

SUBNUTRICIÓN EN GESTACIÓN TEMPRANA EN OVINOS: IMPACTO DE LARGO PLAZO EN LAS CRÍAS

UNDERNUTRITION DURING EARLY GESTATION IN SHEEP: LONG TERM IMPACT ON THE OFFSPRING

Ignacio Beltrán y Daniel Alomar

Instituto de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile

ABSTRACT

Keywords: fetal programming, undernutrition, ewes, gestation.

Undernutrition during early gestation in sheep: Long term impact on the offspring

Nutrition during gestation is the most important environmental factor for embryo and fetal development. A restriction during the first three months of pregnancy could be imperceptible in terms of live weight of the newborn lamb due to the compensatory effect of the placenta when normal feeding is re-established. However, it negatively affects blood flow due to a reduction of plasma concentration of nitric oxide and polyamines which are important regulators of uterine and placental vascularization, resulting in a reduced nutrient flow from mother to fetus. The consequences of this situation have long term effects in the productive and reproductive performance of the offspring, resulting in economic losses for the productive system. Among these effects are the reduction in ovulatory rate, the increase in fat deposition, a reduction in quality and quantity of wool and muscle fibers and the increase of behavioral reactivity of the animals during the sudden restriction and appearance of a stimulus. Therefore, proper nutrition during the first gestation stages should be emphasized because of its effects on the extrauterine life of the offspring. This effects have been attributed to permanent consequences of maternal nutrition on gene expression patterns, effect known as "fetal programming".

RESUMEN

Palabras Claves: programación fetal, desnutrición, ovejas, gestación.

La nutrición durante la gestación es el factor ambiental más importante en el desarrollo embrionario y fetal. Una restricción durante el primer trimestre de la gestación, si bien no genera una alteración en el peso inicial de sus crías, debido al efecto compensatorio de la placenta al restablecer los requerimientos energéticos (por lo tanto, un mal indicador del estado nutricional de la madre durante gestación), genera una alteración en el flujo sanguíneo producto de una disminución en las concentraciones plasmáticas de óxido nítrico y poliaminas, que son importantes reguladores de la vascularización uteroplacentaria, generando una disminución en el intercambio de nutrientes de la madre al feto. Las consecuencias de esta alteración en estados iniciales de la preñez, genera efectos que repercuten a largo plazo en la vida productiva y reproductiva de la cría, que se pueden traducir en pérdidas económicas para el sistema productivo. Dentro de estas injurias, se encuentran una disminución en la tasa ovulatoria, aumento en la deposición grasa, alteración en la calidad y composición de la lana y fibras musculares y un aumento en la reactividad de los animales durante la restricción y aparición repentina de un estímulo, por lo que es necesario enfatizar en la nutrición en los primeros estadios de la gestación, debido a su gran repercusión sobre la vida extrauterina de sus crías. Estos fenómenos se han atribuido al efecto permanente de la nutrición materna sobre los patrones de expresión génica, efecto conocido como "programación fetal"

INTRODUCCIÓN

Un punto importante a considerar en sistemas de producción ovina, es la nutrición durante la gestación, ya que alteraciones durante este periodo pueden generar importantes cambios en las crías, que pueden repercutir económicamente en el sistema (Rae *et al.*, 2002a). Dentro de las alteraciones asociadas a una precaria nutrición durante la gestación en ovejas, se encuentra el aumento de la morbilidad y mortalidad, disfunciones intestinales y respiratorias, un lento crecimiento post-parto, aumento en la deposición de grasa y alteraciones en la composición de la carne (Ford *et al.*, 2007; Vonnahme, 2012). También se han reportado alteraciones en la calidad de la lana (Ashworth *et al.*, 2009). Además, se ha observado una serie de consecuencias negativas en el desempeño reproductivo de las hembras, lo cual puede traer importantes consecuencias económicas (Rae *et al.*, 2002a).

Debido a esta serie de consecuencias, la nutrición se considera como el principal factor ambiental capaz de modificar programaciones estructurales y fisiológicas de manera permanente en el desarrollo fetal, los que se aprecian durante la vida extrauterina. Además, muchas alteraciones son producidas durante las primeras etapas del crecimiento intrauterino, que coincide con el periodo de crecimiento exponencial de la placenta (Addah *et al.*, 2012; Vonnahme, 2012). Estas alteraciones durante la preñez podrían explicar por qué las características de la canal y la tasa de crecimiento en animales jóvenes varían incluso cuando la genética y nutrición se mantienen constantes (Ford *et al.*, 2007).

Considerando que las fluctuaciones climáticas durante el año generan una variación en la disponibilidad de forraje en los sistemas de producción, es probable que ovejas gestantes que se encuentran a pastoreo, experimenten periodos de baja alimentación, que como ya se mencionó, repercuten en el desarrollo del feto (Ford *et al.*, 2007).

El término adoptado para describir el proceso por el cual una injuria (en este caso, la subnutrición) durante periodos claves del desarrollo embrionario, ejerce un efecto permanente en los patrones de expresión génica de una amplia gama de sistemas neuronales y endocrinos del cuerpo, corresponde a la programación fetal, cuyo impacto se observa durante la vida postnatal (Cronjé, 2003).

El objetivo del presente trabajo es revisar de qué forma repercute la subnutrición durante la gestación temprana de la oveja, sobre las características genotípicas y fenotípicas de la cría durante el periodo pre y postparto y analizar los mecanismos involucrados en tales alteraciones.

EFEECTO DE LA SUBNUTRICION DURANTE LA GESTACIÓN TEMPRANA EN OVINOS

Efectos sobre la fisiología reproductiva de las crías

El efecto de la subnutrición de hembras gestantes sobre el aparato reproductor de sus crías, depende del periodo de la preñez en el cual se produce la injuria (Rae *et al.*, 2002b). En el cuadro 1 se puede observar un resumen de algunos efectos de la desnutrición en ovejas

Cuadro 1. Efecto de la subnutrición sobre el aparato reproductivo en las crías.
Table 1. Effect of undernutrition on the reproductive system of the offspring.

Período (días)	Intensidad de la Restricción	Efectos en la Progenie	Referencia
30 al parto	90 %	Reducción sensibilidad GnRH a 55 días de edad en corderos.	Deligeorgis et al. (1996)
0 - 115	50 %	Reducción sensibilidad GnRH en machos (día 115).	Rae et al. (2002c)
0 - 100	Baja alimentación	Sin efecto sobre la tasa ovulatoria	Abstract Gun et al. (1995)
0 - 30	50 %	Desarrollo folicular tardío al día 110 de gestación	Rae et al. (2001)
Apareamiento- 95	50 %	Menor tasa ovulatoria (20 meses) Sin efecto en FSH, LH Sin efecto en machos	Rae et al. (2002a)

sobre la fisiología reproductiva de sus crías. En machos, se ha observado una reducción en la sensibilidad hipofisiaria a GnRH, determinada según la liberación de la hormona luteinizante (LH), en respuesta a la estimulación con GnRH. Esta sensibilidad hipofisiaria disminuida se ha observado al día 115 de gestación en fetos de ovejas sometidas a una restricción dietaria desde el apareamiento hasta el día 115 de gestación (Rae *et al.*, 2002c) y también a los 55 días de edad en corderos provenientes de ovejas con restricción en su alimentación desde el día 30 de gestación hasta el parto (Deligeorgis *et al.*, 1996). Estos efectos se han atribuido, en parte, a la reducción en la concentración de hormonas tiroideas en el feto producto de la desnutrición (Rae *et al.*, 2002c) ya que se ha demostrado en carneros maduros Merino con hipotiroidismo, una disminución en la sensibilidad a GnRH (Chandrasekhar *et al.*, 1985). Sin embargo, esta disminución en la sensibilidad hipofisiaria a GnRH es transitoria, ya que en un estudio realizado por Rae *et al.* (2002a), no se observó diferencias en la sensibilidad de la hipófisis a estimulación con GnRH. Además, no se encontró ningún efecto sobre el perímetro escrotal, calidad de semen y pulsos de LH, por lo que una disminución en la nutrición durante la gestación, no tendría efectos reproductivos permanentes en el macho.

En el caso de las hembras, la situación es distinta, ya que se ha observado una disminución en la tasa ovulatoria en las crías cuando las hembras gestantes fueron sometidas a periodos de subnutrición (50 % de sus requerimientos) durante los primeros 95 días de preñez. La explicación para tal suceso es un tanto confusa, ya que no se observaron alteraciones en los patrones de liberación de LH, FHS ni de GnRH, por lo que se especula esté asociado a efectos independientes de estas hormonas durante el desarrollo ovárico (Rae *et al.*, 2002a). Esto sugiere que durante la gestación temprana hay una serie de procesos que marcan la programación fetal de la función ovárica, que se reflejan en una disminución de la tasa ovulatoria de las hijas de ovejas subalimentadas durante este periodo (Rae *et al.*, 2002a). La tasa ovulatoria en producción ovina es relevante, pues condiciona el número de hembras con ovulaciones dobles o triples, impactando en la prolificidad del rebaño y su porcentaje de parición (Wilkins, 1997). Estos resultados, son contrarios a los expuestos por Gunn *et al.* (1995) quienes no encontraron

efectos en la tasa ovulatoria de la progenie cuando se sometieron hembras a una baja alimentación durante la gestación. Estas diferencias se pueden deber al tiempo y la intensidad de restricción a la cual fueron sometidas, pudiendo explicar las diferencias entre tratamientos. También se ha observado un desarrollo folicular tardío en las crías, cuyas madres fueron restringidas a un 50 % de sus requerimientos durante la mitad y últimos meses de gestación (Rae *et al.*, 2001).

Efectos sobre el ambiente útero-placentario

La placenta, juega un rol fundamental en el crecimiento fetal. Su importancia se debe a que por medio de los cotiledones (vellosidades coriónicas) permite su unión con el útero en regiones llamadas carúnculas. Este complejo cotiledón-carúncula, denominado placentoma, permite el intercambio fisiológico de gases respiratorios, nutrientes y desechos, entre el feto y la madre, a través del flujo sanguíneo útero-placentario. Se han observado diferencias en cuanto al período de crecimiento placentario entre ovejas y vacas: en ovejas, existe un crecimiento exponencial durante los primeros 70 a 80 días de gestación, para luego disminuir notablemente su crecimiento hasta el término (Vonnahme, 2012). En vacas, el crecimiento se mantiene hasta el final de la gestación, aunque éste es menor que la tasa de crecimiento fetal (Reynolds y Redmer, 1995). Estas diferencias entre ovinos y bovinos en el patrón de crecimiento entre la gestación media y tardía, se asocian a un mayor aumento de la densidad del área capilar (asociada a la magnitud del flujo sanguíneo) de carúnculas y cotiledones en ovinos, vs. un mayor aumento del peso de carúnculas y cotiledones en bovinos (Vonnahme *et al.*, 2013).

Para que ocurra un eficiente intercambio fisiológico, es necesario que exista un correcto flujo sanguíneo útero-placentario y fetal, el cual se inicia muy temprano en el desarrollo embrionario (Addah *et al.*, 2012; Vonnahme, 2012). Se ha demostrado que el crecimiento exponencial del feto durante la última mitad de la gestación, depende principalmente de un correcto desarrollo vascular útero-placentario (Reynolds y Redmer, 1995) por lo que resulta fundamental un desarrollo correcto de la placenta, que ocurre al inicio de la gestación. Sin embargo, también se ha demostrado que períodos de restricción del alimento durante el inicio y mediados de la gestación, no afectan el desarrollo de los placentomas (importantes

en el intercambio) ya que una vez reanudada la alimentación, éstos presentan un crecimiento compensatorio (Vonnahme, 2012). En bovinos la situación es diferente, ya que una restricción de la dieta, desde el día 30 al día 125 de gestación, generó una reducción del peso de sus cotiledones al día 250 de gestación (Vonnahme *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2007). Por lo tanto, es fundamental el conocimiento fisiológico del desarrollo placentario de las especies, debido a su rol en el transporte de nutrientes. Además, permite tener una mejor comprensión de cuándo es más crítico el efecto de la restricción y la realimentación durante la gestación en vacas y ovejas (Vonnahme, 2012).

Se ha observado que ovejas con restricción de nutrientes desde el día 28 al día 135 de gestación, presentaron niveles bajos de alfa-aminoácidos (especialmente serina, arginina y aminoácidos de cadena corta) y poliaminas en el plasma fetal y materno, así como en el líquido alantoideo y amniótico fetal durante la mitad y final de la gestación (Kwon *et al.*, 2004; Vonnahme, 2012). Las poliaminas regulan la síntesis de proteínas y de ADN, por lo tanto, afectan la proliferación celular, cuyo efecto se traduce en una disminución en el crecimiento fetal y placentario, como se ha observado en ratas (Wu *et al.*, 2004). En el estudio de Kwon *et al.* (2004) la realimentación permitió recuperar las concentraciones de aminoácidos y poliaminas plasmáticas, evitando el retraso en el crecimiento uterino.

Otros estudios de restricción de la alimentación durante la mitad de la gestación, han observado una disminución del 33 % en las concentraciones del ARNm de la óxido nítrico sintetasa, factor angiogénico y vasoactivo (Lekatz *et al.*, 2010) mediante la síntesis de óxido nítrico, un importante regulador del flujo sanguíneo entre la placenta y el feto (Wu *et al.*, 2004). Por lo tanto, una restricción nutricional en esa etapa ejerce un efecto sobre el intercambio de nutrientes, generando un retraso en el crecimiento fetal del ovino.

En general, un déficit de óxido nítrico y poliaminas se debe a una disminución en el transporte placentario de arginina y ornitina producto de una baja o alta nutrición durante la gestación. Esto genera una disminución en la embriogénesis lo cual conlleva una disminución en el crecimiento y angiogénesis placentaria, flujo sanguíneo feto-placentario, suplementación de nutrientes y oxígeno desde la madre al feto y por último, una disminución en el crecimiento y

desarrollo fetal (Wu *et al.*, 2004). Como se puede observar en la figura 1.

Ovejas con restricción de alimentación del 50% de sus requerimientos según National Research Council (NRC), durante los días 28 a 78 de gestación, presentaron una disminución ($p < 0,05$) en las concentraciones de arginina, citrulina (precursor de la síntesis de arginina) y poliaminas en el plasma materno, plasma fetal y líquido alantoideo de un 23-30 % al día 78 de gestación (Kwon *et al.*, 2004). En otros estudios se ha observado una disminución en la concentración de BH₄ (co-factor de la óxido nítrico sintetasa) de un 32 a 36 % en ovejas desnutridas, generando una menor disponibilidad de estos para la síntesis de óxido nítrico (Wu *et al.*, 2004).

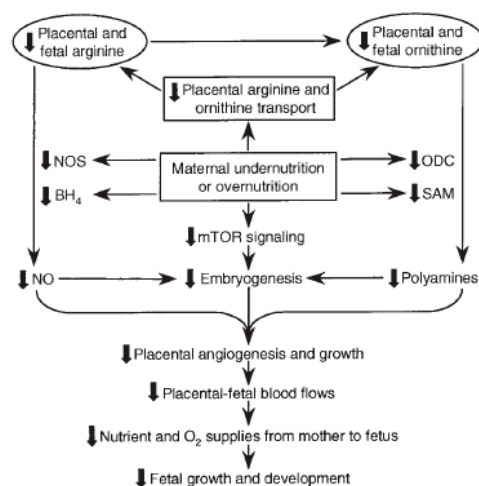


Figura 1. Mecanismos propuestos para la restricción del crecimiento asociado a una baja o alta alimentación en ovejas. Símbolo “↓” indica una reducción. (Modificado de Wu *et al.*, 2004).

Figure 1. Proposed mechanisms for growth restriction associated with low or high feeding in sheep. Symbol “↓” indicates a reduction. (Modified from Wu *et al.*, 2004).

Esta alteración del flujo sanguíneo producto de un déficit alimentario al inicio de la gestación, puede ser corregida mediante la suplementación con melatonina, permitiendo recuperar el crecimiento fetal. Se ha demostrado en ratas, que la suplementación con melatonina ha generado un aumento en el flujo sanguíneo uterino y umbilical (por ende, una mejora en la transferencia de nutrientes y crecimiento fetal), por medio de una mayor expresión de la enzima antioxidante

placentaria (Richter *et al.*, 2009). Lemley *et al.* (2012), mediante la evaluación de tres grupos (con 5 g de melatonina, sin melatonina y restricción del 60% de requerimientos de alimentación) desde el día 50 a 130 de gestación, observaron que ovejas suplementadas con melatonina presentaron un aumento del 9 % del diámetro biparietal, en comparación al grupo restringido (disminución del 9 %) al día 110 de gestación y, además, un aumento en el flujo sanguíneo. Por lo tanto, la suplementación con melatonina podría corregir las consecuencias en el crecimiento fetal producto de una alteración en el flujo sanguíneo (Vonnahme, 2012).

Por otro lado, se ha observado que el peso al nacimiento no se ve alterado producto de una baja nutrición durante la gestación. Por lo tanto, éste no es un buen indicador de alteraciones en el desarrollo y crecimiento fetal. Esto se debe a que ovejas desnutridas durante la gestación, experimentan una pérdida en su condición corporal durante el periodo cercano al parto, por una movilización de lípidos para permitir un correcto crecimiento fetal (Osgerby *et al.*, 2002). Más resultados respaldan que la restricción al inicio de la gestación no afecta el peso al nacimiento, posiblemente por un efecto compensatorio del flujo placentario,

orientado a mantener el aporte de nutrientes al feto (Whorwood *et al.*, 2001; Erhard *et al.*, 2004). Por ejemplo, Whorwood *et al.* (2001) encontraron que una desnutrición durante este periodo (días 28-77 de 147 días de gestación), no afectó el peso al nacimiento, pero se observó un aumento en el peso placentario en comparación con el grupo control.

Efectos sobre el crecimiento muscular y la canal

La importancia de la gestación sobre el desarrollo muscular, es que una vez ocurrido el parto, no se produce ningún aumento en el número de fibras musculares. Además, el músculo esquelético posee una prioridad relativamente baja, en relación a tejidos como el cerebro y corazón, en la repartición de nutrientes ante situaciones adversas durante el desarrollo fetal, por lo que es mucho más vulnerable de sufrir alteraciones en su desarrollo ante una restricción en sus requerimientos nutricionales durante la gestación (Zhu *et al.*, 2006). Un resumen del efecto de la subnutrición durante las primeras etapas de la gestación en ovejas sobre las características musculares de sus crías, se puede observar en el cuadro 2.

Cuadro 2. Efecto de la restricción en alimentación durante periodos iniciales de la gestación, sobre características musculares de sus crías

Table 2. Effect of food restriction during the initial stages of gestation on muscle characteristics of the offspring.

Periodo de restricción en la gestación (días)	Restricción (%)	Efectos	Referencia
28-78	50%	Día 70 gestación: Disminución miofibras secundarias	Zhu et al. (2004)
30 a 70	50%	A los 14 días de vida: Aumento de fibras lentas Disminución de fibras rápidas	Fahey et al. (2005)
28 a 78	50%	8 meses de edad: Disminución cantidad fibras musculares Aumento miosina IIb Disminución miosina IIa Aumento grasa intramuscular	Zhu et al. (2006)
28 78	50%	A los 280 días de vida: Aumento proporción grasa: magro	Ford et al. (2007)
1 a 31	40%	Día 127 gestación: Disminución cantidad total de miofibras en tríceps braquial	Costello et al. (2008)

Una consecuencia importante, producto de una desnutrición durante los primeros 85 días de gestación, es la alteración en la composición del músculo. Esto se debe a que durante este periodo, ocurre la mayor parte de la diferenciación muscular y la formación de las miofibrillas sin necesariamente alterar el peso al nacimiento (Zhu *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2006; Fahey *et al.*, 2005; Ashworth *et al.*, 2009).

Un estudio realizado por Zhu *et al.* (2006) con ovejas sometidas a una restricción del 50% de sus requerimientos entre los días 28 y 78 de gestación, demostró una disminución del número y la composición de las fibras musculares (disminución miosina tipo IIa, con aumento en el tipo IIb) en el músculo Longissimus dorsi de sus crías a los 8 meses de vida. También observaron una disminución [$24,7 \pm 4,5\%$ ($P < 0,05$)] en la concentración de la enzima carnitina palmitoil transferasa-1, en comparación con el grupo sin restricción. Esta enzima, cumple la función de controlar la oxidación de ácidos grasos en el músculo esquelético, explicando por qué en la descendencia del grupo de ovejas subnutridas se presentó una mayor acumulación de grasas (a nivel pélvico y renal). Otro aspecto encontrado, fue un aumento en la concentración de triglicéridos intramusculares, que aumenta la predisposición a una resistencia insulínica en el músculo (asociado al aumento en el número de miosina tipo IIa). Por lo tanto, una alteración en la nutrición durante el inicio y mediados de la gestación puede traer fuertes consecuencias en la programación del desarrollo muscular, que puede conducir a alteraciones a largo plazo, como lo es la obesidad y la diabetes. Un estudio anterior de Zhu *et al.* (2004) también encontró una disminución en la cantidad de miofibras secundarias, lo cual se asoció a una disminución en la señalización de diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR) en hembras con restricción de alimento durante la primera mitad de gestación. La mTOR es clave en mamíferos para el crecimiento muscular estimulado por los nutrientes, por ende, importante en la detección de la disponibilidad de éstos.

Ford *et al.* (2007) evaluaron el efecto de una disminución en el 50% de los requerimientos de alimentación en ovejas desde el día 28 a 78 de gestación. Observaron que crías de hembras restringidas en su nutrición, presentaron un mayor peso vivo a su faenamiento con 280 días y, además, presentaron una mayor cantidad de tejido adiposo en la zona lumbar y pélvica que un grupo de crías de ovejas sin restricción de dieta.

Fahey *et al.* (2005) evaluaron el efecto de una restricción de alimento (50% de sus requerimientos) en 3 etapas de la gestación en

ovejas (30-70 días, 55-95 días y 85-115 días) sobre las características musculares de sus crías a los 14 días de vida. Como resultado, encontraron que solo el grupo subnutrido al inicio de la gestación, exhibió una alteración en las características musculares, presentando un incremento en la cantidad de fibras lentas y una disminución en la cantidad de fibras rápidas. Esto lleva a la conclusión que el período crítico de programación del desarrollo muscular se encuentra previo a los 55 días de gestación.

Una posible explicación a esta alteración del tejido muscular, es la entregada por Osgerby *et al.* (2002). En su estudio, evaluaron el efecto de una restricción en la nutrición desde el día 26 al fin de la gestación. Observaron que el músculo semitendinoso era más ligero en fetos de ovejas restringidas en alimentación que fetos de ovejas control al día 135 de gestación ($p < 0,05$), lo cual se asoció a una disminución en los niveles circulantes fetales de insulina y de IGF-1. La insulina promueve la acumulación de tejido fetal y la proliferación de células en los huesos y tejidos blandos. En este estudio, también se observó una alteración en el crecimiento óseo, principalmente a nivel humeral y escapular, huesos que fueron de menor tamaño en fetos de ovejas subnutridas al día 135 de gestación. Esto se asoció a la disminución en los niveles fetales de IGF-1, que se sabe, cumple un rol directo en el desarrollo esquelético y su maduración.

Costello *et al.* (2008) encontraron que ovejas subnutridas desde el día 1 al 31 de gestación, presentaban una disminución en la cantidad total de miofibras en el tríceps braquial fetal a los 127 días de gestación, en comparación con el grupo control. Este hallazgo se asoció a una disminución en la densidad capilar. Sin embargo, no se encontraron iguales resultados para el músculo soleus.

Efectos sobre producción y calidad de lana

La formación de folículos de lana ocurre durante la vida fetal y, una vez ocurrido el parto, la producción de nuevos folículos se detiene completamente (Kelly *et al.*, 2006). Los folículos primarios inician su desarrollo aproximadamente el día 40 de gestación, finalizando e iniciando la producción de fibras de lana el día 90 de preñez. Junto con este proceso (día 90) se inicia la formación de folículos secundarios que finaliza el día 126 de gestación, extendiendo su maduración hasta la semana 12 postparto (Hocking *et al.*, 1996). La importancia de los folículos secundarios es que son los encargados de producir las fibras de menor diámetro (Kelly *et al.*, 2006). Hay evidencia que una restricción de alimentación desde el día 50 de gestación hasta el momento previo al

parto o hasta el destete, genera alteraciones en la producción de lana, como en el estudio de Kelly *et al.* (2006), donde se obtuvo una disminución en la proporción de fibras secundarias:primarias en las crías de ovejas subnutridas hasta el parto o destete, en comparación con el grupo sin restricción de su dieta ($p < 0,001$), con un aumento promedio de $0,3\mu\text{m}$ en el diámetro de las fibras, generando una disminución en la cantidad de lana fina producida. También observaron una disminución ($p < 0,05$) en el peso de la lana limpia, como promedio a los 6,4 años de edad. Esto permite apreciar que existe una programación en la población de folículos de lana durante la vida fetal (en este caso, secundarios) fuertemente influenciada por la alimentación durante este periodo, con efectos sobre la producción de folículos tanto en el primer, como en el segundo y tercer tercio de gestación (posiblemente aquí esté el mayor efecto de la desnutrición sobre la población folicular), así como en el periodo hasta el destete. Esto genera cambios permanentes en la producción de lana durante su vida productiva, asociados a una disminución en lana de mejor calidad (lana de menor diámetro). Sin embargo, este estudio se realizó una vez que las fibras primarias estaban formadas, por ende, sería pertinente que otras investigaciones analizaran el efecto de una restricción en la alimentación sobre la producción de folículos primarios (previo a 40 días de gestación) verificando si ésta repercute en la producción de folículos secundarios.

Efectos sobre el temperamento de las crías

El temperamento es una característica de tipo individual que influye en una respuesta conductual de los animales a la manipulación (atribuido al miedo hacia el hombre), situaciones sociales, ambientales y novedosas (Grignard *et al.*, 2000; Thomas y Badino, 2007) que puede ejercer una influencia en las respuestas de comportamiento de los animales (Beausoleil *et al.*, 2012). Ha sido demostrado en ovinos, que crías cuyas madres fueron sometidas a un régimen de restricción de alimento durante su gestación, pueden presentar un temperamento alterado. Erhard *et al.* (2004) evaluaron el efecto de aplicar una restricción a ovejas en un 50% de sus requerimientos durante el día 1-95 de gestación, sobre la reactividad emocional de sus crías a los 18 meses de edad. Observaron que las crías (machos) de las ovejas subnutridas presentaron una mayor actividad locomotora que aquellas del grupo control (sin restricción). También encontraron que ante la aparición repentina de un estímulo (apertura de un paraguas), las crías de ambos grupos (en el caso del grupo control, solo los machos), presentaron una mayor actividad locomotora, sin embargo, solo los machos hijos de hembras subnutridas,

mantuvieron esta mayor actividad durante los 3 minutos de la prueba (el resto, fue disminuyendo su actividad). El aumento en la reactividad de las crías de hembras restringidas en su alimentación durante la gestación temprana, se cree asociado a una alteración en el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), ya que se ha demostrado que una restricción en un 15% de los requerimientos durante los primeros 70 días de gestación, ha generado una disminución en la actividad del eje HH durante la vida fetal (Hawkins *et al.*, 1999) y un aumento de su actividad durante la vida extrauterina. Esto explicaría la mayor reacción de los animales ante la aparición repentina de un estímulo, probablemente por un aumento en las hormonas del estrés, asociado a la alteración del eje HHA (Hawkins *et al.*, 2000; Hawkins *et al.*, 2001). La importancia de estos resultados, es que en sistemas de producción animal, los animales más reactivos no son deseados, ya que aumentan el riesgo de sufrir lesiones a sí mismo, o hacia quienes los manipulan y, además, son más propensos a estresarse (Grandin, 1997). En adición a esto, se ha observado en ganado bovino de carne, que aquellos animales más excitables y agresivos, producen carne de menor calidad (Voisinet *et al.*, 1997), tienen menores ganancias de peso y condición corporal (Petherick *et al.*, 2002) y se estresan más durante el transporte, alterando las características físicas y químicas de la carne (Giménez, 2001).

Efectos de la subnutrición a nivel molecular y génico de la programación fetal

Estas alteraciones en las crías durante la gestación temprana, producto de una restricción en la nutrición materna, se deben a que generan modificaciones estructurales y fisiológicas permanentes en el desarrollo fetal cuyas consecuencias se observan en la vida adulta (Barker *et al.*, 1993), tal como se ha indicado en relación a la composición muscular, el comportamiento, desarrollo de la placenta y composición de la lana. En esta sección, se discuten los mecanismos moleculares y genéticos que explican cómo se desarrollan tales alteraciones.

Cada vez hay más evidencia de que la nutrición de la madre durante la gestación puede traer consigo alteraciones en la programación fetal, asociadas a dos mecanismos: 1) alteraciones epigenéticas del genoma fetal, y 2) alteraciones en la expresión de genes impresos. En relación al primer mecanismo, la epigenética se define como “modificaciones heredables superpuestas sobre el genoma, en ausencia de cambios directos en la secuencia de ADN” (Alyea *et al.*, 2012). La epigenética se estudia para describir alteraciones estables en la expresión potencial de los genes durante la etapa

de desarrollo y proliferación celular (Waterland y Jirtle, 2004) asociadas a modificaciones posteriores a la síntesis del ADN (Jaenisch y Bird, 2003). Existen dos mecanismos que median estos efectos epigenéticos: alteraciones en la metilación de ADN y modificación (metilación, acetilación) de las histonas (Wu *et al.*, 2004). Estas son proteínas que se asocian íntimamente al ADN en los cromosomas para formar la cromatina (Xu *et al.*, 2012). La metilación del ADN es catalizado por la enzima ADN metiltransferasa, con s-adenosilmetionina (SAM), como donante del grupo metilo (Wu *et al.*, 2004).

La importancia de la nutrición estriba en que el metabolismo de una unidad de carbono (para la transferencia del grupo metilo) depende de la disponibilidad de serina, glicina y vitamina B (ácido fólico, B-12 y B-6), importantes reguladores de la disponibilidad de SAM (Waterland y Jirtle, 2004). Por otro lado, la acetilación o metilación de histonas puede alterar el posicionamiento de las interacciones que ocurren entre el ADN-histona y la afinidad de unión de la histona al ADN, lo cual origina una alteración en la expresión génica. Por otro lado, esta deficiencia en la metilación de ADN conduce a la expresión anormal de alelos paternos normalmente silenciados, como ocurre con el gen H19 en embriones de rata, que corresponde a un gen impreso (Jaenisch y Bird, 2003). Por lo tanto, una alteración en la nutrición permitiría la expresión de genes que normalmente están silenciados en el genoma. Como ejemplo, la disponibilidad de aminoácidos y micronutrientes puede alterar la metilación de ADN y generar modificaciones en las histonas, alterando de esta forma la expresión de los genes, sin un cambio en la secuencia de ADN y permitiendo la expresión de genes normalmente silenciados (genes impresos) (Wu *et al.*, 2004). Un buen ejemplo de alteraciones epigenéticas, es la expresión del gen del color de pelaje en ratones. El color de pelaje agutí en ratones, es producto de una hipometilación del gen encargado de esta característica, permitiendo la expresión de un fenotipo agutí (amarillo), aumento de la obesidad y tumores. Animales que presentan en sus genes el alelo para la expresión de este color, pueden no expresar este fenotipo si ocurre una correcta metilación del gen. Este efecto se ha asociado a la nutrición mediante la experimentación: un grupo de ratas preñadas con genotipo agutí se sometieron a dos regímenes dietarios: un grupo suplementado con donantes de grupos metilos y otro con una dieta estándar. Como resultado, se obtuvo que el grupo de hembras con dieta estándar, produjo una mayor cantidad de crías con fenotipo agutí, a diferencia del grupo suplementado con compuestos donantes de grupos metilo, donde hubo una menor cantidad,

producto de una disminución en la hipometilación del gen al aportar grupos metilos en la dieta, explicando así, el potente efecto de los nutrientes sobre la expresión de los genes (Jaenisch y Bird, 2003).

CONCLUSION

Una restricción en los requerimientos nutricionales durante el periodo inicial de gestación, trae consigo una serie de alteraciones en las crías, no solamente apreciables a nivel intrauterino, sino durante la vida de las crías nacidas de tal condición, como lo son alteraciones en la tasa ovulatoria, disminución en la calidad de lana, disminución en el número de miofibras secundarias, aumento en la deposición de grasa pélvica y renal (obesidad), riesgo de enfermedades crónicas (diabetes), alteraciones en la reactividad emotiva de los animales (expresado como un mayor grado de excitabilidad durante la restricción). Todo esto, se ha asociado al efecto de la desnutrición sobre la programación fetal.

Por otro lado, se ha podido determinar que el peso de nacimiento de las crías no es un correcto indicador del estado nutricional de las ovejas durante la gestación, debido al efecto compensatorio por parte de la placenta y la movilización de lípidos previo al parto.

La información acumulada apunta a que los mecanismos que explican el fenómeno de la programación fetal son multicausales, pero en gran medida se asocian a cambios moleculares del tipo epigenético. Más información se requiere para determinar la verdadera influencia de la nutrición sobre la expresión de los genes, para así, poder realizar correcciones dietarias cuando se requiera, o suplementar durante períodos críticos de la expresión de los genes.

BIBLIOGRAFÍA

- ADDAH, W., KARIKARI, P.K., BAAH, J. 2012. Under nutrition in the ewe: Foeto-placental adaptation, and modulation of lamb birth weight: A review. *Livest. Res. Rural Dev.* 24(161).
- ALYEA, R.A., MOORE, N.P., LEBARON, M.J., GOLLAPUDI, B.B., RASOULPOUR, R.J. 2012. Is the current product safety assessment paradigm protective for epigenetic mechanisms? *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 66: 207-214.
- ASHWORTH, C.J., DWYER, C.M., MCEVOY, T.G., ROOKE, J.A., ROBINSON, J.J. 2009. The impact of in utero nutritional programming on small ruminant performances. *Options Méditerranéennes.* A85: 337-349.

- BARKER, D.J., GLUCKMAN, P.D., GODFREY, K.M., HARDING, J.E., OWENS, J.A., ROBINSON, J.S. 1993. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet*. 341: 938-41.
- BEAUSOLEIL, N., BLACHE, D., STAFFORD, K.J., MELLOR, D.J., NOBLE, A.D.L. 2012. Selection for temperament in sheep: Domain-general and context-specific traits. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 139: 74-85.
- CHANDRASEKHAR, Y., HOLLAND, M.K., D'OCCHIO, M.J., SETCHELL, B.P. 1985. Spermatogenesis, seminal characteristics and reproductive hormone levels in mature rams with induced hypothyroidism and hyperthyroidism. *J. Endocrinol.* 105: 39-46.
- COSTELLO, P.M., ROWLERSON, A., ASTAMAN, N.A., ANTHONY, F.E.W., SAYER, A.A., COOPER, C., HANSON, M.A., GREEN, L.R. 2008. Peri-implantation and late gestation maternal undernutrition differentially affect fetal sheep skeletal muscle development. *J. Physiol.* 586: 2371-2379.
- CRONJÉ, P.B. 2003. Foetal programming of immune competence. *Aust. J. Exp. Agric.* 43: 1427-1430.
- DELIGEORGIS, S.G., CHADIO, S., MENEGATOS, J. 1996. Pituitary responsiveness to GnRH in lambs undernourished during fetal life. *Anim. Reprod. Sci.* 43: 113-121.
- ERHARD, H.W., BOISSY, A., RAE, M.T., RHIND, S.M. 2004. Effects of prenatal undernutrition on emotional reactivity and cognitive flexibility in adult sheep. *Behav. Brain Res.* 151(1-2): 25-35.
- FAHEY, A.J., BRAMELD, J.M., PARR, T., BUTTERY, P.J. 2005. The effect of maternal undernutrition before muscle differentiation on the muscle fiber development of the newborn lamb. *J. Anim. Sci.* 83: 2564-2571.
- FORD, S.P., HESS, B.W., SCHWOPE, M.M., NIJLAND, M.J., GILBERT, J.S., VONNAHME, K.A., MEANS, W.J., HAN, H., NATHANIELSZ, P.W. 2007. Maternal undernutrition during early to mid-gestation in the ewe results in altered growth, adiposity, and glucose tolerance in male offspring. *J. Anim. Sci.* 85: 1285-1294.
- GIMÉNEZ, M. 2001. Selección por temperamento: la genética y el manejo [en línea]. Sitio argentino de producción animal. <http://www.produccion-animal.com.ar/etologia_y_bienestar/etologia_bovinos/12seleccion_por_temperamento_la_genetica_y_el_manejo.pdf. [Consulta: 15 agosto, 2012].
- GRANDIN, T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *J. Anim. Sci.* 75(1): 249-257
- GRIGNARD, L., BOISSY, A., BOIVIN, X., GAREL, J.P., LE NEINDRE, P. 2000. The social environment influences the behavioural responses of beef cattle to handling. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 68(1): 1-11.
- GUNN, R.G., SIM, D., HUNTER, E.A. 1995. Effects of nutrition in utero and in early life on the subsequent lifetime reproductive performance of Scottish Blackface ewes in two management systems. *Anim. Sci.* 60: 223-230. (*Anim. Sci. Abstr.* 60).
- HAWKINS, P., STEYN, C., MCGARRIGLE, H.H.G., SAITO, T., OZAKI, T., STRATFORD, L.L., NOAKES, D.E., HANSON, M.A. 1999. Effect of maternal nutrient restriction in early gestation on development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in fetal sheep at 0.8-0.9 of gestation. *J. Endocrinol.* 163: 553-561
- HAWKINS, P., STEYN, C., MCGARRIGLE, H.H.G., CALDER, N.A., SAITO, T., STRATFORD, L.L., NOAKES, D.E., HANSON, M.A. 2000. Cardiovascular and hypothalamic-pituitary-adrenal axis development in late gestation fetal sheep and young lambs following modest maternal nutrient restriction in early gestation. *Reprod. Fertil. Dev.* 12: 443-456.
- HAWKINS, P., HANSON, M.A., MATTHEWS, S.G. 2001. Maternal Undernutrition in Early Gestation Alters Molecular Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in the Ovine Fetus. *J. Neuroendocrinol.* 13: 855-61.
- HOCKING, J.E., BIRTLES, M.J., HARRIS, P.M., PARRY, A.L., PATERSON, E., WICKHAM, G.A., MCCUTCHEON, S.N. 1996. Pre- and post-natal wool follicle development and density in sheep of five genotypes. *J. Agric. Sc.* 126: 363-370.
- JAENISCH, R., BIRD, A. 2003. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat. Genet.* 33: 245-54.
- KELLY, R.W., GREEFF, J.C., MACLEOD, I. 2006. Lifetime changes in wool production of Merino sheep following differential feeding in fetal and early life. *Aust. J. Agric. Res.* 57: 867-876.
- KWON, H., FORD, S.P., BAZER, F.W., SPENCER, T.E., NATHANIELSZ, P.W., NIJLAND, M.J., HESS, B.W., WU, G. 2004. Maternal Nutrient Restriction Reduces Concentrations of Amino Acids and Polyamines in Ovine Maternal and Fetal Plasma and Fetal Fluids. *Biology of reproduction.* 71: 901-908.
- LEKATZ, L.A., CATON, J.S., TAYLOR, J.B., REYNOLDS, L.P., REDMER, D.A., VONNAHME, K.A. 2010. Maternal selenium supplementation and timing of nutrient restriction

- in pregnant sheep: Effects on maternal endocrine status and placental characteristics. *J. Anim. Sci.* 88: 955-971.
- LEMLEY, C.O., MEYER, A.M., CAMACHO, L.E., NEVILLE, T.L., NEWMAN, D.J., CATON, J.S., VONNAHME, K.A. 2012. Melatonin supplementation alters uteroplacental hemodynamics and fetal development in an ovine model of intrauterine growth restriction. *Am. J. Physiol. Regul Integr Comp Physiol.* 302: R454-R467.
- OSGERBY, J.C., WATHES, D.C., HOWARD, D., ADD, T.S. 2002. The effect of maternal undernutrition on ovine fetal growth. *J. Endocrinol.* 173: 131-141.
- PETHERICK, J.C., HOLROYD, R.G., DOOGAN, V.J., VENUS, B.K. 2002. Productivity, carcass and meat quality of lot-fed *Bos indicus* cross steers grouped according to temperament. *Aust. J. Exp. Agric.* 42(4): 389-398.
- RAE, M.T., PALASSIO, S. KYLE, C.E., BROOKS, A.N., LEA, R.G., MILLER, D.W., RHIND, S.M. 2001. Effect of maternal undernutrition during pregnancy on early ovarian development and subsequent follicular development in sheep fetuses. *Reproduction.* 122: 915-922.
- RAE, M.T., KYLE, C.E., MILLE, D.W., HAMMONDA, A.J. 2002a. The effects of undernutrition, in utero, on reproductive function in adult male and female sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 72: 63-71.
- RAE, M.T., RHIND, S.M., FOWLER, P.A., MILLER, D.W., KYLE, C.E., BROOKS, A.N. 2002b. Effect of maternal undernutrition on fetal testicular steroidogenesis during the CNS androgen-responsive period in male sheep fetuses. *Reproduction.* 124: 33-39.
- RAE, M.T., RHIND, S.M., KYLE, C.E., MILLER, D.W., BROOKS, A.N. 2002c. Maternal undernutrition alters triiodothyronine concentrations and pituitary response to GnRH in fetal sheep. *J. Endocrinol.* 173: 449-455
- REYNOLDS, L.P., REDMER, D.A. 1995. Utero-placental vascular development and placental function. *J. Anim. Sci.* 73: 1839-1851
- RICHTER, H.G., HANSELL, J.A., RAUT, S., GIUSSANI, D.A. 2009. Melatonin improves placental efficiency and birth weight and increases the placental expression of antioxidant enzymes in undernourished pregnancy. *J. Pineal Res.* 46(4): 357-364. (*J. Pineal Res. Abstr.* 46).
- THOMAS, J.A., BADINO, O. 2007. Bienestar animal. *Agromercado Temático.* 136: 24-27.
- VOISINET, B.D., GRANDIN, T., O'CONNOR, S.F., TATUM, J.D., DEESING, M.J. 1997. *Bos indicus*-cross feedlot cattle with excitable temperaments have tougher meat and a higher incidence of borderline dark cutters. *Meat Sci.* 46(4): 367-377.
- VONNAHME, K.A. 2012. Maternal Nutrition and Fetal Programming. 61st Annual Florida Beef Cattle Short Course. Department of Animal Sciences. University of Florida, USA.
- VONNAHME, K.A., LEMLEY, C.O., SHUKLA, P. and O'ROURKE, S. T.. 2013. 2011 and 2012 early careers achievement awards: Placental programming: how the maternal environment can impact placental function. *J. Anim. Sci.*, 91:2467-2480.
- VONNAHME, K.A., ZHU, M.J., BOROWICZ, P.P., GEARY, T.W., HESS, B.W., REYNOLDS, L.P., CATON, J.S., MEANS, W.I., FORD, S.P. 2007. Effect of early gestational undernutrition on angiogenic factor expression and vascularity in the bovine placentome. *J. Anim. Sci.* 85:2464-2472.
- WATERLAND, R.A., JIRTLE, R.L. 2004. Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. *Nutrition.* 20: 63-68.
- WHORWOOD, C.B., FIRTH, K.M., BUDGE, H., YMONDS, M.E. 2001. Maternal Undernutrition during Early to Midgestation Programs Tissue-Specific Alterations in the Expression of the Glucocorticoid Receptor, 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Isoforms, and Type 1 Angiotensin II Receptor in Neonatal Sheep. *Endocrinology.* 142(7): 2854-2864.
- WILKINS, J.F. 1997. Method of stimulating ovulation rate in Merino ewes may affect conception but not embryo survival. *Anim. Reprod. Sci.* 47: 31-42.
- WU, G., BAZER, F.W., CUDD, T.A., MEININGER, C.J., SPENCER, T.E. 2004. Maternal Nutrition and Fetal Development. *J. Nutr.* 134(9): 2169-2172.
- XU, Y., ZHU, M.J., DODSON, M., DU, M. 2012. Developmental Programming of Fetal Skeletal Muscle and Adipose Tissue Development. *Journal of Genomics.* 1:29-38.
- ZHU, M.J., DU, M., HESS, B.W., MEANS, W.J., NATHANIELSZ, P.W., FORD, S.P. 2007. Maternal Nutrient Restriction Upregulates Growth Signaling Pathways in the Cotyledonary Artery of Cow Placentomes. *Placenta.* 28: 361-368.
- ZHU, M.J., FORD, S.P., NATHANIELSZ, P.W., DU, M. 2004. Effect of Maternal Nutrient Restriction in Sheep on the Development of Fetal Skeletal Muscle. *Biology of reproduction.* 71: 1968-1973.
- ZHU, M.J., FORD, S.P., MEANS, W.J., HESS, B.W., NATHANIELSZ, P.W., DU, M. 2006. Maternal nutrient restriction affects properties of skeletal muscle in offspring. *J. Physiol.* 575: 241-250.