

IMPACTO DE LOS AMINOÁCIDOS EN LA REPRODUCCIÓN

Phil Cardoso*. 2017. Entorno Ganadero 84, BM Editores.

*University of Illinois, EE.UU.

Traducido por Teresa García (Albéitar).

Proporcionado por: Adisseo.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Suplementación en general en rumiantes](#)

INTRODUCCIÓN

A través de la alimentación se pueden establecer cambios en factores humorales que pueden alterar vías de señalización endocrinas y metabólicas cruciales para la función reproductiva. Además, el ambiente nutricional alrededor de la concepción en los humanos y otros animales es crítico a largo plazo para establecer el fenotipo postnatal.

En las dos últimas décadas, varios estudios claramente la relación entre la nutrición y la fertilidad en rumiantes (Robinson et al., 2006; Wiltbank et al., 2006; Grummer et al., 2010; Santos et al., 2010; Cardoso et al., 2013; Drackley y Cardoso, 2014). Cambios en la alimentación pueden causar una alteración inmediata y rápida en factores humorales que pueden alterar vías de señalización endocrinas y metabólicas cruciales para la función reproductiva (Boland et al., 2001; Diskin et al., 2003). Además, el ambiente nutricional alrededor de la concepción en los humanos y otros animales es crítico a largo plazo para establecer el fenotipo posnatal (Fleming et al., 2015). Por ejemplo, en ovejas la restricción de vitaminas B y metionina en el periodo alrededor de la concepción da como resultado una salud cardiometabólica deficiente de la descendencia (Sinclair et al., 2007). La alimentación de ratonas con dietas bajas en proteína durante el periodo de preimplantación del embrión conlleva una reducción de la concentración de aminoácidos en el fluido y suero uterinos, y cambios en el perfil de aminoácidos de los blastocistos (Eckert et al., 2012).

Se han utilizado diferentes estrategias para mejorar el rendimiento reproductivo de vacas lecheras a través de cambios nutricionales (Santos et al., 2008a; Santos, 2001). En otras especies, la suplementación con aminoácidos específicos (arginina, glutamina, leucina, glicina y metionina) ha tenido efectos positivos en la supervivencia y crecimiento embrionario y fetal a través de la regulación de vías de señalización y metabólicas (Del Curto et al., 2013.; Wang et al., 2012). La metionina es el aminoácido (AA) más limitante en vacas en lactación (NRC, 2001), pero no se utiliza la metionina cristalina porque la metionina libre es degradada más rápido y casi en su totalidad por los microorganismos del rumen (NRC, 2001). Por el contrario, la suplementación con metionina protegida (MP) tiene un efecto positivo en la síntesis de proteína láctea en vacas lecheras (Pisulewski et al., 1996; Ordway, 2009; Osorio et al., 2013). Aunque el papel que desempeña la metionina en el desarrollo embrionario en ganado bovino no se conoce, existen evidencias de que la disponibilidad de la metionina altera el transcriptoma de embriones preimplantados in vivo (Penagaricano et al., 2013) y su contenido (Acosta et al., 2016).

La metilación del ADN en los promotores es un importante mecanismo de regulación de la expresión y silenciamiento génicos. Sin embargo, la metilación del ADN en otras regiones desempeña un papel más complejo en la regulación de la transcripción (Bird y Wolfe, 1999; Van de Veyver, 2002; Suzuki y Bird, 2008). La metilación del ADN depende de la disponibilidad de donantes de metilo suministrados por aminoácidos como la metionina y por los compuestos de las vías metabólicas de un carbono como la colina (Van de Veyver, 2002).

Al aumentar la biodisponibilidad de la metionina es probable que aumente su entrada en el ciclo metabólico de un carbono y se convierta, inicialmente, en Sadenosilmetionina, el principal donante biológico de metilo (Martinov et al., 2010). Los monogástricos a los que se les alimenta con dietas deficientes en donantes de metilo (por ejemplo, colina y metionina) metilan mal el ADN (Locker et al., 1986;. Tsujiuchi et al., 1999). Estos cambios se producen no sólo en la metilación global (Wilson et al., 1984) sino también en la metilación de genes específicos (Bhave et al., 1988). Sin embargo, los efectos de la metionina en la preimplantación de los embriones son todavía controvertidos. Bonilla et al. (2010) sugirieron que la metionina extracelular no se requiere para la metilación del ADN en blastocistos cultivados. Sin embargo, los cambios en la expresión de genes causados por la alteración de la metilación del ADN (por ejemplo, por la ausencia de genes metilasa) puede conllevar muerte embrionaria o el desarrollo de defectos en la preimplantación embrionaria (Reik et al., 2001).

REPRODUCCIÓN Y NUTRICIÓN

Los nutrientes necesarios para la síntesis de leche aumentan en la lactación temprana, por lo que si no hay un consumo compensatorio de nutrientes para hacer frente a la producción de leche, las funciones reproductivas (sín-

tesis y secreción de hormonas, ovulación folicular y desarrollo embrionario) pueden deprimirse. La incidencia de las enfermedades y trastornos puede ser alta durante el parto y tiene un impacto negativo en el rendimiento reproductivo. Las probabilidades de gestación se reducen si las vacas pierden más de un punto de la condición corporal (Butler, 2003; Butler, 2005; Santos et al., 2008b). La producción de leche aumenta más rápido que el consumo de energía en las primeras 4-6 semanas postparto. Las vacas de alta producción experimentarán un balance energético negativo (BEN) y aumentarán las concentraciones en sangre de ácidos grasos no esterificados (NEFA), y las concentraciones del factor de crecimiento I (IGF-I), glucosa e insulina disminuirán. Estos cambios en los metabolitos sanguíneos y hormonas pueden comprometer la función ovárica y la fertilidad (Butler, 2005).

Algunos AA son limitantes para una óptima producción de leche, tal y como se evidencia por el aumento de la producción, el porcentaje de proteína láctea y del rendimiento de esta proteína después de la suplementación con AA protegidos específicos.

Se han propuesto diferentes estrategias nutricionales para mejorar la reproducción de la vaca lechera sin efectos perjudiciales sobre el rendimiento de la lactación. Algunas de las formas más comunes para mejorar la ingestión de energía en las vacas son los forrajes de alta calidad, las dietas de energía controlada o la adición de grasa a las dietas (Cardoso et al., 2013; Drackley y Cardoso, 2014; Mann et al., 2015). La reproducción de ganado lechero puede mejorarse por la maximización del consumo de materia seca (MS) durante el periodo de transición, lo que reduce al mínimo la incidencia de problemas en el parto (Cardoso et al., 2013; Drackley y Cardoso, 2014).

LA IMPORTANCIA DE LOS AMINOÁCIDOS

Algunos AA son limitantes para una óptima producción de leche, tal y como se evidencia por el aumento de la producción, el porcentaje de proteína láctea y del rendimiento de esta proteína después de la suplementación con AA protegidos específicos. Los primeros tres AA limitantes para la producción de leche son metionina, lisina (NRC, 2001) e histidina (Hutannen, 2002). Además, muchos AA pueden tener efectos positivos en los procesos fisiológicos que son independientes de sus efectos sobre la síntesis de proteínas (Wu, 2013). La fecundación y los primeros días de desarrollo embrionario se producen en el oviducto. A los cinco días del estro el embrión llega a la trompa uterina. El embrión alcanza el estadio de blastocisto 6-7 días después del estro. El embrión eclosiona de la zona pelúcida alrededor del día 9 después del estro y se elonga hasta los días 14-19. El embrión secreta la proteína interferontau que es esencial para el mantenimiento del cuerpo lúteo y la continuación de la gestación. Alrededor de los días 25-28 el embrión se adhiere a las carúnculas del útero y comienza a establecer una relación vascular con su madre a través de la placenta. Durante todo el tiempo anterior a su fijación, el embrión está libre flotando y depende de las secreciones uterinas para obtener energía y todo lo necesario para su desarrollo, incluidos los aminoácidos. Esto es fundamental para entender los cambios en las concentraciones de aminoácidos en el útero que acompañan a las diferentes etapas del desarrollo embrionario.

El perfil lipídico de los ovocitos y del embrión temprano puede verse influido por el ambiente de la vaca. Nuestro grupo llevó a cabo un estudio con el objetivo de determinar el efecto de la suplementación con metionina protegida en la metilación del ADN y de la acumulación de lípidos en embriones en fase de preimplantación en vacas lecheras. (Acosta et al., 2006).

Para ello, se asignaron aleatoriamente vacas Holstein que iniciaban su segunda lactación o más (de 30 ± 2 DEL a 72 ± 2 DEL) a dos tratamientos: control (CON; n = 5, alimentado con una dieta basal con 3,4:1 Lys:Met) y metionina (MET; n = 5, alimentado con la dieta basal con un suplemento de metionina comercial con 2,9:1 Lys:Met). Los embriones se extrajeron mediante lavado 6,5 días después de la inseminación artificial. Se utilizaron para el análisis los embriones en la etapa de desarrollo 4 o superior. Para los lípidos, se comparó la intensidad de la fluorescencia con la tinción de Rojo Nilo con un embrión control negativo. Se recogieron 37 embriones (CON = 21 y MET = 16). Los embriones procedentes de vacas que recibieron la dieta MET presentaron mayor acumulación de lípidos (7,3 unidades arbitrarias) que los procedentes de vacas a las que se les ofreció la dieta CON (3,7 unidades arbitrarias). No hubo efecto del tratamiento en el número de células o en la etapa de desarrollo embrionarios. En conclusión, las vacas suplementadas con metionina produjeron embriones con una mayor concentración lipídica que podría servir potencialmente como una fuente importante de energía para el desarrollo del embrión temprano (figura).

Hugentobler *et al.* (2010) reseñaron las concentraciones de AA en el plasma (media de los días 0, 2, 3, 4 y 6 del ciclo estral) en el oviducto de terneras de carne cruzadas y en el útero (media de los días 6, 8 y 14 del ciclo estral). No hubo efecto del día del ciclo en las concentraciones de AA en el oviducto. De 20 AA, nueve estuvieron presentes a concentraciones significativamente mayores en el oviducto que en el plasma, lo que indica que los mecanismos que permiten la concentración de AA están presentes en las células del oviducto. El útero también presentó mayores concentraciones de muchos AA que se encuentran en el plasma de las vacas en los mismos días del ciclo estral. Los AA que se presentaron más elevados en el útero fueron Asp, Asn y Glu, al igual que en el oviducto.

Además de los mecanismos que concentran AA en el útero en rumiantes no gestantes, hay mecanismos adicionales que aumentan más las concentraciones de AA en la luz uterina en rumiantes gestantes alrededor de la elongación del embrión (día 14-18). Tres estudios han proporcionado concentraciones de AA en este momento, dos en ovejas (Gao *et al.*, 2009) y uno en ganado vacuno (Groebner *et al.*, 2011). Aunque parece que hay pocos cambios en la concentración de AA entre el día 10 y 16 en ovejas no gestantes, hay un gran aumento, de 3 a 23 veces, en los AA específicos en la luz uterina de ovejas gestantes (Gao *et al.*, 2009). A fin de proporcionar una idea de los cambios en los AA uterinos durante la gestación temprana, Wiltbank *et al.* (2014) combinaron los resultados de estos tres estudios en uno y concluyó que hay un aumento en casi todos los aminoácidos en el momento de la elongación del embrión. Los tres AA que se consideran limitantes para la producción de leche —Met, His y Lys— son los AA que presentan mayor aumento de las concentraciones en la luz uterina durante la elongación del embrión (un incremento superior a 10 veces la media de estos tres estudios). Las alteraciones en la relación temporal entre el flujo sanguíneo uterino, la inducción del transporte de AA en el útero, las concentraciones uterinas de AA, el crecimiento embrionario, la producción embrionaria de interferón τ y el mantenimiento/ regresión del cuerpo lúteo puede reducir la fertilidad y aumentar las pérdidas de gestación.

En un estudio, particularmente interesante (Coelho *et al.*, 1989), se utilizó suero de vacas lecheras en lactación en el medio para hacer crecer embriones de rata hasta la fase de pliegue neural (día 9,5 después de la reproducción). Para completar el desarrollo de estos embriones se necesita suero, y el desarrollo es normal en suero de rata. Cuando los embriones se cultivan en suero de vacas lecheras, su desarrollo es anormal cuando se mide como proteína total embrionaria, como pares de somitos o como porcentaje de los embriones que son anormales (sin el cierre del tubo neural, forma anormal, sin desarrollo de los ojos y arcos branquiales, etc.). La suplementación del suero bovino con AA y vitaminas dio lugar al desarrollo normal. La suplementación sólo con AA, pero no con vitaminas, también produjo el desarrollo normal. El uso de suero de vacas que habían recibido un suplemento de metionina protegida también conllevó el desarrollo normal del embrión. Por lo tanto, el suero bovino tiene concentraciones tan bajas de metionina que no se puede producir el desarrollo normal de los embriones de rata.

EFECTO DE LA METIONINA EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO

Las necesidades para el desarrollo completo de embriones bovinos aún no se han determinado. Las condiciones de cultivo actuales permiten el desarrollo de embriones bovinos a la etapa de blastocisto (día 7-8) e incluso permite la eclosión de un porcentaje de embriones (día 9); sin embargo, las condiciones que permiten la elongación del embrión no se han desarrollado *in vitro*. Las necesidades de metionina para embriones bovinos cultivados en la fase de preimplantación (día 7-8) se determinaron en estudios de la Universidad de Florida (Bonilla *et al.*, 2010). Hubo unas necesidades de metionina sorprendentemente bajas (7 μ M) para el desarrollo de los embriones hasta la fase de blastocisto el día 7; sin embargo, el desarrollo al estadio avanzado de blastocisto el día 7 parecía estar optimizado en torno a 21 μ M (Bonilla *et al.*, 2010). Así, los resultados de estos estudios indican que el desarrollo de embriones bovinos morfológicamente normales no precisaban concentraciones de metionina elevadas (> 21 μ M), al menos durante la primera semana después de la fecundación.

Ikeda *et al.* (2012) evaluaron si era necesario el metabolismo de la metionina para el desarrollo normal de embriones bovinos. Los investigadores añadieron etionina o metionina adicional a los cultivos de embriones bovinos. La etionina bloquea el metabolismo de la metionina en la vía de un carbono. La etionina no bloqueó el desarrollo de la fase de mórula, pero bloqueó el desarrollo de la etapa de blastocisto (control = 38,5%; etionina = 1,5%). El desarrollo del blastocisto en presencia de etionina fue parcialmente desbloqueado mediante la adición de Sadenosilmetionina (SAM), que puede restaurar la metilación pero no la síntesis de proteínas. Por lo tanto, la metionina desempeña un papel esencial en el desarrollo del embrión bovino de mórula a blastocisto que es probablemente parcialmente mediado por hipometilación en ausencia de suficiente metionina.

Souza *et al.* (2012a, b) evaluaron el efecto de la suplementación con metionina protegida en el desarrollo embrionario temprano en vacas a las que se les estimuló la ovulación. La hiperovulación aumenta el número de embriones disponibles y, por lo tanto, el poder estadístico para probar los efectos *in vivo* de la suplementación con metionina en el desarrollo embrionario temprano en vacas lecheras en lactación.

En este experimento, los animales fueron agrupados por número de parto y fecha de parto y asignados aleatoriamente a dos tratamientos que diferían en el nivel de la suplementación con metionina en la dieta: 1) dieta Metionina (MET) compuesta de ensilado de maíz (39,7% MS), ensilado de alfalfa (21,8% MS), HMSC (17,2% MS), soja tostada (8,6% MS), heno de hierba (4,6% MS), harina de canola (4,0% MS), mezcla de minerales y vitaminas (2,7% MS) y un suplemento de metionina protegida, formulada para proporcionar 2.875 g de PM con 6,8% PM de Lys % PM y 2,43% PM de Met; y 2) dieta Control (CON) que se trataba de la misma dieta basal pero sin añadir el suplemento de metionina, formulada para proporcionar 2.875 g PM con 6,8% MP de Lys y 1,89% PM de Met. Hubo un aumento tanto en los kilos de proteína láctea producida como en el porcentaje de proteína en la leche (Souza *et al.*, 2012b). Así, respecto a la síntesis de proteína láctea, la metionina es el primer AA limitante. Se ob-

servó un gran efecto significativo de la alimentación con metionina protegida sobre las concentraciones de metionina circulante (control = 16,8 μ M vs. suplementado con Met = 22,9 μ M).

A pesar de que la suplementación con metionina durante las últimas etapas del desarrollo del folículo y el desarrollo temprano del embrión puede no haber producido cambios morfológicos en el embrión temprano, se sabe bien que durante este periodo la metionina puede tener efectos sobre el epigenoma del embrión (Sinclair *et al.*, 2007). Esto significa que los genes se pueden modificar de tal manera que no se expresen de la misma forma debido a la adición de los grupos, por lo general grupos metilo al ADN celular. Para probar esta hipótesis, Penagaricano *et al.* (2013) evaluaron si los embriones que fueron recuperados de vacas que habían sido suplementadas o no con metionina tenían diferencias en la expresión génica. El objetivo fue evaluar el efecto de la suplementación con metionina materna en el transcriptoma de embriones bovinos preimplantados. Se agruparon y analizaron los embriones de alta calidad de vacas individuales mediante secuenciación de ARN.

Sorprendentemente, la pequeña diferencia en la concentración de metionina circulante produjo una diferencia sustancial en la expresión de genes en el embrión. La suplementación con metionina pareció cambiar la expresión génica de una manera que puede conducir a la mejora de la tasa de preñez y de la fisiología de la descendencia.

Investigadores del mismo laboratorio de la Universidad de Wisconsin llevaron a cabo un ensayo con un total de 309 vacas (138 primíparas y 171 multíparas) que fueron agrupadas según su número de parto y asignadas aleatoriamente a dos tratamientos; 1) CON: Vacas alimentadas con una ración formulada para proporcionar 2.500 g de PM con un 6,9% sobre PM de lisina y 1,9% sobre PM de Met; y 2) MP: Vacas alimentadas con una ración formulada para proporcionar 2.500 g de PM con un 6,9% sobre PM de Lys y 2,3% sobre PM de Met. Las vacas fueron asignadas aleatoriamente a tres corrales con comederos con bloqueo de cabeza y alimentadas con una dieta basal dos veces al día. Del 28 al 128 DEL, después del ordeño de la mañana, las vacas permanecieron con la cabeza bloqueada durante 30 minutos y a las raciones se les echó por encima 50 g de DDG o 50 g de una mezcla de DDG (29 g) y suplemento de metionina (21 g), respectivamente. Siguiendo un protocolo de doble Ovsynch, las vacas fueron inseminadas y se comprobó la gestación a los 28 (concentración plasmática de proteína específica de gestación B), y a los 32, 47 y 61 días (por ultrasonidos).

Se tomaron muestras individuales de leche una vez al mes y se analizó su composición. No hubo diferencias estadísticamente significativas en la producción de leche, pero las vacas que recibieron la dieta MP presentaron una concentración de proteína láctea superior. Además, las vacas alimentadas con la dieta enriquecida en metionina presentaron menores pérdidas de gestación los días 21-61 después de la IA (16,7% CON vs. 10,0% MP). Las pérdidas de gestación entre los días 28 y 61 para las vacas primíparas no fueron diferentes (12,8% CON y 14,6% MP); sin embargo, las pérdidas de gestación entre los tratamientos fueron significativas para las multíparas (19,6% CON vs. 6,1% MP; figura; Toledo *et al.*, 2015).

La metionina protegida añadida a la dieta de vacas Holstein aumenta la tasa de supervivencia de los embriones en fase de preimplantación.

CONCLUSIONES

La elevada concentración de AA (Met, His y Lys) en el fluido uterino de vacas preñadas alrededor del momento de la elongación del embrión sugiere que cantidades elevadas de estos AA pueden ser importantes para esta etapa del desarrollo embrionario. La suplementación de vacas con metionina durante las fases finales del desarrollo folicular y el desarrollo temprano embrionario, hasta el día 7 después de la cría, lleva a cambios en la acumulación de lípidos en los embriones y da como resultado diferencias en la expresión génica del embrión. La suplementación con metionina parece potenciar la capacidad de supervivencia del embrión preimplantado, ya que existen evidencias de que las reservas endógenas de lípidos sirven como sustrato energético. Las bajas pérdidas de gestación en las vacas alimentadas con dietas enriquecidas con metionina sugieren que este aminoácido favorece la supervivencia del embrión, al menos en vacas multíparas. Son precisos más estudios para corroborar si la suplementación con metionina podría tener un impacto beneficioso en la supervivencia del embrión y si estos cambios en el embrión temprano se traducen en cambios en los resultados de preñez o fisiológicos en el ternero resultante.

[Volver a: Suplementación en general en rumiantes](#)