

EFFECTOS DE LOS NIVELES PRODUCTIVOS SOBRE PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y METABÓLICOS SISTÉMICOS DE VACAS LECHERAS.

Cainelli, Sofía

Tesinista. (ICIVET-Litoral / UNL-CONICET). Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada.

R. P. Kreder 2805. (3080) Esperanza, Santa Fe, Argentina.

Estudiante de Lic. En Biotecnología. FBCB, Universidad Nacional del Litoral.

Directora: Dra. Melisa Velázquez.

Co-directora: Dra. Antonela Stassi.

Área: Ciencias Biológicas.

INTRODUCCIÓN

Los problemas reproductivos y los cambios inmunológicos relacionados a enfermedades metabólico-nutricionales de bovinos lecheros, son debidos, en gran medida, a la intensificación e incremento de la exigencia productiva (Giuliodori y col., 2013). Se ha observado que aquellas vacas que experimentan un periparto (período de transición) complicado, poseen un mayor riesgo de contraer enfermedades debido a la depleción de su respuesta inmune en general, sumado a problemas reproductivos y menor producción. Esto impacta en el bienestar del animal y por lo tanto, en la economía de la industria láctea (Mulligan y Doherty, 2008; LeBlanc, 2010; Cattaneo y col., 2013; 2015). Dentro de los principales metabolitos que podrían reflejar el estado nutricional de los animales durante el periparto, y que, a su vez son relevantes para un desarrollo apropiado de la respuesta inmune, se pueden mencionar: la glucosa, los ácidos grasos no esterificados (AGNE) y el β -hidroxibutirato (BHB), estos últimos como indicadores de la movilización grasa desde el tejido adiposo (Wathes et al., 2007). En el periodo posparto los procesos de reanudación de la función reproductiva y de producción de leche compiten y deben co-existir, por lo que los mecanismos homeorréticos deben dirigirse hacia un aumento en la síntesis de glucosa para derivarla a la lactogénesis. En efecto, la disminución irreversible de la disponibilidad de glucosa podría provocar un desbalance metabólico de gran impacto en la salud uterina posparto, la inmunidad local y sistémica, con el consecuente efecto sobre el establecimiento de la preñez (Lucy y col., 2014). Al respecto, se ha demostrado que la captación eficiente de glucosa por parte de las células inmunes es crucial para el mantenimiento de sus funciones. En consecuencia, las bajas concentraciones séricas de glucosa detectadas durante la lactancia temprana implicarían una baja disponibilidad de este metabolito, limitando la función inmune y aumentando el riesgo de infección para las vacas durante dicho período (Lucy y col., 2014). Además, reportes previos refuerzan la idea de que la preñez y la lactancia se asocian con el deterioro en las funciones de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y linfocitos en vacas lecheras (Kehrli y col., 1989; Sheldon y col., 2009). Sumado a esto, los monocitos y macrófagos involucrados en todas las etapas de la gestación, incluyendo la implantación, el mantenimiento de la preñez y el parto, muestran una regulación dinámica relacionada con cada una de ellas (Oliveira y col., 2012; Gómez-Lopez y col., 2014; Leno-Duran y col., 2014, Schumacher y col., 2014). Esta regulación dinámica podría verse reflejada a nivel sistémico en el recuento leucocitario, que estaría en directa relación con la migración de las células inmunes al endometrio, donde actuarían en los procesos tolerogénicos necesarios y relacionados con el reconocimiento feto-maternal.

Título del proyecto: "Efectos de la exigencia productiva de la lactancia y preñez sobre parámetros inmunológicos sistémicos y endometriales en vacas lecheras".

Instrumento: PICT-2017-2197

Año convocatoria: 2017

Organismo financiador: Agencia de Promoción Científica y Tecnológica

Director: Dr. Hugo Ortega

Por lo tanto nos planteamos como hipótesis que la exigencia energética dada por los distintos niveles productivos de las vacas en estudio, causaría alteraciones en la respuesta inmune pudiendo estos eventos provocar un posible impacto sobre el establecimiento y sostenimiento de la preñez inmediata.

OBJETIVOS

Identificar posibles efectos de la exigencia productiva de cada etapa de la lactancia en curso, sobre parámetros metabólicos e inmunológicos sistémicos, prestando especial atención a aquellos indicadores de procesos inflamatorios que podrían influir en el establecimiento y sostenimiento de la preñez. Específicamente: 1) Estudiar los niveles séricos de glucosa, AGNE y BHB, en vacas con distintos niveles productivos a lo largo de toda la curva de lactancia y en el secado, como posibles componentes de alteraciones de la respuesta inmune celular. 2) Determinar posibles variaciones en el recuento de leucocitos y eritrocitos en vacas con distintos niveles productivos a lo largo de toda la lactancia y el secado. 3) Evaluar el posible impacto de las variables estudiadas sobre el establecimiento y sostenimiento de la preñez.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de muestras

El estudio se realizó sobre 24 vacas Holando Argentino multíparas (entre 2 y 4 lactancias), provenientes de un tambo comercial con parición estacionada, de la zona de influencia de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV-UNL). Las vacas se dividieron en dos grupos según los niveles de producción que registraron a los 150 días en lactancia (del), considerando el valor de mediana de los mismos como línea de corte. En este estudio, al grupo con valores de producción superiores a 4800 litros/150del lo denominamos 'AP' (alta producción) y aquellos con niveles inferiores a dicho valor, 'BP' (baja producción). Las muestras de sangre fueron tomadas a los 45 días posparto (dpp), 60 dpp, 90 dpp, 120 dpp, 150 dpp, 180 dpp y en el período de secado de las vacas, previo al parto. Las alícuotas de sangre entera obtenidas con anticoagulante (EDTA) fueron destinadas a la separación de plasma posteriormente almacenado a -80°C para las determinaciones de glucosa AGNE y BHB. Por otro lado, se conservó una alícuota para los recuentos celulares en el autoanalizador hematológico, realización de los frotis y determinación de la fórmula diferencial leucocitaria. Además se recabaron datos individuales de los animales en relación a su condición corporal, producción láctea, e índices reproductivos.

Determinación de BHB, glucosa y AGNE

Las concentraciones de BHB se determinaron a campo, en todas las vacas seleccionadas y en todos los tiempos de muestreo, a partir de sangre entera, empleando tiras reactivas comerciales (FreeStyle 210 Optium Xceed, Abbott Diabetes Care Ltd., Oxon, UK). Para la evaluación de glucosa en plasma se utilizó el kit para determinación de Glicemia por el método colorimétrico/enzimático GOD/POD (Wiener Lab) siguiendo las indicaciones del fabricante. Para la determinación de AGNE se utilizó el kit colorimétrico Randox NEFA (*non-esterified fatty acids*) de Randox Laboratories Ltd., (Ardmore, UK).

Determinación de los parámetros hematológicos

A partir una alícuota de sangre fresca anticoagulada, se estudiaron parámetros hematológicos específicos empleando el Autoanalizador Mindray 2800Vet. Se determinó número total de eritrocitos (RBC), concentración de hemoglobina (HGB) y hematocrito (HCT). Al mismo tiempo, mediante la técnica de frotis sanguíneo se evaluó la fórmula

diferencial leucocitaria para determinar los porcentajes de linfocitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos y monocitos.

Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados empleando el programa SPSS (versión 15.0 para Windows, SPSS Inc. ©, USA). Se analizaron los datos mediante un modelo lineal generalizado a fin de determinar el efecto de la producción láctea sobre las variables respuesta de interés, teniendo en cuenta otros posibles factores de peso (Cuadras, 2014).

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

El análisis de los resultados, permitió demostrar que la interacción de los niveles productivos y los dpp tienen efecto significativo sobre la concentración de glucosa y HGB. Los niveles de AGNE por el contrario, no mostraron diferencias significativas entre los grupos de alta y baja producción. Por otro lado los niveles productivos y los dpp tuvieron un efecto significativo individual sobre la concentración de BHB ($p < 0,05$; Figura 1: se muestran los gráficos de los resultados más relevantes).

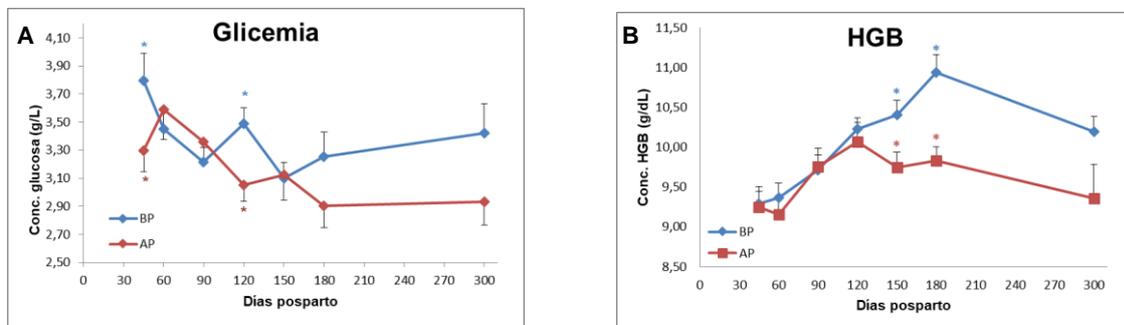
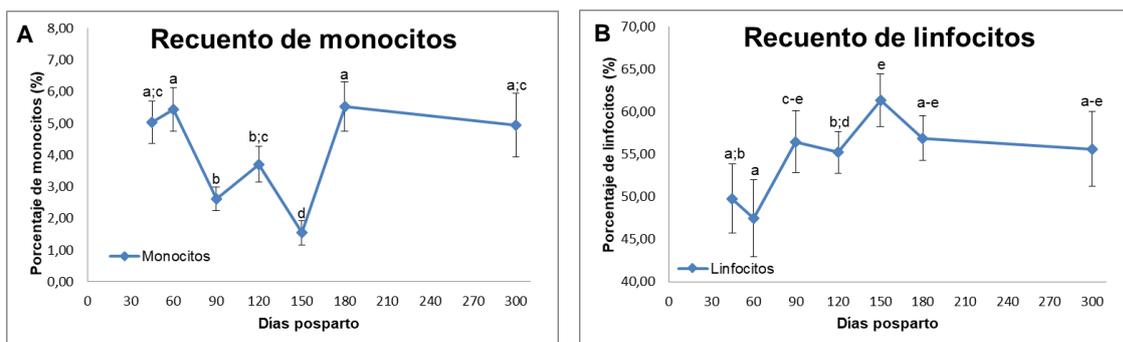


Figura 1. Niveles de Glicemia (A) y HGB (B) en función de los dpp y su interacción con los niveles de producción. Los asteriscos (*) indican diferencias significativas entre animales de alta y baja producción (AP y BP), comparados en el mismo dpp ($p < 0,05$). Los valores fueron representados como el promedio \pm el error estándar.

Se pudieron observar diferencias significativas entre vacas de AP y BP a los 45 dpp y 120 dpp, lo que posiblemente podría estar relacionado a las diferentes demandas energéticas de cada grupo, en primera instancia debido a la producción y en segunda instancia al establecimiento de la preñez. Los niveles de HGB mostraron diferencias significativas entre vacas de AP y BP a los 150 y 180 dpp ($p < 0,05$), lo que podría estar relacionado con un detrimento en la disponibilidad de hierro y en las funciones de los eritrocitos, afectando así numerosos procesos fisiológicos, incluida la respuesta inmune.

El tiempo de muestreo tuvo un efecto significativo individual sobre el recuento de monocitos, linfocitos, neutrófilos y eritrocitos ($p < 0,05$; Figura 2).



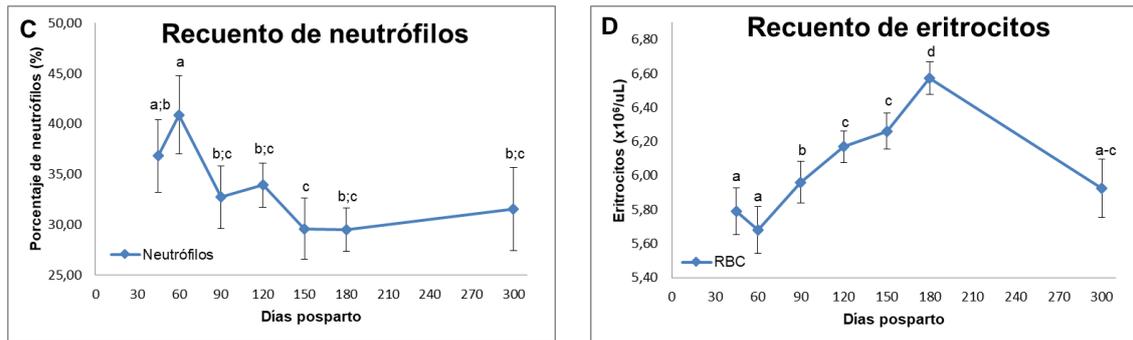


Figura 2. Recuento de monocitos (A), linfocitos (B), neutrófilos (C) y concentración de eritrocitos (D) en sangre en función de los dpp. Letras distintas indican diferencia significativa entre los diferentes puntos ($p < 0,05$). Los valores fueron representados como el promedio \pm el error estándar.

La depleción en el número de monocitos a los 150 dpp podría corresponderse con la migración hacia el endometrio para el reconocimiento feto-maternal. Asimismo, la reducción del número de neutrófilos podría corresponderse con esta misma regulación de la respuesta inmune debido a los mecanismos tolerogénicos necesarios para el establecimiento de la preñez.

En conjunto, los resultados obtenidos nos permitieron confirmar que las variaciones de los parámetros evaluados se relacionan en algunos casos con las exigencias productivas, que llevan a las vacas a un posible detrimento o cambio de la respuesta inmune celular, ya sea debido a alteraciones en la disponibilidad de nutrientes, migración de células al endometrio o desarrollo de procesos tolerogénicos.

REFERENCIAS

- Cattaneo L, Barberis FC, Stangaferro ML, Signorini ML, Ruiz MF, Zimmermann R, Bo GA, Hein GJ, Ortega HH.**, 2013. Evaluación de indicadores metabólicos y bioquímicos sanguíneos en vacas en lactancia con Enfermedad Quística Ovárica. *InVet*. 15: 7-15.
- Cattaneo L, Baudracco J, Lazzarini B, Ortega H.**, 2015. Methodology to estimate the cost of delayed pregnancy for dairy cows. An example for Argentina. *R. Bras. Zootec*. 44: 226-229.
- Cuadras C.**, 2014. Nuevos métodos de análisis multivariante. CMC Editions Manacor 30. 08023 Barcelona, España. pp: 1-304.
- Giuliodori MJ, Magnasco RP, Becu-Villalobos D, Lacau-Mengido IM, Risco CA, de la Sota RL.**, 2013. Clinical endometritis in an Argentinean herd of dairy cows: Risk factors and reproductive efficiency. *J Dairy Sci*. 96(6):3621-31.
- Gomez-Lopez N, Stlouis D, Lehr MA, Sanchez-Rodriguez EN, Arenas-Hernandez M.**, 2014. Immune cells in term and preterm labor. *Cell Mol Immunol* 11, 571-581.
- Kehrli ME Jr, Nonnecke BJ and Roth JA.**, 1989. Alterations in bovine neutrophil function during the periparturient period. *Am J Vet Res* 50, 207-214.
- LeBlanc SJ.**, 2010. Monitoring Metabolic Health of Dairy Cattle in the Transition Period. *J Reprod Dev*. 56: S29-S35.
- Leno-Duran E, Munoz-Fernandez R, Olivares E.G, Tirado-Gonzalez I.**, 2014. Liaison between natural killer cells and dendritic cells in human gestation. *Cell Mol Immunol* 11, 449-455.
- Wathes DC.**, 2007. Endometrial expression of the insulin-like growth factor system during uterine involution in the postpartum dairy cow. *Domest Anim Endocrinol*. 34(4):391-402.
- Lucy MC, Butler ST, Garverick HA.**, 2014. Endocrine and metabolic mechanisms linking glucose postpartum with early embryonic and foetal development in dairy cows. *Animal*. 8:s1, pp 82-90.
- Mulligan FJ, Doherty ML.**, 2008. Production diseases of the transition cow. *Vet J*. 176: 3-9.
- Oliveira LJ, Barreto RS, Perecin F, Mansouri-Attia N, Pereira FT, Meirelles FV.**, 2012. Modulation of maternal immune system during pregnancy in the cow. *Reprod Domest Anim* 47, 384-393.
- Schumacher A, Costa SD, Zenclussen AC.**, 2014. Endocrine factors modulating immune responses in pregnancy. *Front Immunol* 5, 196.
- Sheldon IM, Price SB, Cronin J, Gilbert RO and Gadsby JE.**, 2009. Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reprod Domest Anim*. 44 (suppl. 3), 1-9.