animal, podría deberse también a las modificaciones sufridas en el genoma, resultando en un “epigenotipo” específico (Rijnkels y col., 2010). Las modificaciones epigenéticas están dadas por cambios químicos en el genoma, las cuales quedan establecidas a través de las siguientes divisiones celulares y pueden transferirse a las próximas generaciones (Singh y col., 2012). Rijnkels y col. (2010) han definido a la epigenética como “las alteraciones estables en los genes que surgen durante el desarrollo”. El control de estas alteraciones estaría mediado por modificaciones en la metilación del ADN y/o por reformas en el empaquetamiento de la cromatina, y también posiblemente por cambios en la acetilación de la cromatina (Drake y Walker, 2004; Klose y Bird, 2006), lo que generaría el “silenciamiento” de ciertos genes (Berry y col., 2008).

El desarrollo inicial del embrión es rápido a consecuencia de las continuas divisiones celulares que se producen, no obstante, si el aporte de nutrientes y de oxígeno no es adecuado, la

tasa de división celular del feto se enlentece (Barker, 1995). Si estos períodos de desnutrición son prolongados disminuye de manera permanente el número de células que tendrán determinados órganos en el animal adulto (Barker y Clark, 1997). Tal es así que Barker (1995) propuso la hipótesis del origen fetal según la cual el ambiente uterino desencadena cambios permanentes que son transmitidos a las siguientes generaciones. Muchos trabajos refuerzan la teoría de que el estado fisiológico, nutricional y productivo de la madre afecta directamente el futuro rendimiento de su cría. Algunos ejemplos pueden encontrarse en humanos: aquellas mujeres que estaban embarazadas durante el período de hambruna en los Países Bajos en 1944, conocido como “El Invierno del Hambre”, tuvieron hijos y nietos con severos problemas de salud, por lo que la falta de nutrientes durante la preñez ha sido asociada al riesgo de sufrir enfermedades metabólicas en la vida adulta de las personas (Heijmans y col., 2008). Es decir, estos efectos maternos sobre el genoma fetal durante la gestación pueden alterar el fenotipo de la descendencia (Gonzalez-Recio y col., 2012).

Las vacas lecheras ofrecen un buen modelo para evaluar el efecto de la epigenética porque las terneras son separadas de sus madres poco tiempo luego del parto, con lo que factores como la aptitud materna y la calidad de la leche no actuarían como factores de confusión al estudiar el rendimiento futuro de la descendencia (Banos y col., 2007). Además, la producción de leche es una variable fácil de medir y de comparar. Durante la preñez y la lactancia de las vacas lecheras, los nutrientes deben ser particionados entre la placenta y la glándula mamaria, por eso parecería razonable esperar que aquellos fetos gestados por vacas que tengan una alta producción de leche no reciban una cantidad adecuada de nutrientes como para soportar un óptimo desarrollo fetal. En vacas lecheras, la fertilización del óvulo puede producirse concomitantemente con el pico de lactancia entre los 70 y 100 días en leche (DEL). De modo que la concepción ocurriría durante un balance energético que podría ser negativo, neutro o ligeramente positivo dependiendo del nivel de producción y de consumo de las vacas (Drackley, 1999).

La hipótesis de la programación fetal propone que si se produce algún tipo de estímulo o injuria durante los períodos críticos del desarrollo del feto se podrían alterar permanentemente tanto la estructura como la función de los tejidos (Drake y Walker, 2004). Se ha descrito que la morfogénesis de la glándula mamaria comienza durante el desarrollo fetal y que continúa en la pubertad, en la preñez y en las sucesivas lactancias con sus involuciones (Rijnkels y col., 2010). Estos cambios morfogénicos pueden ser afectados por las condiciones que enfrenta el feto dentro del útero (Berry y col., 2008).

Las hipótesis de este trabajo son:

1- Las vaquillonas que se encuentran gestando sin estar lactando dan una descendencia con mejor rendimiento productivo que las vacas que gestan y lactan al mismo tiempo. A su vez, a medida que aumenta el número de gestaciones disminuye la capacidad productiva de las hijas.

2- Las hijas que fueron concebidas a mayor DEL tendrán un mejor rendimiento productivo que aquellas que fueron concebidas en menores DEL.

3- A menor producción de energía en la leche de la madre al momento de la concepción, mayor producción de leche tendrá su descendencia.

El objetivo del trabajo fue evaluar qué efecto poseen en la primera lactancia de la descendencia:

1- La lactancia de la madre durante su gestación;

2- El número de gestaciones de la madre (1 a 8);

3- Los días en lactancia de la madre al momento de la concepción;

4- La energía secretada en leche.

## **Materiales y métodos**

Se realizó un estudio retrospectivo en una base de datos que posee registros productivos y reproductivos de las lactancias reportadas por 1131 tambos de la región pampeana, que realizaron sus controles lecheros en algunas de las 36 entidades de control lechero de la Provincia de Buenos Aires nucleadas en ARPECOL (Asociación de la Regional Pampeana de Entidades de Control Lechero), entre los años 1981 y 2011.

La base de ARPECOL está disponible en el programa PROTAMBO MASTER – DIRSA 3.1®. Se conformó una base de datos única mediante un código JAVA que por medio de un “driver ODBC” permitió leer las tablas del PROTAMBO e ingresar los datos a MySQL® (base de datos relacional de libre distribución). Esta última base de datos fue cargada en un servidor de alta prestación (HP ProLiant DL180 G6, doble procesador XEON®, 4GB RAM y 320 GB de disco (RAID 5)).

Para cada lactancia se calculó la producción de leche acumulada a los 150 DEL mediante la fórmula de los trapezoides. Para ello se seleccionaron las lactancias que llegaban a los 150 DEL y que tenían al menos 3 registros de controles lecheros con datos del porcentaje de grasa butirosa (GB). Con el fin de que las comparaciones entre lactancias sean válidas, el valor de los litros de leche en cada registro de control lechero fue estandarizado a 3,5% GB utilizando la fórmula de los Gaines y Davidson (1923). No se realizaron proyecciones teóricas de lactancias.

Como indicador reproductivo se calculó el intervalo parto-concepción (IPC), expresado en días, y se estimaron los cuartiles (C1<77 DEL, C2 entre 77 y 115 DEL, C3 entre 116 y 190 DEL, C4>190 DEL). Para calcularlos se utilizó como fecha de concepción la fecha del último servicio reportado antes del parto. Para las lactancias que no reportan sus servicios se calculó una fecha de servicio fecundante teórica, restándole 280 días a la fecha del nuevo parto. En estos registros sólo se tuvieron en cuenta las hembras servidas mediante inseminación artificial.

Por tanto, se analizaron las lactancias en las que se pudo calcular indicadores productivos y reproductivos (73.921 madres, 84.749 lactancias), como así también, en las lactancias sucesivas de las crías hembras nacidas en la lactancia considerada (85.019 hijas). Se conformó la planilla final que cuenta con 141.234 registros (con los indicadores tanto de la madre como de las hijas), que son el conjunto de lactancias iniciadas por las hijas.

Se utilizó un modelo de regresión lineal mixto para evaluar la producción acumulada a los 150 DEL de las hijas en función de la energía secretada en leche al momento de la concepción y del número de partos de la madre. El análisis se realizó con el procedimiento GLIMMIX de SAS 9.3®.

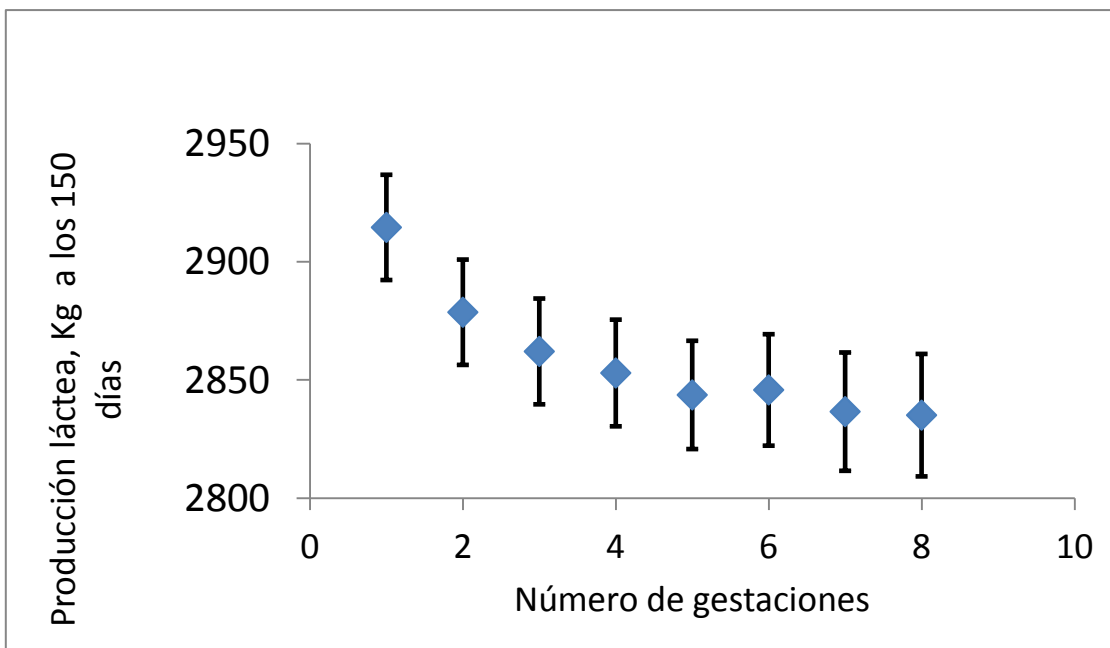
Se utilizaron todas las vacas cuyos datos de producción láctea, de grasa y de proteína estaban disponibles. Se incluyó al tambo como efecto aleatorio (Bloque) y al número de gestaciones, momento de la concepción (DEL) y energía secretada en leche acumulada a los 60 DEL como efectos fijos. Finalmente, se utilizaron contrastes ortogonales polinomiales para separar las medias.



## Resultados

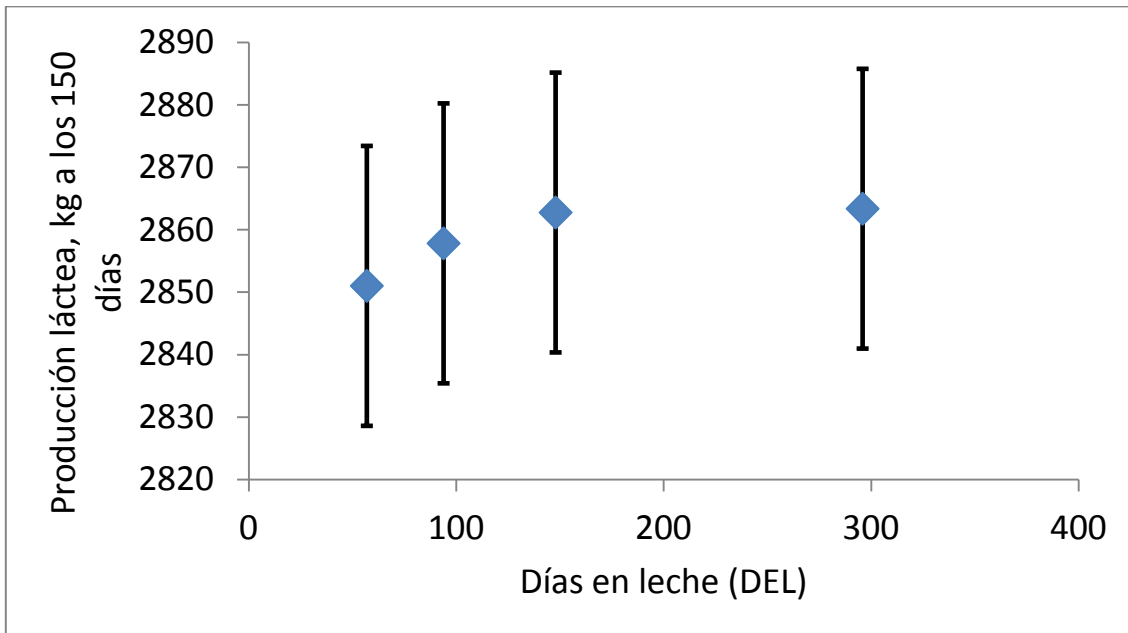
La producción de leche acumulada a los 150 DEL de las hijas disminuyó cuadráticamente a medida que aumentaba el número de gestaciones de la madre ( $P < 0,01$ , Figura 1). Las hijas de vaquillonas primerizas produjeron unos 36 litros más que las hijas de vacas con 2 gestaciones, la producción de las hijas disminuye a medida que aumenta el número de gestaciones (2.915, 2.879, 2.862, 2.853, 2.844, 2.846, 2.837 y 2.835 litros, para el 1°, 2°, 3°, 4°, 5°, 6°, 7° y 8° parto, respectivamente) (Figura 1). Por otra parte, las hembras que fueron concebidas después de los 150 DEL produjeron más (valor de  $P$  Lineal  $< 0,01$ , Cuadrático  $< 0,01$ , Cúbico  $> 0,10$ ) que las que fueron concebidas en promedio en los días 100 y 50 (2.862, 2.857 y 2.851 litros, respectivamente). A partir de los 150 DEL no hubo diferencias significativas en las producciones (Figura 2).

Finalmente, la energía secretada en leche no tuvo efecto sobre la producción acumulada hasta los 150 días de las hijas ( $P > 0,1$ ).



*Figura 1. Producción de leche acumulada en 150 días en vaquillonas nacidas desde la primera a la octava gestación*

*Valor de  $P$ : Lineal  $< 0,01$ ; Cuadrático  $< 0,01$ ; Cúbico  $> 0,1$*



*Figura 2. Producción de leche de vaquillonas que fueron concebidas a los 50, 100, 150 o más de 150 días en leche.*

*Valor de P Lineal <0.01, Cuadrático <0.01, Cúbico >0.10*

## Discusión

El presente estudio se focalizó en evaluar: el efecto de la lactancia; el efecto del número de gestaciones de la madre; el efecto de los días en leche en el que se produce la concepción; y el efecto de la energía secretada en leche al momento de la concepción, sobre la producción de leche (acumulada hasta los 150 días) en la primera lactancia de la descendencia.

En este trabajo se demostró que las hembras que fueron concebidas en ausencia de la lactancia materna produjeron más leche durante su primera lactancia que aquellas cuyas madres se encontraban lactando en el momento de la concepción, además, a medida que aumenta el número de gestaciones de una vaca, disminuye la producción de las hijas. Aquellas terneras gestadas durante la lactancia de la madre, podrían competir con la glándula mamaria por los nutrientes y de esa forma no recibir el aporte necesario de nutrientes para su normal desarrollo, o al menos, en menor cantidad que las terneras gestadas en ausencia de lactancia. Sin embargo, al comparar hijas de vacas que fueron concebidas en los mismos DEL pero con distinta producción de energía a través de la glándula mamaria, no se encontraron diferencias significativas en la producción. En contraste con este trabajo, Berry y col. (2008) hallaron que la producción de leche al momento de la concepción tiene un impacto negativo en la producción de su cría. En ese trabajo estos autores utilizaron una base de datos con más de 20.000 vacas, pero a diferencia de este estudio, no tuvieron en cuenta los DEL de la madre al momento de la concepción. La capacidad de una vaca gestar una cría está dada por la forma en la cual ella distribuye los nutrientes para sostener el desarrollo del feto y la producción de leche o su propio crecimiento (Banos y col., 2007), las evidencias de este estudio podrían sugerir que el aporte de nutrientes hacia el feto se ve más limitado en el caso de una vaca lactando en contraste con una vaquillona que continúa creciendo. Aunque si bien las vaquillonas no destinan su energía en producir leche al mismo tiempo que están gestando, aún se encuentran creciendo por lo que parte de sus nutrientes debe ser destinado a su propio desarrollo. Esto nos lleva a pensar que no es el desvío de nutrientes y energía o al menos no solo ese factor el que influye en la producción de la progenie. Probablemente, el hecho de que aquellas madres primíparas den una descendencia con una mejor producción se deba a que la gestación se desarrolla en un ambiente uterino intacto, el cual no sufrió las injurias propias del parto incluyendo la potencial contaminación bacteriana. Las enfermedades del pos parto tales como metritis y endometritis afectan una gran proporción de los rodeos lecheros (Giuliodori y col., 2013), estas afecciones podrían ser el motivo por el cual a

medida que aumenta el número de gestaciones de una vaca, la producción de sus hijas disminuye. Krechowec (2006) sugiere que cuando las condiciones intra uterinas son pobres el feto desarrolla una adaptación alterando su expresión génica para maximizar la captación y la utilización de los nutrientes disponibles. Esta cuestión también puede explicar el hecho de que las hijas que fueron concebidas luego del los 150 DEL produzcan más que las que fueron concebidas previo a los 150 DEL, de modo que el ambiente uterino tiene más tiempo para recuperarse de las injurias sufridas durante el parto. Posiblemente la llegada de los nutrientes para el desarrollo del feto no sea la misma en la primera gestación que en las subsecuentes siendo más pobre la nutrición fetal de manera proporcional a las gestaciones y llevando a que esta situación produzca modificaciones en la secuencia genética.

Otras ventajas de la primera gestación en contraste con las siguientes fue demostrada en el trabajo de Gonzalez-Recio y col. (2012) donde las hembras que fueron concebidas por vacas no lactantes tuvieron mayor vida útil que aquellas cuyas madres estaban lactando durante los primeros 220 días de gestación; además, la composición de la leche en cuanto a proteína y grasa fue mejor en las primogénitas. Por otra parte, Banos y col. (2007) encontraron que en vacas lecheras la edad de la madre en el primer parto tuvo un efecto significativo en la condición corporal de la hija, edad al primer servicio, número de inseminaciones para concebir, tasa de no retorno y producción de leche, las hijas de vacas de mayor edad mostraron una menor condición corporal, produjeron menos cantidad de leche y necesitaron más cantidad de días para llegar al primer servicio.

Queda claro entonces que el estado fisiológico y metabólico que esté atravesando la vaca durante la gestación tiene una gran repercusión en la vida productiva de la cría. La producción de las madres parece no ser tan importante en este sentido, como si lo es la cantidad de gestaciones previas y los días en leche en el cual se encuentran al momento de la concepción. En este estudio no se proveyó evidencia de potenciales cambios genéticos en los fetos relacionados con la edad de las madres y futuros estudios deberían abordar esta hipótesis.

## Conclusiones

Las vaquillonas hijas de hembras que tuvieron su primera gestación produjeron más que las hijas provenientes de las gestaciones siguientes; a su vez, las hijas de vacas que fueron concebidas de los 150 DEL en adelante produjeron más que aquellas que fueron concebidas previo a los 150 DEL. Sin embargo, la Energía producida durante el momento de la concepción no tuvo efectos significativos sobre la producción de las hijas. Si bien este estudio arrojó resultados ciertos y estadísticamente significativos, lejos de generar certezas abrió una gran cantidad de interrogantes: a qué se debe este fenómeno; la menor producción en hijas de madres multíparas se debe al número de gestaciones o a la edad de la madre o a ambas; en transferencias embrionarias la *performance* de la descendencia se vería igual de afectada según la cantidad de gestaciones de la vaca receptora y/o de la donante.

Es fundamental estudiar los cambios en el genoma en los distintos escenarios para poder responder estas cuestiones. A su vez, el entendimiento en la programación fetal a la hora de tomar decisiones en cuanto a los aspectos reproductivos permitirá una mayor optimización y eficiencia en el tambo.

## **Bibliografía**

- 1- Banos G, Brotherstone S, Coffey MP. 2007. Prenatal maternal effects on body condition score, female fertility, and milk yield of dairy cows. *J Dairy Sci* 90(7):3490-9.
- 2- Barker DJ. 1995. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 311(6998):171-4.
- 3- Barker DJ, Clark PM. 1997. Fetal undernutrition and disease in later life. *Rev. Reprod.* 2(2):105-12.
- 4- Berry DP, Lonergan P, Butler ST, Cromie AR, Fair T, Mossa F, Evans AC. 2008. Negative influence of high maternal milk production before and after conception on offspring survival and milk production in dairy cattle. *J Dairy Sci* 91(1):329-37.
- 5- Drake AJ, Walker BR. 2004. The intergenerational effects of fetal programming: non-genomic mechanisms for the inheritance of low birth weight and cardiovascular risk. *J Endocrinol.* 180(1):1-16.
- 6- Drackley JK. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J Dairy Sci.* 1999 Nov;82(11):2259-73.
- 7- Giuliodori MJ, Magnasco RP, Becu-Villalobos D, Lacau-Mengido IM, Risco CA, de la Sota RL. Metritis in dairy cows: risk factors and reproductive performance. *J Dairy Sci.* 2013 Jun;96(6):3621-31. doi: 10.3168/jds.2012-5922.
- 8- González-Recio O, Ugarte E, Bach A. 2012. Trans-generational effect of maternal lactation during pregnancy: a Holstein cow model. 7(12):e51816.doi:10.1371/journal.pone.0051816.
- 9- Graham C Burdge, Samuel P Hoile, Tobias Uller, Nicola A Thomas, Peter D Gluckman, Mark A Hanson, Karen A Lillycrop. 2011. Progressive, transgenerational changes in offspring phenotype and epigenotype following nutritional transition. *PLoS One* 30;6(11):e28282.

- 10- Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, Slagboom PE, Lumey LH. 2008. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci* 105(44):17046-9.
- 11- Jaenisch R, Bird A. 2003. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet.* 33:Suppl. 245-54.
- 12- Krechowec SO, Vickers M, Gertler A, Breier BH. 2006. Prenatal influences on leptin sensitivity and susceptibility to diet-induced obesity. *J Endocrinol.* 189(2):355-63.
- 13- Klose RJ, Bird AP. 2006. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem Sci.* 31(2):89-97.
- 14- Park CS. 2005. Role of compensatory mammary growth in epigenetic control of gene expression. *FASEB J.* 19(12):1586-91.
- 15- Rijnkels M, Kabotyanski E, Montazer-Torbati MB, Hue Beauvais C, Vassetzky Y, Rosen JM, Devinoy E. 2010. The epigenetic landscape of mammary gland development and functional differentiation. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 15(1):85-100.
- 16- Singh K, Molenaar AJ, Swanson KM, Gudex B, Arias JA, Erdman RA, Stelwagen K. 2012. Epigenetics: a possible role in acute and transgenerational regulation of dairy cow milk production. *Animal* 6(3):375-81.