

Universitat de Lleida

Estudio de la hormona IGF-I en cerdos: efecto de un producto de proteína de patata fermentada

Alberto Morillo Alujas

<http://hdl.handle.net/10803/386547>

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



UNIVERSITAT DE LLEIDA

TESIS DOCTORAL.

**ESTUDIO DE LA HORMONA IGF-I EN CERDOS:
EFECTO DE UN PRODUCTO DE PROTEINA DE PATATA
FERMENTADA.**

ALBERTO MORILLO ALUJAS

LLEIDA, Septiembre 2015



UNIVERSITAT DE LLEIDA

TESIS DOCTORAL.

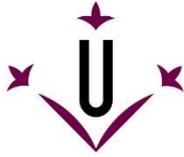
**ESTUDIO DE LA HORMONA IGF-I EN CERDOS:
EFECTO DE UN PRODUCTO DE PROTEINA DE PATATA
FERMENTADA.**

ALBERTO MORILLO ALUJAS

DIRECTOR: Daniel Villalba Mata

**PROGRAMA DE DOCTORADO: Ciencia y Tecnología Agraria y
Alimentaria**

LLEIDA, Septiembre 2015



Daniel Villalba Mata, Doctor Ingeniero Agrónomo y Profesor Titular del Departamento de Producción Animal de la Universitat de Lleida

CERTIFICA:

Que la presente memoria titulada “Estudio de la hormona IGF-I en cerdos: efecto de un producto de proteína de patata fermentada”, elaborada por ALBERTO MORILLO ALUJAS, ha sido realizada bajo su dirección y reúne las condiciones exigidas para optar al Grado de Doctor, por lo que consideran procede su presentación.

Lleida, a 20 de septiembre de 2015

El doctorando,

El director de Tesis,

Fdo. Alberto Morillo Alujas

Fdo. Daniel Villalba Mata

Agradecimientos.

Vuelo a Manila desde Dubai, tras ya no sé cuántas horas de viaje desde que salí de casa. Tengo tiempo para pensar (faltan, dice el mapa del vuelo, alrededor de 7 horas para llegar), a quién tengo que agradecer el poder haber redactado y elaborado esta tesis.

Cuando tu colección de almanaques (como dice Iñaki, a quien agradezco ese punto de vista siempre de la duda, a Rafa también se lo agradezco) va siendo extensa (a veces ya muy extensa), te vuelves más emotivo y más selectivo cuando piensas a quién le quieres agradecer lo que tienes, lo que eres. Así que mi lista no será muy extensa pero sí realmente agradecida.

A Manolo, mi padre, que me hizo perfeccionista, cuando poníamos la línea de comederos de los pollos en nuestra granja y en otras muchas ocasiones. A veces no sé si es cualidad o defecto, pero bienvenido sea.

A los Hermanos Maristas, que me enseñaron método y constancia con horas y horas de repetitivo trabajo cuando era pequeño.

A Montse, mi profesora de matemáticas en el Instituto, que me enseñó a pensar lógica y matemáticamente (Montse, ¿por qué no insististe más en que estudiase Matemáticas en vez de Veterinaria?).

A José María Domenech, (que ni tan siquiera me conoce) por haber creado una Diplomatura a distancia que me ayudó a estudiar Estadística.

Y por último a Dani por haberme enseñado a ver lo que no veía, a buscar lo que no tenía y conocer lo que no conocía.

Un capítulo aparte de agradecimientos sentimentales, ya que no sólo de ciencia vive el hombre:

A Guillermo y Elena, por haberse “echado Tests&Trials al hombro” cuando escribiendo

la tesis no estaba.

A ti Olguita, porque no has ido a la playa este verano por mi tesis y no has dicho nada.

Y por último a Tere, que no sabe lo que es una tesis doctoral, ni leerá ésta, pero es mi madre.

15 de septiembre de 2015.

En algún lugar sobrevolando Asia.

Resumen.

Los objetivos de la tesis fueron el estudio y revisión de los actuales conocimientos sobre el metabolismo y las acciones de IGF-I en la producción porcina y más específicamente la investigación de los efectos que un suplemento alimenticio proveniente de la fermentación de la proteína de patata puede tener sobre los niveles de IGF-I en diferentes estadios productivos, y si estas modificaciones tienen alguna repercusión práctica sobre la producción.

En el estudio realizado con las cerdas lactantes, el objetivo fue estudiar si la adición en la dieta de las cerdas lactantes durante 5 días antes del destete y 5 días post destete de la proteína de patata fermentada con o sin glucosa tenía algún efecto sobre los días no productivos entre el destete y su cubrición, sobre la fertilidad y sobre el número de lechones nacidos totales en el subsiguiente parto y si estos parámetros productivos estuvieron relacionados con niveles plasmáticos de IGF-I. Para ello se eligió una granja altamente productiva con un alto status sanitario porque se consideró que era la mejor opción para conocer los efectos de la proteína de patata fermentada sobre los parámetros estudiados. Se usaron un total de 183 cerdas de 3 grupos de cerdas destetadas de forma consecutiva y se distribuyeron en 4 grupos de tratamiento teniendo en cuenta el ciclo de parto, el número de lechones destetados en el ciclo anterior y el número de lechones paridos en el ciclo actual. El tratamiento consistió en la adición de la proteína de patata fermentada, con y sin glucosa, que se consideró como el control positivo y un grupo de cerdas que actuó como control negativo al que no se le suministró ningún producto. Los tratamientos se iniciaron 5 días antes del destete y concluyeron 5 días post destete. Se registraron todos los parámetros productivos para alcanzar los objetivos y se obtuvieron muestras de sangre de un subgrupo de cerdas para determinar el nivel de IGF-I. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a los niveles de IGF-I al finalizar los tratamientos ni tampoco se encontraron diferencias significativas en los parámetros productivos estudiados. Un hallazgo no contemplado en el estudio pero encontrado en el análisis fue que las cerdas que fueron nodrizas durante la lactación en la que se inició el tratamiento tenían mayor nivel de IGF-I que las que no lo fueron. Este hallazgo confirma que el nivel de IGF-I depende del status nutricional y metabólico de los animales ya que las cerdas que actuaron como nodrizas tuvieron un gasto metabólico menor que las que no lo fueron y pudieron recuperar mejor su status metabólico. A pesar de ello no existieron diferencias de productividad tras el subsiguiente parto.

En el estudio con los lechones lactantes el objetivo fue estudiar el efecto de la administración oral de la proteína de patata fermentada a lechones durante las primeras 12 horas tras el nacimiento

sobre los niveles plasmáticos de IGF-I, sobre la mortalidad y sobre la ganancia de peso vivo desde el nacimiento al hasta el destete. Este estudio se realizó en una granja con productividad media, con una sanidad considerada como habitual en la producción porcina y que podía ser catalogada como una granja estándar. Se usaron 542 lechones nacidos en 3 grupos consecutivos de parto. Los lechones fueron clasificados según su peso al nacimiento entre lechones grandes, con 1,2 kg de peso o más al nacimiento y lechones pequeños con menos de 1,2 kg de peso al nacimiento porque se consideró que el peso al nacimiento podría ser una variable que influyera en el estudio. Se distribuyeron en 4 grupos de tratamiento dentro de cada grupo de peso. Los tratamientos consistieron en el suministro oral de la proteína de patata fermentada bien en una sola dosificación (primer grupo) o bien partida en media dosis separadas de un intervalo de 12 h (segundo grupo) suministrando a un tercer grupo de animales glicerol en una sola toma, grupo que se consideró como el control positivo. El cuarto grupo fue el control negativo y los lechones de este grupo no recibieron ningún tratamiento. No se encontraron diferencias significativas de forma global ni dentro de cada grupo de peso en ninguna de las variables estudiadas. Los niveles de IGF-I fueron mayores en los animales del grupo de peso grande cuando se compararon con los lechones pequeños a los 7 días del estudio, pero no al finalizar el mismo.

En el estudio con los lechones destetados, el objetivo fue estudiar si la adición en la dieta de lechones de proteína de patata fermentada tras su destete en diferentes proporciones podía reemplazar el uso de plasma porcino y si las modificaciones estaban relacionadas con los niveles plasmáticos de IGF-I. Este estudio se realizó en una granja de destete de lechones. Los lechones provenían de la granja utilizada en el estudio de lechones lactantes. Se realizaron dos estudios consecutivos, el primero para conocer los efectos de la proteína de patata fermentada sobre los lechones y el segundo para conocer el nivel necesario de incorporación a las dietas para substituir al plasma porcino. Se usaron 200 lechones en el primer estudio distribuyéndose homogéneamente según su peso y edad al destete y su sexo. Se distribuyeron en 5 grupos de tratamiento donde un grupo fue el control negativo sin plasma ni proteína de patata fermentada, un grupo como control positivo con plasma en la dieta y 3 dosificaciones crecientes de proteína de patata. En el segundo estudio se usaron 1036 lechones distribuidos homogéneamente según su peso y edad al destete y su sexo. Se distribuyeron en 6 grupos de tratamiento donde un grupo fue el control negativo sin plasma ni proteína de patata fermentada, un grupo como control positivo con plasma en la dieta y 4 grupos con cantidades crecientes de proteína de patata fermentada. Los lechones alimentados con plasma en el primer estudio tuvieron el día 4 del mismo un nivel mayor de IGF-I que el resto siendo los lechones que fueron alimentados con la dosis inferior de proteína de patata fermentada los que

tuvieron el nivel de IGF-I inferior teniendo el resto de grupos un nivel intermedio de IGF-I. Los lechones que más pienso consumieron fueron los lechones que consumieron el menor nivel de proteína de patata y los que menos los del grupo control negativo. Estas diferencias de consumo no se vieron reflejadas en un mayor crecimiento diario ni en una mejor conversión alimenticia al final del estudio. Los lechones que consumieron proteína de patata tuvieron mayor peso y ganancia media diaria que los animales del control negativo al finalizar el segundo estudio. En cuanto al consumo, los animales con las 3 dosis más bajas de proteína de patata tuvieron mayor consumo que el resto teniendo una mejor conversión alimenticia los lechones que consumieron bien proteína de patata o plasma que los lechones del control negativo.

Los resultados de la presente tesis demuestran que el suministro de un suplemento alimenticio derivado de la fermentación de la proteína de patata i) no mejora la productividad de las cerdas en el subsiguiente parto, ii) no mejora la mortalidad de los lechones durante la lactación ni tampoco su peso a destete y iii) puede reemplazar al plasma animal en las dietas de lechones destetados. El nivel de IGF-I no se ve modificado en ningún estudio al suministrar la proteína de patata fermentada por lo que el modo de acción de este producto debe ser investigado con estudios futuros.

Resum.

Els objectius de la tesi van ser l'estudi i revisió dels actuals coneixements sobre el metabolisme i les accions d'IGF-I en la producció porcina i més específicament la investigació dels efectes que un suplement alimentari provinent de la fermentació de la proteïna de patata pot tenir sobre els nivells d'IGF-I en diferents estadis productius, i si aquestes modificacions tenen alguna repercussió pràctica sobre la producció.

En l'estudi realitzat amb les truges lactants, l'objectiu va ser estudiar si l'addició a la dieta de les truges lactants durant 5 dies abans del deslletament i 5 dies post deslletament de la proteïna fermentada de patata amb o sense glucosa tenia algun efecte sobre els dies no productius entre el deslletament i la cobrícia, sobre la fertilitat i sobre el nombre de garrins nascuts totals en el subsegüent part i si aquests paràmetres productius van estar relacionats amb nivells plasmàtics d'IGF-I. Per a això es va triar una granja altament productiva amb un alt estatus sanitari perquè es va considerar que era la millor opció per conèixer els efectes de la proteïna fermentada de patata sobre els paràmetres estudiats. Es van usar un total de 183 truges de 3 grups de truges deslletades de forma consecutiva i es van distribuir en 4 grups de tractament tenint en compte el cicle de part, el nombre de garrins deslletats en el cicle anterior i el nombre de garrins parits en el cicle actual. El tractament va consistir en l'addició de la proteïna de patata fermentada, amb i sense glucosa, que es va considerar com el control positiu i un grup de truges que va actuar com a control negatiu al qual no se li va subministrar cap producte. Els tractaments es van iniciar 5 dies abans del deslletament i van concloure 5 dies post deslletament. Es van registrar tots els paràmetres productius per assolir els objectius i es van obtenir mostres de sang d'un subgrup de truges per determinar el nivell d'IGF-I. No es van trobar diferències significatives pel que fa als nivells d'IGF-I en acabar els tractaments ni tampoc es van trobar diferències significatives en els paràmetres productius estudiats. Un resultat no contemplat en l'estudi però trobat en l'anàlisi va ser que les truges que van ser alletants durant la lactació en què es va iniciar el tractament tenien major nivell d'IGF-I que les que no ho van ser. Aquesta troballa confirma que el nivell d'IGF-I depèn l'estatus nutricional i metabòlic dels animals ja que les truges que van actuar com dides van tenir una despesa metabòlica menor que les que no ho van ser i van poder recuperar millor el seu status metabòlic. Malgrat això no van existir diferències de productivitat després del subsegüent part.

En l'estudi amb els garrins lactants l'objectiu va ser estudiar l'efecte de l'administració oral de la proteïna fermentada de patata a garrins durant les primeres 12 hores després del naixement sobre els nivells plasmàtics d'IGF-I, sobre la mortalitat i sobre el guany de pes viu des del naixement al fins

al deslletament. Aquest estudi es va realitzar en una granja amb productivitat mitjana, amb una sanitat considerada com habitual en la producció porcina i que podia ser catalogada com una granja estàndard. Es van usar 542 garrins nascuts en 3 grups consecutius de part. Els garrins van ser classificats segons el seu pes al naixement entre garrins grans, amb 1,2 kg de pes o més al naixement i garrins petits amb menys de 1,2 kg de pes al naixement perquè es va considerar que el pes al naixement podria ser una variable que influís en l'estudi. Es van distribuir en 4 grups de tractament dins de cada grup de pes. Els tractaments van consistir en el subministrament oral de la proteïna de patata fermentada bé en una sola dosificació (primer grup) o bé partida en mitja dosi separades d'un interval de 12 h (segon grup) subministrant a un tercer grup d'animals glicerol en una sola presa, grup que es va considerar com el control positiu. El quart grup va ser el control negatiu i els garrins d'aquest grup no van rebre cap tractament. No es van trobar diferències significatives de forma global ni dins de cada grup de pes en cap de les variables estudiades. Els nivells d'IGF-I van ser majors en els animals del grup de pes gran quan es van comparar amb els garrins petits als 7 dies de l'estudi, però no al finalitzar el mateix.

En l'estudi amb els garrins deslletats, l'objectiu va ser estudiar si l'addició a la dieta de garrins de proteïna fermentada de patata després de la seva deslletament en diferents proporcions podia reemplaçar l'ús de plasma porcí i si les modificacions estaven relacionades amb els nivells plasmàtics d'IGF-I. Aquest estudi es va realitzar en una granja de transició. Els garrins provenien de la granja utilitzada en l'estudi de garrins lactants. Es van realitzar dos estudis consecutius, el primer per conèixer els efectes de la proteïna de patata fermentada sobre els garrins i el segon per conèixer el nivell necessari d'incorporació a les dietes per substituir al plasma porcí. Es van usar 200 garrins en el primer estudi distribuïnt homogèniament segons el seu pes i edat al deslletament i el seu sexe. Es van distribuir en 5 grups de tractament on un grup va ser el control negatiu sense plasma ni proteïna de patata fermentada, un grup com a control positiu amb plasma en la dieta i 3 dosificacions creixents de proteïna de patata. En el segon estudi es van usar 1036 garrins distribuïts homogèniament segons el seu pes i edat al deslletament i el seu sexe. Es van distribuir en 6 grups de tractament on un grup va ser el control negatiu sense plasma ni proteïna de patata fermentada, un grup com a control positiu amb plasma en la dieta i 4 grups amb quantitats creixents de proteïna de patata fermentada. Els garrins alimentats amb plasma en el primer estudi van tenir el dia 4 del mateix un nivell major d'IGF-I que la resta sent els garrins que van ser alimentats amb la dosi inferior de proteïna de patata fermentada els que van tenir el nivell d'IGF-I inferior tenint la resta de grups un nivell intermedi d'IGF-I. Els garrins que més pinso consumir van ser els garrins que van consumir el menor nivell de proteïna de patata i els que menys els del grup control negatiu.

Aquestes diferències de consum no es van veure reflectides en un major creixement diari ni en una millor conversió alimentària al final de l'estudi. Els garrins que van consumir proteïna de patata van tenir més pes i guany mitjà diari que els animals del control negatiu al final del segon estudi. Pel que fa al consum, els animals amb les 3 dosis més baixes de proteïna de patata van tenir major consum que la resta tenint una millor conversió alimentària dels garrins que van consumir bé proteïna de patata o plasma que els garrins del control negatiu.

Els resultats de la present tesi demostren que el subministrament d'un suplement alimentari derivat de la fermentació de la proteïna de patata i) no millora la productivitat de les truges en el subsegüent part, ii) no millora la mortalitat dels garrins durant la lactació ni tampoc el seu pes a deslletament i iii) pot reemplaçar al plasma animal en les dietes de garrins deslletats. El nivell d'IGF-I no es veu modificat en cap estudi al subministrar la proteïna de patata fermentada per la qual cosa la manera d'acció d'aquest producte ha de ser investigat amb estudis futurs.

Abstract.

The objectives of this thesis were the study and review of the current knowledge about the metabolism and actions of IGF-I in pig production. The thesis also studied the effects that an additive coming from the fermentation of the potato protein can have on the IGF-I levels in the different pig production phases and if these modifications have some practical consequence in the pig production.

In the lactating sows study, the objective was to assess if the introduction of the fermented protein potato in the diet of the sows 5 days before and 5 days after weaning, with or without glucose, had some effect on the non-productive days between weaning and mating, the fertility and the number of piglets total born in the subsequent litter, and if these productive parameters were in relation with plasma IGF-I levels. It was chosen a high productive sow farm with a high health status because it was considered the best option to assess the effects of the fermented protein potato over the studied parameters. 183 sows coming from 3 consecutive weaned batches sows were distributed in 4 treatment groups taking into account the parity, the number of piglets weaned in the former litter and the number of piglets born in the current litter. The dietary treatments were arranged as a 2x2 complete factorial design with the factors being the addition or not of fermented protein potato and with or without glucose. The treatment started 5 days before weaning and ends 5 days after weaning. There were recorded all the production parameters to get the targets and blood samples were obtained from a subgroup of sows to analyze IGF-I level. No statistical differences were found in IGF-I levels at the end of the treatment nor in the productive parameters recorded. An outcome not considered in the design of the study was that nursing sows had higher IGF-I levels. This finding confirms that IGF-I level depends on the nutritional and metabolic status. Sows that were nursing an extra litter (small piglets) in the current lactation had lower metabolic expense than normal sows during the nursing time and there could recover their metabolic status. In spite of, there were not found productive differences in the next parity.

In the study with milking piglets the objectives were to assess if the oral administration of the fermented potato protein in piglets during the first 12 h of live had some effects on the plasma levels of IGF-I, the pre weaning mortality and the average daily gain from birth to wean. This study was carried out in a sow farm with the country average production, with a standard health status. 542 piglets from 3 consecutive batches were used. Piglets were classified into two groups depending on their weight at birth because it was considered that weight at birth could influence the

results. The cut-off weight was 1.2 kg. The treatments were: a single oral dose of fermented protein potato, a split half dose in 12 h interval of fermented protein potato, and a group of piglets that received glycerol as positive control group. One group of piglets with no treatment was considered negative control group. No differences were found in any group neither of treatment nor within the weight groups. IGF-I levels were higher in heavier piglets at 7 day of study but not at the end.

In the study with weaned piglets the objectives were to assess if the introduction in the diet of the fermented potato protein in weaned piglets at different ratios could substitute the use of animal plasma and if this modification was linked with the plasma level of IGF-I. This study was carried out in a nursery using piglets from the sow farm used in the milking piglets study. There were conducted 2 consecutive experiments. The first of them was carried out to assess the effects of the fermented protein potato on the productive parameters and the second to assess the level to substitute animal plasma. In the first experiment, 200 piglets were distributed taking into account their age, sex and weight at weaning in 5 experimental groups. One group was considered as negative control group with neither fermented protein potato nor animal plasma, one group was the positive control group with animal plasma and 3 other groups with different levels of fermented protein potato. In the second experiment, 1036 piglets were distributed taking into account their age, sex and weight at weaning in 6 experimental groups. One group was the negative control group without animal plasma or fermented protein potato, one group as positive control group with animal plasma and 4 groups with increasing ratios of fermented protein potato. IGF-I levels at day 4 of the first study were higher in piglets fed with animal plasma being the lowest IGF-I level for the piglets fed the lower ratio of fermented protein potato. The rest of the groups had intermediate IGF-I levels. The highest daily feed intake was achieved by the piglets fed with the lowest ratio of fermented protein potato. This high daily feed intake was not achieving a high daily gain or a better feed conversion ratio at the end of the study. Piglets fed with fermented protein potato were heavier and growth faster than piglets in the negative control group at the end of the second study. The highest daily feed intake was achieved by the piglets fed the 3 lower doses of fermented protein potato. Feed conversion ratio was improved in piglets fed either fermented protein potato or animal plasma than piglets in the negative control group.

The results of the studies of this thesis show that feeding a fermented protein potato i) do not improve the productivity of the sows in the subsequent parity, ii) do not improve pre weaning piglet mortality nor their weaning weight, iii) can substitute animal plasma in the post weaning diets. The IGF-I levels were not modified in any study when fermented potato was administered orally either

to weaned sows, pre weaning piglets or weaned piglets. The mode of action of fermented protein potato should be researched in future experiments.

Contenido

1	Introducción General.....	9
1.1	Orígenes e hipótesis previas de trabajo con IGF-I	1
1.2	El sistema IGF	7
1.2.1	La transducción de señales a través de los receptores de la familia IGF	8
1.2.2	El receptor de IGF-I	8
1.3	IGF-I y sus acciones	11
1.3.1	Acciones de IGF-I in vivo.....	12
1.3.2	Acciones de IGF-I in vitro.	18
1.3.3	Mecanismos de actuación de IGF-I	20
1.4	La familia IGFBP y sus acciones	20
1.4.1	Descripción y características de la familia IGFBP	20
1.4.2	Acciones de la familia IGFBP	25
1.4.3	IGF-I en la producción porcina.....	28
1.5	Bibliografía.....	30
2	Hipótesis y Objetivos	43
	IGF-I en cerdas en la fase destete hasta su cubrición	45
	IGF-I en lechones lactantes.....	45
	IGF-I en lechones destetados	45
3	Ensayo en cerdas reproductoras al destete	47
3.1	Introducción.....	49
3.2	Objetivo	50
3.3	Material y métodos	51
3.4	Resultados	54
3.5	Discusión	59
3.6	Conclusiones e implicaciones.	62
3.7	Bibliografía.....	63
4	Ensayo en lechones lactantes	67
4.1	Introducción.....	69
4.2	Objetivo	71
4.3	Material y métodos.....	71

4.4	Resultados	77
4.5	Discusión.....	85
4.6	Conclusiones e implicaciones.....	89
4.7	Bibliografía.....	90
5	Ensayo en lechones post-destete	97
5.1	Introducción.....	99
5.2	Objetivo	101
5.3	Material y métodos.....	101
5.3.1	Estudio 1.....	102
5.3.2	Estudio 2.....	107
5.4	Resultados	111
5.4.1	Estudio 1.....	111
5.4.2	Estudio 2.....	115
5.5	Discusión.....	117
5.6	Conclusiones e implicaciones	122
5.7	Bibliografía.....	123
6	Discusión general.....	131
6.1	Bibliografía.....	140
7	Conclusiones	145

Índice de Tablas

Tabla 1. Características de los ratones transgénicos en los anteriores modelos (modificado de. Jones and Clemmons, 1995a).....	15
Tabla 2. Efectos de la administración de IGF-I en humanos (Jones et al., 1995b).	17
Tabla 3. Número de cerdas por tratamiento.	52
Tabla 4. Valores de IGF-I (ng/mL) en las cerdas en los días 1 y 10 del estudio (media mínimo cuadrática \pm error estándar, LSM \pm EE).	55
Tabla 5. Valores de IGF-I (ng/mL) agrupados por el ciclo de parto en las cerdas en los días 1 y 10 del estudio (LSM \pm EE).	56
Tabla 6. Valores de IGF-I (ng/mL) en las cerdas el día 1 del estudio por tratamiento y ciclo de parto (media mínimo cuadrática \pm error estándar, LSM \pm EE).	56
Tabla 7. Valores de IGF-I (ng/mL) en las cerdas el día 10 del estudio por tratamiento y ciclo de parto (media mínimo cuadrática \pm error estándar, LSM \pm EE).	57
Tabla 8. Intervalo (días) entre el destete y la salida en celo (IDC) e intervalo entre el destete y la salida en celo efectiva (LSM \pm EE).....	57
Tabla 9. Número de cerdas inseminadas y que retornaron a celo.	58
Tabla 10. Número de lechones nacidos totales, vivos y muertos (LSM \pm EE) por tratamiento.....	58
Tabla 11. Número de lechones nacidos totales (LSM \pm EE) por tratamiento y ciclo de parto.....	58
Tabla 12. Nomenclatura de los grupos de tratamiento y peso.....	73
Tabla 13. Número de lechones por tratamiento.....	73
Tabla 14: Número de lechones con peso de nacimiento mayor o igual a 1,2 kg	73

Tabla 15: Número de lechones con peso al nacimiento menor de 1,2 kg	73
Tabla 16. Niveles de IGF-I (ng/mL) de lechones con peso vivo al nacimiento mayor o igual a 1,2 kg (LSM ± EE).	77
Tabla 17. Niveles de IGF-I (ng/mL) de lechones con peso vivo al nacimiento menor de 1,2 kg (LSM ± EE)	77
Tabla 18. Niveles de IGF-I (ng/mL) de lechones en los diferentes días del estudio (LSM ± EE).....	77
Tabla 19. Niveles de IGF-I (ng/mL) de lechones por tratamiento, día y grupo de peso (LSM±EE).	78
Tabla 20. Niveles de IGF-I (ng/mL) de lechones por día y grupo de peso (LSM±EE). 78	
Tabla 21. Porcentaje y número (entre paréntesis) de lechones muertos por intervalo de días de vida y grupo de tratamiento.....	80
Tabla 22. Porcentaje y número (entre paréntesis) de lechones muertos con peso al nacimiento mayor o igual a 1,2 kg por intervalo de días y grupo de tratamiento.	80
Tabla 23. Porcentaje y número (entre paréntesis) de lechones muertos con peso al nacimiento menor a 1,2 kg por intervalo de días y grupo de tratamiento.	80
Tabla 24. Evolución del peso vivo de los lechones con peso al nacimiento mayor o igual a 1,2 kg (Medias mínimo cuadráticas, LSM).	81
Tabla 25. Peso vivo de los lechones con peso al nacimiento menor a 1,2 kg.	81
Tabla 26. Ganancia media diaria (g/d) de los lechones con peso al nacimiento mayor o igual a 1,2 kg. (LSM)	82
Tabla 27. Ganancia media diaria (g/d) de los lechones con peso al nacimiento menor a 1,2 kg.	82
Tabla 28. Uniformidad mediante la comparación de las desviaciones estándar de los pesos vivos de los lechones a día 20 del experimento.....	83

Tabla 29. Número de lechones por tratamiento en el estudio 1.	102
Tabla 30: Composición de las dietas (kg/tn) del estudio 1.....	104
Tabla 31: Nutrientes de las dietas experimentales del estudio 1.	105
Tabla 32: Número de lechones por tratamiento en el estudio 2.	107
Tabla 33: Composición de las dietas (kg/tn) del estudio 2.....	109
Tabla 34: Nutrientes de las dietas experimentales del estudio 2.	110
Tabla 35: Peso vivo de los lechones, kg/lechón.	111
Tabla 36: Ganancia media diaria (GMD) en g/d en los diferentes días del estudio.....	111
Tabla 37: Consumo medio diario (CMD) en g/d en los diferentes días del estudio. ...	112
Tabla 38: Índice de conversión (IC) en kg pienso/kg carne en los diferentes días del estudio.....	112
Tabla 39: Niveles de IGF-I (ng/mL) el día 4 del estudio.	113
Tabla 40. Pesos de los lechones en las diferentes fases del estudio 2.	115
Tabla 41. Ganancia media diaria (GMD) en g/d en los diferentes días del estudio 2.	116
Tabla 42: Consumo medio diario (CMD) en g/d en los diferentes días del estudio 2.	116
Tabla 43: Índice de conversión (IC) en kg pienso/kg carne en los diferentes días del estudio 2.....	117
Tabla 44: Ganancia media diaria (g/d) en los diferentes periodos de la fase 1 en el estudio 1.....	119

Índice de Figuras

Figura 1. Las hipótesis de la actuación de IGF-I en el año 2000.	7
Figura 2 Características de los receptores de la insulina, IGF-I y del receptor híbrido IR/IGF-I, tomado de Jones et al., 1995).	9
Figura 3 Vista de la activación del receptor de IGF-I y las acciones tras la señalización (tomado de Pollak, et al., 2004).....	10
Figura 4. Distribución del número de lechones nacidos en cada parto por tratamiento y por ciclo.	58
Figura 5. Distribución de los valores de IGF-I según los grupos de tratamiento y los días del estudio.....	79
Figura 6. Distribución de los valores de IGF-I por sexo y día de tratamiento.	79
Figura 7. Correlación entre el peso de los lechones y el valor de IGF-I en los diferentes días y por grupos de peso.	84
Figura 8. Correlación entre la ganancia media diaria y el valor de IGF-I en los diferentes días y por tratamiento.	84
Figura 9: Distribución de los grupos de tratamiento en los corrales en el estudio 1. ...	103
Figura 10: Distribución de los grupos de tratamiento en los corrales.	108
Figura 11: Peso a destete e IGF-I por tratamiento.....	114
Figura 12. Peso a día 4 e IGF-I.....	114
Figura 13. Ganancia media diaria entre los días 1 y 4 e IGF-I.....	115

Lista de abreviaturas

ADN	Ácido dexosirribonucleico
ALS	Acid-labile subunit, subunidad lábil a pH ácido
ARN	Ácido ribonucleico
bGH	bovine Growth Hormone, hormona del crecimiento bovina
CRF	Corticotrophin-releasing factor receptor 1, receptor 1 del factor de liberación de corticotrofina
DHA	Docosahexaenoic acid, ácido docosahexaenoico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EGF	Epidemic growth factor, factor de crecimiento epidémico
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
GH	Growth Hormone, hormona del crecimiento
GHRH	Growth Hormone Releasing Hormone, factor de liberación de la hormona del crecimiento
HSP	Heat shock protein, proteínas del choque térmico
IGF	Insulin-like growth factor, factor del crecimiento similar a la insulina
IGF-1R	Receptor de IGF-I
IGFBP	Insulin-like growth factor binding protein, proteínas ligantes de IGF
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IR	Insulin receptor, receptor de la insulina
IR/IGF/IR	Receptor híbrido de IGF e insulina
IRR	Insulin related receptor, receptor de la insulina relacionado con el receptor
IRS-1	Insulin receptor substrate 1, substrato 1 del receptor de la insulina
kDa	Kilo daltons
LH	Lutein hormone, hormona luteinizante
M6P/IGF-IIR	Receptor de manosa 6 fosfato de IGF-II
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
NIBSC	National Institute for Biological Standards and Control, Instituto Nacional para el control de los estándares biológicos
NSILA	Non-suppressible insulin-like activity, factores con actividad insulínica no suprimible
OMS	Organización Mundial de la Salud
PDGF	Platelet-derived growth factor, factor de crecimiento plaquetario
PPF	Potato protein fermented, proteína de patata fermentada
SDAP	Spray dried animal plasma, plasma animal desecado por spray
SDPP	Spray dried porcine plasma, plasma porcino desecado por spray
SNC	Sistema nervioso central
TNF- α	Tumor necrosis factor alfa, factor de necrosis tumoral alfa

1 Introducción General

1.1 Orígenes e hipótesis previas de trabajo con IGF-I

Las observaciones clínicas realizadas por Pierre Marie en 1886 estudiando la acromegalia, sirvieron de punto de partida para elucidar el papel que la parte anterior de la glándula pituitaria tiene en la regulación del crecimiento. Tres años más tarde, Pierre Marie describió los hallazgos patológicos encontrados en un paciente con acromegalia, como “hipertrofia de la pituitaria con una enorme dilatación de la silla turca” (Daughaday et al., 1999).

El aislamiento de las hormonas de la parte anterior de la pituitaria y la caracterización de sus funciones fueron logros destacados de Hervert M. Evans en el departamento de anatomía de la universidad de California en Berkeley. En 1921 junto a Long estudiaron que la estimulación del crecimiento en ratas era posible a partir de inyecciones de extractos de pituitaria anterior bovina (bGH) (Daughaday et al., 1999).

Philip E. Smith de la Universidad de California en Berkeley fue el responsable de los primeros métodos quirúrgicos a través de los cuales fue posible mantener vivos animales hipofisectomizados. También el mismo autor fue responsable del descubrimiento de que ratas hipofisectomizadas mantenían el crecimiento si eran sometidas a inyecciones crónicas de hormona bovina del crecimiento (bGH). Estos descubrimientos fueron descritos en su artículo de 1930, “Hypophysectomy and a replacement therapy in the rat”.

Li et al. en 1945 propusieron un método para el aislamiento de la hormona del crecimiento (GH) y Greenspan et al., en 1948 un procedimiento para medir su actividad biológica estandarizado (“the tibia test”) fijando que la dosis mínima efectiva para este ensayo era de 5 µg de bGH administrada diariamente durante 4 días (Daughaday et al., 1999).

Gemzell et al., en 1955 informaron de que fracciones de plasma de un paciente con acromegalia y de otro paciente que padecía gigantismo parecían contener altos niveles de GH y que las fracciones de un individuo normal eran inactivas contribuyendo de esta forma a la estimulación epifiseal-tibial (Daughaday et al., 1999).

En la década de los 50 del siglo pasado se descubrió que la incorporación de azufre radiactivo [³⁵S] al grupo sulfato en el cartílago epifiseal de la tibia era una prueba biológica más sensible y menos costosa que el ensayo que se usaba hasta entonces para estudiar la regeneración de los cartílagos. El

azufre radioactivo [35S] estuvo más disponible a los investigadores tras la segunda guerra mundial y se descubrió que era incorporado en el cartílago epifiseal a través de una matriz de mucopolisacáridos (Jones et al., 1995a) en el cartílago de ratas. Glicosaminoglicanos sulfatados del cartílago junto con otros oligosacáridos están unidos mediante enlaces covalentes a proteínas y estos proteoglicanos forman agregados gigantes en la matriz extracelular con ácido hialurónico y una glicoproteína estabilizante (Hardingham et al., 1992). Los proteoglicanos juegan un papel importante a través de la hidratación de la matriz y de la regulación de la función celular y su capacidad para unirse a determinados factores de crecimiento (Ruoslahti, 1989) y proteínas de unión a IGF-I (IGFBPs) (Hodgkinson et al., 1994).

Ellis et al., en 1953 (citado por Daughaday et al., en 1999) informaron de que ratas jóvenes hipofisectomizadas tenían una menor sulfatación in vivo sólo en el cartílago costal que las no hipofisectomizadas y que esto podía ser revertido con la inyección diaria de bGH durante 3 días. Denko et al., en 1955 (citado por Daughaday en 1999), informaron de que la menor incorporación de [35S] era sólo apreciada en el cartílago costal y no en otros cartílagos en las ratas hipofisectomizadas pero el tratamiento con GH incrementaba en todos los cartílagos la incorporación de [35S]. Esta observación sugirió que la valoración biológica de la acción de GH podría ser más sensible si se medía la incorporación de [35S] en el cartílago epifiseal de la tibia.

Murphy et al., en 1956 observaron un fallo progresivo en la incorporación de sulfato en la tibia proximal incluyendo el cartílago epifiseal de ratas durante las 2 primeras semanas tras la hipofisectomía. La inyección de bGH restablecía casi completamente la incorporación de sulfato a la tibia (Daughaday et al, 1999).

Salmon et al., en 1957 demostraron que la incorporación de sulfato en los cartílagos costal, nasal y xifoideo de ratas hipofisectomizadas disminuía y que esto podía ser recuperado tras el tratamiento de las ratas con bGH (Daughaday et al., 1999; Jones et al., 1995b).

Park et al., en 1952 investigaron la capacidad de la GH para corregir la hipersensibilidad a la insulina del diafragma de ratas hipofisectomizadas inyectando GH 24 h antes de la resección del diafragma (Daughaday et al., 1999). Si se incorporaba GH in vitro al diafragma ésta tenía una acción parecida a la insulina más que una acción anti-insulínica de forma que resultaba una paradoja que intrigó a muchos investigadores. La posibilidad de que un factor intermediario que se encontrase, bien en el plasma o en el suero responsable de la acción anti-insulínica de la GH in vivo sobre el cartílago fue objeto de investigación.

En estos experimentos llevados a cabo para probar esta hipótesis, la adición de plasma de ratas normales al medio de incubación del tejido recuperó la incorporación de sulfato al cartílago costal de ratas hipofisectomizadas al mismo nivel que tiene el cartílago de ratas normales, incorporación que no se lograba si se añadía al tejido, plasma de ratas hipofisectomizadas. Así pues, la actividad promotora de la adición de grupos sulfatos (sulfatación) estaba presente en el suero así como en el plasma de ratas normales y además era dosis dependiente.

La insulina también estimulaba la sulfatación pero la alta concentración necesaria para provocar esta acción eliminó a la misma de su consideración como estimulante del crecimiento del cartílago mientras que la tirosina y la triyodotirosina tampoco fueron efectivas en la sulfatación del cartílago.

La actividad estimuladora del cartílago quedaba de forma remanente en el suero de ratas normales tras 24 h de diálisis lo que sugería que había un componente activo bien de naturaleza proteica o ligado a una proteína con lo que el término “factor de sulfatación” fue dado a este desconocido componente dependiente de la acción de GH.

Estudiando la sulfatación del cartílago se descubrió además que la incorporación de ³H-timidina al cartílago costal tras el tratamiento con suero de ratas hipofisectomizadas era muy superior al de ratas no hipofisectomizadas viéndose que bGH no actuaba directamente sobre las células del cartílago sino que estimulaba la división celular indirectamente a través de un componente del suero que podía ser idéntico al factor de sulfatación.

La incapacidad de GH para estimular directamente la sulfatación en los glicosaminoglicanos como una respuesta diferenciada, la incorporación de la timidina al ADN como una respuesta mitogénica en el cartílago costal aislado y la capacidad de que el suero de ratas normales estimulase ambas respuestas dieron lugar a la hipótesis de la somatomedina (hormona mediadora de la somatotropina; somatotrophin intermediary) que establece un modo de acción endocrino para la molécula que hoy conocemos como IGF-I. Además ejerce otras acciones como son la incorporación de la prolina a hidroxiprolina del colágeno y la de uridina al ARN (Daughaday et al., 1972).

Además se descubrieron otros factores en el suero que estimulaban efectos parecidos a los de la insulina y distintos a los de la insulina inmunoreactiva que no pueden ser eliminados con la adición simultánea de anticuerpos anti-insulina. Estos fueron llamados factores con actividad insulínica no suprimible (NSILA) (Froesch et al., 1966).

En 1970 se determinó que no había ningún órgano principal donde se sintetizasen ni la

somatomedina ni los NSILA, pero se podían encontrar preparaciones altamente purificadas de ambos en extractos de suero. Se descubrió también que preparaciones purificadas tanto de NSILA como de somatomedina estimulaban la formación de grasa a partir de glucosa así como la incorporación de grupos sulfato a los cartílagos. Basado en estos descubrimientos se concluyó con que estos factores debían tener estructuras iguales o muy similares a las de la insulina. Esto fue demostrado en 1976 con la secuenciación de los NSILA (Rinderknecht et al., 1978a; Rinderknecht et al., 1978b).

A consecuencia de ello los NSILA fueron renombrados como factores del crecimiento similares a la insulina (IGF, insulin-like growth factor, por sus siglas en inglés). La posterior secuenciación de la somatomedina-C demostró que era idéntica a la de IGF-I y se unificó la nomenclatura bajo el término de factores del crecimiento similares a la insulina tipo I (Rinderknecht et al., 1978b). La secuenciación de una segunda molécula con actividad similar a la insulina con estructura similar pero no idéntica a IGF-I dio origen al factor de crecimiento similar a la insulina tipo II (IGF-II) (Rinderknecht, et al., 1978; Klapper, et al., 1983).

Por ello se determinó que las acciones de GH en el cartílago y en otros tejidos eran mediados por la IGF-I sintetizada en el hígado y no por la acción directa de GH en los tejidos (Daughaday et al., 1972).

En 1978, IGF-I y II fueron purificadas y caracterizadas y se demostró que la molécula denominada somatomedina C, correspondía a IGF-I. Ambas moléculas fueron denominadas “parecidas a la insulina” (insulin-like por su denominación en inglés) ya que tenían la propiedad de estimular la incorporación de glucosa a las células grasas y musculares (Le Roith, 2001).

Como se conocía el receptor de la insulina, los siguientes pasos fueron determinar si IGF-I competía con los mismos receptores que la insulina (Hintz et al., 1972) pero se descubrió que tenían diferentes receptores (Marshall, et al., 1974) observándose que las diferencias de cada receptor podían dar lugar a la existencia de dos receptores (Megyesi, et al., 1975) Posteriormente se descubrió un tercer receptor que muestra más afinidad por la IGF-II que por la IGF-I y que no tiene ninguna afinidad por la insulina (Rechler, et al., 1980). Tras la determinación de los tamaños moleculares de los receptores de la insulina, IGF-I e IGF-II se conoció perfectamente la independencia de las tres moléculas (Massague et al., 1982).

Esta fue la hipótesis original de la actuación de la IGF-I llamada entonces somatomedina ya que

reflejaba la habilidad de esa sustancia para intermediar los efectos de GH. Así IGF-I actuaba en los cartílagos y huesos principalmente de un modo principalmente endocrino. También tenía un efecto de retroalimentación en el eje somatotrópico suprimiendo la liberación de GH de la pituitaria (Berelowitz, et al., 1981).

El descubrimiento de que IGF-I era sintetizada prácticamente en todos los tejidos, significó el primer desafío a la hipótesis original. Se descubrió que el gen de IGF-I se expresaba en múltiples tejidos desde la fase embrionaria al desarrollo postnatal y la fase adulta (Roberts Jr., et al., 1987; Han, et al., 1988). La amplia expresión de IGF-I indicaba que ejercía un papel importante en la regulación del crecimiento en múltiples tejidos y células de un modo local, paracrino y autocrino llegándose a la conclusión de que la IGF-I producida de modo local en diferentes tejidos y su expresión podía ser regulada por GH o por otras hormonas (Le Roith, 2001). Isaksson et al., en 1982 concluyeron que la forma circulante de IGF-I no era necesaria para la estimulación del crecimiento longitudinal del hueso sino que GH podía por ella misma estimular el cartílago e incluso que la producción local de IGF-I estimulase el efecto de GH. Esto dio lugar a una hipótesis alternativa con un compromiso donde los efectos de GH fueran ejercidos tanto por la forma endocrina como por la producción local de IGF-I, existiendo también efectos propios de GH independientes de IGF-I. A esta teoría se la denominó, la teoría dual propuesta por Green y sus colaboradores en 1985 (Green, et al., 1985).

La teoría dual propuesta por Green se basaba en el hecho de las acciones que tenía GH e IGF-I en el crecimiento y diferenciaciones celulares. Esta teoría sugería que GH estimulaba la diferenciación de adipocitos mientras que IGF-I estimulaba su expansión clonal.

La teoría dual también fue cuestionada ya que se demostró que la insulina a altas dosis y la IGF-I a concentraciones fisiológicas estimulan a los preadipocitos a pasar a adipocitos maduros (Rubin, et al., 1977; Rubin, et al., 1978; Accili, et al., 1991; Steinberg, et al., 1982) probablemente por la activación de los receptores de IGF-I. Parece claro que GH tiene efectos directos no mediados o dependientes de IGF-I en células tanto in vivo como in vitro. La presencia de GH parece no ser esencial para la diferenciación celular ya que estos tipos celulares diferenciados son abundantes en ratones y humanos con deficiencia en GH. Los tratamientos de GH en estos individuos reducen la abundancia de tejido adiposo. Mientras que GH y IGF-I tienen acciones complementarias promoviendo el crecimiento de huesos largos: estas acciones no son exactamente como proponía la hipótesis dual de IGF-I.

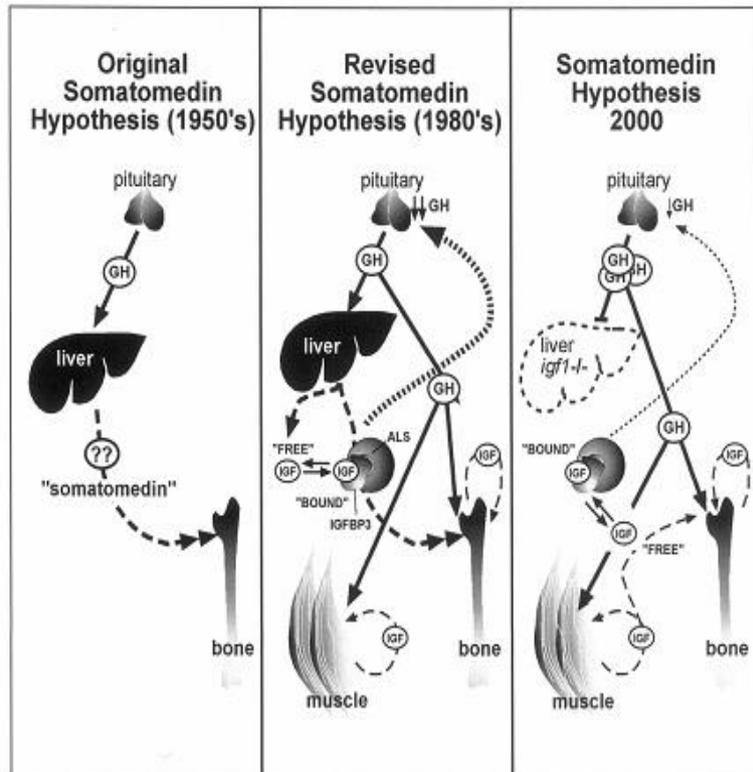
La figura 1 (tomada de Le Roith, 2001) resume el estado de las hipótesis hasta el inicio del siglo XXI. La hipótesis original proponía que GH controlaba el crecimiento somático mediante la estimulación hepática de la producción y circulación de una sustancia, somatomedina o IGF-I (izquierda). La hipótesis fue modificada por el descubrimiento de que IGF-I se expresaba en casi todos los tejidos del organismo y esto introducía la posibilidad de un funcionamiento autocrino y paracrino de IGF-I. Los trabajos realizados mediante la delección de determinados genes cuestionaron el papel de la IGF-I hepática y de la forma circulante de IGF-I en el control del crecimiento postnatal y adulto por lo que una reducción de la cantidad de IGF-I o su forma ligada a IGFBP-3 asociados a elevados niveles de GH cuando se produce el crecimiento postnatal son normales. El nivel de IGF-I circulante de forma libre es normal y puede estar así mismo involucrada en el crecimiento de forma autocrina o paracrina. La fuente de la forma libre de IGF-I está todavía por determinar.

La familia IGF tiene acciones contradictorias sobre los efectos de GH y sobre las acciones parecidas a las de la insulina para inhibir la estimulación de la gluconeogénesis y lipólisis generada por GH. El sistema GH-IGF aumenta la acción anabólica de GH atenuando los efectos indeseables de la gluconeogénesis y lipólisis de GH. Dados los efectos parecidos a los de la insulina de IGF sobre la estimulación de la síntesis proteica inhibiendo la proteólisis y contrarrestando los efectos hiperglicémicos y lipolíticos de GH, este doble sistema sirve para incrementar los efectos anabólicos de GH (Kaplan et al., 2007).

Con las nuevas técnicas de ingeniería molecular ha sido posible determinar las acciones de la familia IGF, de sus receptores y de sus proteínas transportadoras (IGFBP) así como el conocimiento sobre qué genes se expresan cuando las células se exponen a IGF-I ó II. También se ha logrado identificar los componentes de las rutas de las señales de transducción de la insulina y de IGF determinando los elementos de señalización entre la insulina e IGF que interactúan.

La revisión del funcionamiento y acciones de la familia IGF propone actualmente que el sistema IGF más que ser un ejecutor de las acciones de GH son hormonas que amplifican las acciones anabólicas de GH contrarrestando sus efectos perjudiciales dadas las acciones estimulantes de algunos de los efectos de GH pero disminuyendo los efectos sobre la gluconeogénesis y lipólisis. Se incrementan las acciones anabólicas de GH a través de la estimulación dependiente de GH de la síntesis proteica y de la inhibición de la proteólisis.

Figura 1. Las hipótesis de la actuación de IGF-I en el año 2000.



Le Roith, 2001

Este doble efecto de incrementar y disminuir al mismo tiempo las acciones de GH, puede ser considerado como una adaptación para incrementar los efectos de GH a través de la secreción de IGF, que aumenta a su vez sus efectos anabólicos mientras que disminuye sus potenciales efectos diabetogénicos y lipolíticos (Kaplan et al., 2007).

1.2 El sistema IGF

El sistema IGF filogenéticamente comprende una vieja familia de péptidos relacionados con el crecimiento de los mamíferos, su desarrollo, su metabolismo así como con procesos celulares como la proliferación, supervivencia, la migración y la diferenciación (Annunziata et al., 2011).

La familia IGF comprende tres ligandos (IGF-I, IGF-II e insulina), sus receptores en la superficie celular (el receptor de IGF-I, el receptor manosa-6-fosfato de IGF-II, M6P/IGF-IIR, el receptor de la insulina, IR y el receptor híbrido de IGF e insulina, IR/IGF/IR) y seis proteínas transportadoras o ligantes (IGFBP 1 a 6) y sus proteasas (Le Roith 2003; Federici et al., 1997; Annunziata et al.,

2011).

IGF-I tiene características de una hormona circulante y de un factor de crecimiento tisular. La mayor parte de la IGF-I que se encuentra en la circulación se produce en el hígado. La regulación de la producción es compleja y la hormona GH juega un papel dominante en la regulación de la expresión génica de IGF-I. IGF-I se produce también en otros órganos, no sólo en el hígado (principal fuente, pero no única) y ejerce en ellos acciones autocrinas y paracrinas así como también por el clásico mecanismo hormonal endocrino (Thissen et al., 1994a). IGF se excreta así como se produce sin que exista ningún órgano donde se almacene. La molécula activa de IGF-I es una cadena de 7500 daltons con 70 aminoácidos con 3 enlaces disulfuro. IGF-II tiene una gran semejanza pero sólo tiene 67 aminoácidos (Rotwein et al., 1986). Tiene una gran homología con la insulina teniendo un 48% de los aminoácidos idénticos, enlaces disulfuro y similar estructura terciaria. La mayor diferencia estructural entre la insulina e IGF-I se encuentra en que IGF-I retiene un péptido C que se ha eliminado de la proinsulina y una pequeña extensión D en la cadena A que se encuentra en ambas IGF.

1.2.1 La transducción de señales a través de los receptores de la familia IGF

Se conocen dos receptores que específicamente reconocen las IGF. El receptor de IGF-I que tiene una alta homología con el receptor de la insulina y es el único que tiene funciones de señalización mediadas por IGF y el receptor de IGF-II que es idéntico al receptor catión independiente manosa-6-fosfato con funciones ligadas al reciclado de las enzimas lisosomales que contienen residuos de manosa-6-fosfato pero sin funciones conocidas de señalización de IGF (Rosenfeld et al., 1999). Existen además dos receptores, el de la insulina (IR) con baja afinidad para unirse a las IGF y el receptor híbrido de insulina e IGF al que se une la IGF y puede transmitir señales citoplasmáticas (Jones et al., 1995a).

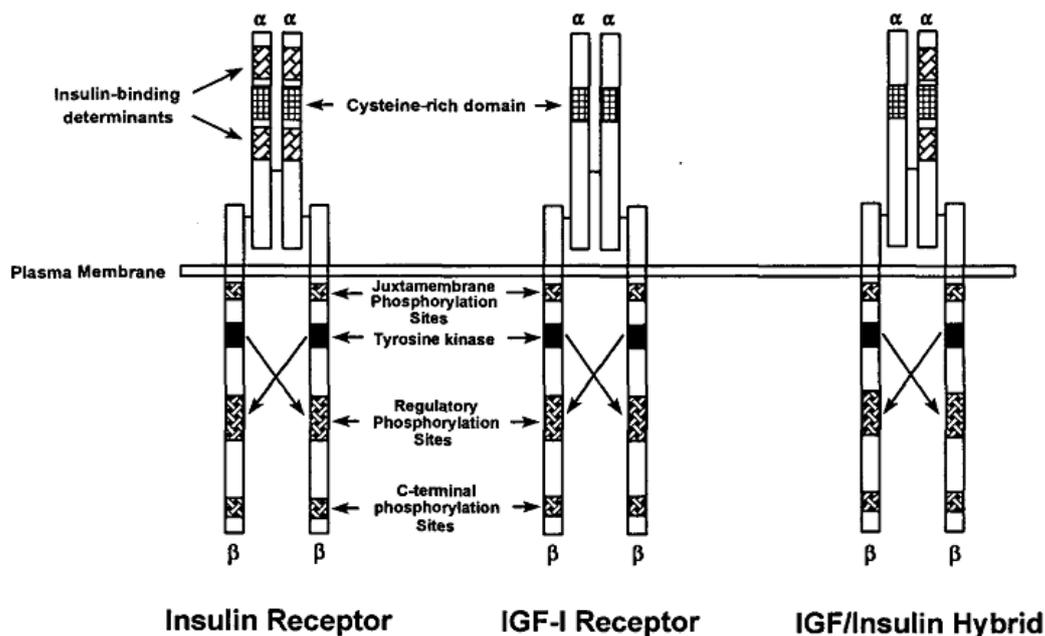
1.2.2 El receptor de IGF-I

Las acciones de IGF-I a nivel celular se realizan cuando IGF-I se une a su receptor (IGF-1R). El receptor de IGF-I consta de dos subunidades (dos cadenas polipeptídicas) denominadas α y β , unidas por enlaces disulfuro para formar un holoreceptor $\alpha_2\beta_2$ (Figura 2).

La especificidad de unión se localiza en las regiones ricas en cisteína mientras que la actividad tirosin-quinasa se encuentra en la parte citoplasmática de la subunidad β .

A pesar de la alta similitud entre los receptores de IGF-I e insulina, éstos se unen muy específicamente a sus ligandos. El receptor de insulina tiene 100 veces menos afinidad por IGF-I que por la insulina. El receptor de IGF-I tiene de 100 a 1000 veces menos afinidad por la insulina que por IGF-I y de 2 a 15 veces menos afinidad por IGF-II dependiendo de las células. En el receptor de IGF-I las regiones ricas en cisteína son necesarias para reconocer específicamente a IGF-I y las regiones adyacentes son las que específicamente reconocen a la insulina. El receptor híbrido IGF-I/insulina reconoce IGF-I con la misma afinidad que el receptor de IGF-I y de 15 a 50 veces menos a la insulina (Frattali et al., 1993; Steele-Perkins et al., 1988).

Figura 2 Características de los receptores de la insulina, IGF-I y del receptor híbrido IR/IGF-I, tomado de Jones et al., 1995).

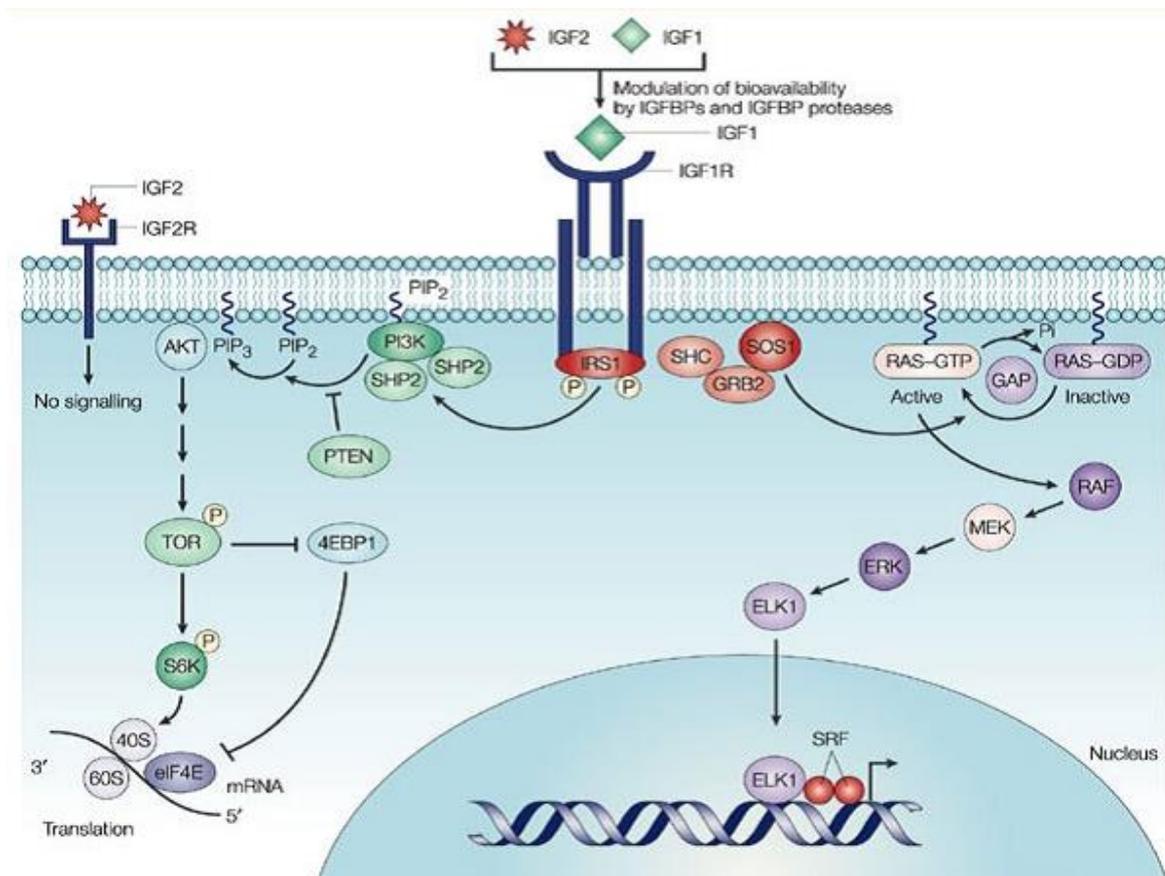


La unión de IGF-I con su receptor da lugar in vivo a la fosforilación de los residuos de tirosina y de serina de una proteína citoplasmática denominada IRS-1, (insulin receptor substrate 1, substrato 1 del receptor de la insulina) previamente fosforilada por el receptor de la insulina y desencadena al menos dos cascadas de transducción de señales intracelulares (Chuang et al., 1993). La primera da lugar a la señal que inicia el crecimiento celular y la segunda conduce a través de señalización extracelular a respuestas mitogénicas y metabólicas originas en el núcleo celular (Steele-Perkins et

al., 1988; Kato et al., 1993).

Como parece ser que los receptores de la insulina y de IGF-I usan IRS-1 como vía intermedia de señalización, una importante cuestión es conocer cómo las vías de los receptores divergen ya que la convergencia de las vías de la señalización iniciadas por los factores de crecimiento (como el factor de crecimiento epidérmico, EGF en inglés o el factor de crecimiento plaquetario, PDGF) es una preocupación generalizada (Chao, 1992). La divergencia en la señalización ocurre tras la fosforilación de IRS-1 y puede haber otras proteínas que contienen SH₂ que interaccionen con IRS-1 fosforilada. Cada molécula puede ser expresada de forma diferente en las células de forma que haya respuestas diferentes según la vía que se active tras la fosforilación de IRS-1. In vivo, la especificidad de acción debida a la insulina o a IGF-I puede ser debida a la especificidad de los tejidos y a diferencias específicas en el estado de desarrollo celular (Figura 3).

Figura 3 Vista de la activación del receptor de IGF-I y las acciones tras la señalización (tomado de Pollak, et al., 2004).



No obstante IGF-I a diferencia de la insulina, estimula la absorción de glucosa en estas células a pesar de la baja fosforilación de la tirosina lo que sugiere que al menos en parte existe una vía de ejecución de respuestas metabólicas no dependientes de la fosforilación de la tirosina (McClain et al., 1990).

Como consecuencia de la homología entre el receptor de la insulina y el de IGF se forman receptores híbridos compuestos por un hemi-receptor $\alpha\beta$ de insulina y un hemi-receptor $\alpha\beta$ de IGF en células que expresan ambos receptores. Su existencia fue hipotetizada por Kasuga et al., (1983) y confirmada por Soos et al., (1989), que los identificaron en tejido placentario humano. Parece que estos receptores híbridos tienen alta afinidad tanto por IGF-I como por IGF-II siendo esta afinidad parecida a la de los receptores de IGF. Por el contrario, la insulina se une con poca afinidad a ella (10 veces inferior) que a sus receptores. Su respuesta biológica depende el sustrato que se liga a ellos pero su papel fisiológico no está claro (Belfiore et al., 2009).

Existe un último receptor llamado receptor de la insulina relacionado con el receptor (IRR) aunque es similar estructuralmente a los anteriores, no se ha demostrado ninguna función fisiológica relacionada pero se encuentra en riñón, tejido nervioso, estómago y páncreas. Ratones modificados genéticamente sin IRR son fenotípicamente normales (Shier et al., 2001).

1.3 IGF-I y sus acciones

IGF-I mimetiza todas las acciones promotoras del crecimiento de la hormona del crecimiento (GH) pero estas acciones promotoras del crecimiento están bajo estudio con diferentes hipótesis. También están en estudio las señales de transducción de la IGFs (Laron et al., 1992). Parece ser que GH controla los niveles de IGF-I y que es IGF-I la que actúa directamente a nivel celular. Aproximadamente entre el 75 y 80% de la cantidad de IGF-I circulante lo hace ligada a una proteína de transporte denominada IGFBP-3 y a una subunidad de la misma ácido-lábil y que es este complejo de almacenamiento de IGF-I lo que estaría bajo control directo de GH (Jones et al., 1995c).

Para una mejor comprensión de la actuación de IGF-I, podemos clasificar sus acciones según su actuación *in vivo* o *in vitro*.

1.3.1 Acciones de IGF-I in vivo.

Casi todos los tejidos son sensibles a la acción de IGF-I en especial el tejido muscular, hígado, riñón, nervios, piel y pulmón. No obstante su acción principal consiste en el desarrollo óseo.

Los niveles de IGF-I en los tejidos están también controlados por GH. La familia IGF se sintetiza también en las fisis o cartílagos de crecimiento de los huesos largos (Siebler et al., 2001), ovario (Foster et al., 1995; Le Roith 2001) y riñón (Le Roith 2003) por lo que IGF-I tiene una actuación pleiotrópica, a nivel paracrino, endocrino y autocrino (Annunziata et al., 2011). En el útero son los estrógenos los que regulan su síntesis (Foster et al., 1995; Le Roith 2001) y por lo tanto la expresión de IGF-I es independiente de GH. Los niveles de IGF-I durante el desarrollo fetal son inferiores a los postnatales (Daughaday et al., 1989) que son GH-dependientes por lo que la acción de IGF-I en el feto es autocrina y paracrina.

Los niveles circulantes de IGF-I proveen una realimentación de los efectos en el eje somatotrópico con supresión de la liberación de GH de la glándula pituitaria (Le Roith, 2001). Este fue un modelo (eje hipotálamo-pituitaria-hígado) para explicar las acciones de la IGF-I pero esta hipótesis cambió cuando se demostró que el gen de IGF-I estaba expresado en múltiples tejidos desde el desarrollo embrional hasta postnatal y durante la vida adulta y que IGF-I juega un papel en la regulación del crecimiento de múltiples tejidos y células de forma local, paracrina o autocrina.

IGF está activada durante el desarrollo fetal con efectos promotores del crecimiento especialmente en el hueso, glándula mamaria, próstata y tejido muscular. También está implicada en la renovación de tejidos en la etapa post-natal principalmente en el tejido muscular y en la glándula mamaria, participando de forma muy activa como factor de supervivencia en el tejido nervioso ejerciendo un papel neuroprotector en condiciones patológicas (Humbert et al., 2002; Carro et al., 2002). El sistema IGF juega un papel muy importante en la plasticidad neuronal y en funciones cognitivas (Aleman et al., 1999; Llorens-Martín et al., 2009).

IGF tiene funciones protectoras cardiacas. Bajos niveles séricos de IGF-I están asociados con alto riesgo de problemas isquémicos (Colao 2008).

IGF-I es también un potente mitógeno y ejerce un factor antiapoptótico en células vasculares y ejerce funciones regulatorias en el sistema inmune (O'Connor et al., 2008).

1.3.1.1 Efectos de IGF-I tras su administración en animales.

Una hipoglucemia marcada es lo primero que se observa tras la administración de IGF-I en ratas normales debido a un incremento de la absorción de glucosa periférica sin una disminución de la producción de glucosa hepática (Jacob et al., 1989; Pratipanawatr et al., 2002; Yakar et al., 2002; Yakar et al., 2005) mientras que en ratas diabéticas su administración además produce un incremento de la síntesis de glucógeno con una disminución de la producción de glucosa hepática (Pratipanawatr et al., 2002).

IGF-I no tiene efecto sobre los niveles de ácidos grasos (Pratipanawatr et al., 2002). IGF-I incrementa así mismo el metabolismo proteico y el peso de los animales con buen estado nutritivo (Thissen et al., 1999). Si se somete a animales a una dieta restrictiva en proteínas, su peso vivo no se incrementa pero sí el peso del bazo, riñones e intestino debido a un estado de resistencia a IGF-I (O'Sullivan et al., 1989; Thissen et al., 1999).

IGF-I y GH estimulan el crecimiento en animales deficientes en GH aunque el efecto sobre el mismo es mayormente debido a GH, siendo el efecto de IGF-I un crecimiento del bazo, timo y riñón (Yakar et al., 2005). Esto es debido a que ambas hormonas tienen diferentes tejidos diana y a que IGF-I tiene diferentes acciones endocrinas, paracrina y autocrinas.

IGF-I tiene acción directa sobre el epitelio del intestino cuando se libera en el mismo (Olanrewaju et al., 1992) alterando el nivel de las proteínas transportadoras de IGF-I, IGFBP.

En ratas con diabetes tienen bajos niveles de IGF-I y bajos crecimientos, la administración de IGF-I restablece el crecimiento sin normalización de los niveles de glucosa en sangre (Thissen et al., 1994b).

La acción promotora del crecimiento es independiente de la GH. Los niveles de IGF-I en plasma en humanos están correlacionados con el tamaño corporal. Niños con constitución de altura elevada tienen IGF-I en plasma elevado mientras que líneas de ratones seleccionados para tener altos niveles de IGF-I muestran pesos corporales altos (Le Roith, 2001).

IGF-I e insulina tienen acciones compartidas y únicas. La administración de IGF-I incrementa el metabolismo proteínico corporal de forma global mediante el incremento de la síntesis de proteína así como inhibe la proteólisis. IGF-I actúa vía su receptor y no a través del receptor muscular de la

insulina. IGF-I incrementa la captación de glucosa hacia los tejidos periféricos que es un efecto propio de la insulina (Le Roith, 2001).

Se han realizado estudios con animales transgénicos, principalmente ratones, en las que se ha sobreexpresado la producción de IGF-I de tal forma que se han podido estudiar las acciones de IGF-I en la etapa posterior al nacimiento de los animales. Con estudios en los que se ha eliminado la acción del gen de la producción de IGF-I se han podido estudiar las acciones de IGF-I, IGF-II e insulina en la vida fetal.

La sobreexpresión de la producción de IGF-I se produjo a partir de la segunda y tercera semana de vida a pesar de que también estaba sobreexpresado el gen de la producción de GH demostrándose de esta forma que el gen de IGF-I no era receptivo a la GH. El incremento de tamaño de estos ratones se produjo una vez que el gen de IGF-I se expresaba, demostrándose que las propiedades de incremento del crecimiento de GH eran inducidas por la expresión de IGF-I (Mathews et al., 1988).

Una línea de ratones transgénicos que expresaban IGF-I bajo el control del promotor de la metalotioneína-1 fueron cruzados con otra línea de ratones enanos transgénicos que no producían GH genéticamente conseguido por la expresión del gen de la toxina diftérica. Los ratones obtenidos por este cruzamiento expresaban la producción de IGF-I en ausencia de GH. Estos ratones se hicieron más grandes en peso y tamaño que sus compañeros de camada con deficiencia de GH de forma que fueron indistinguibles en peso y tamaño de sus hermanos no transgénicos. Estos resultados confirman el papel de IGF-I como mediador de la estimulación de GH del crecimiento somático, incluyendo el de los huesos largos e ilustra el papel esencial de GH e IGF-I en la modulación del crecimiento postnatal. El análisis de las diferencias en el crecimiento de los órganos de estos ratones, sin embargo, sugiere que GH e IGF-I también promueven el crecimiento de forma independiente. GH parece ser necesaria para obtener un tamaño normal hepático, mientras que IGF-I puede estimular el crecimiento del cerebro (ver tabla 1) (Behringer et al., 1990).

Tabla 1. Características de los ratones transgénicos en los anteriores modelos (modificado de. Jones and Clemmons, 1995a)

Modelo transgénico	Peso, % sobre el normal	Tamaño del cerebro	Tamaño del hígado	Nivel de GH en suero	Nivel de IGF-I en suero
Sobreexpresión de GH, (GH ⁺)	200 %	Normal	Mucho mayor	Muy alto	Muy alto
Sobreexpresión de IGF-I (IGF ⁺)	130%	Mucho mayor	Mayor	Bajo	Alto
GH ⁻ /IGF ⁺	Normal	Mayor	Menor	Muy bajo	Normal
GH ⁻	60%	Menor	Mucho menor	Muy bajo	Muy bajo

Los estudios con ratones transgénicos sobreexpresando o anulando la producción de GH e IGF-I han sido valiosos para estudiar las acciones de IGF-I en la vida postnatal. Sin embargo para el estudio de las acciones en el feto se han realizado estudios con mutaciones anuladoras. Los resultados de estos estudios deben ser considerados cuidadosamente ya que los fenotipos resultantes son aquellos en los que las funciones anuladas no han sido en principio reemplazadas o compensadas por otros genes.

Así los fenotipos de los neonatos a los que se alteró la producción de IGF-I eran similares a los que se había suprimido la IGF-II. El peso a nacimiento fue un 60% del peso normal manteniendo las proporciones corporales relativamente normales. La supervivencia en los ratones sin IGF-II fue normal. Sin embargo hubo una alta mortalidad neonatal en los ratones sin IGF-I. La causa de la muerte fue desconocida. Los ratones con mutaciones anuladoras tanto de IGF-I como de IGF-II murieron nada más nacer debido a la falta de movimientos respiratorios. La histología muscular demostró una falta de organización y vacuolización de las miofibrillas apareciendo la epidermis con hipoplasia (Behringer et al., 1988; Liu et al., 1993).

IGF-I e IGF-II tienen funciones independientes y esenciales como promotores del crecimiento pero IGF-II ejerce sus efectos antes que IGF-I.

1.3.1.2 Efectos de la administración de IGF-I en humanos.

Los efectos que produce la administración de IGF-I en voluntarios humanos son básicamente los mismos que se producen tras la administración en ratas. Una inyección de 100 µg/kg de IGF-I causa una rápida hipoglucemia similar en potencia a la causada por una inyección de 0,15 UI de insulina. Sin embargo, los efectos sobre la reducción de los ácidos grasos libres causados por IGF-I fueron menos potentes que los causados por la insulina y además fueron ejercidos solamente en el tiempo posterior a la inyección de IGF-I cuando los niveles de los ácidos grasos libres eran muy altos (Boulware et al., 1992).

Comparando las acciones de las hormonas que contrarregulan las respuestas a la hipoglucemia inducida por IGF-I con las inducidas por la insulina, IGF-I suprime la acción del glucagón y de la GH e incrementa la acción de la norepinefrina y adrenalina. Si se administraba GH ó IGF-I las acciones anabólicas y los efectos promotores del crecimiento eran comparables mientras que ejercen efectos contrarios en el metabolismo de la glucosa y de los ácidos grasos (Zenobi et al., 1992).

En sujetos catabólicos, la inyección combinada de GH e IGF-I da lugar a un incremento en la retención de nitrógeno 4 veces superior a lo normal yendo estos sujetos a un balance de nitrógeno positivo a pesar de la restricción calórica. Los potentes efectos anabólicos y la ausencia de hipoglucemia sugieren que terapias combinadas de IGF-I y GH podrían usarse en sujetos en estado catabólico (Kupfer et al., 1993). Cuando se administran terapias combinadas de IGH-I y GH, IGF-I circulante está más ligada al complejo de 150 kDa de IGFBP que si se inyecta solamente IGF-I. Esto resulta en una vida media más prolongada de IGF-I en suero y podría explicar los efectos anabólicos observados cuando se producen terapias combinadas de GH e IGF-I.

Otros efectos observados tras la administración de IGF-I en humanos son una disminución de las tasas de colesterol (Miell et al., 1992), de potasio (Miell et al., 1992) y un incremento en la función renal (Guler, et al., 1989; Hirschberg et al., 1993) En la tabla 2 se resumen las acciones de IGF-I en los seres humanos.

Tabla 2. Efectos de la administración de IGF-I en humanos (Jones et al., 1995b).

Función	Efectos de IGF-I
Metabolismo de la glucosa	Incremento de la absorción de glucosa Disminución de la producción de glucosa hepática Incremento aparente de la sensibilidad a la insulina Hipoglucemia, especialmente con administración intravenosa
Metabolismo de las grasas	Disminución de las cetonas en suero Disminución de los ácidos grasos libres en suero Disminución de los triglicéridos
Anabolismo proteico	Incremento de la síntesis de proteína Disminución de la excreción de nitrógeno Incremento de la adición de proteína corporal Incremento del tamaño de bazo, timo, riñón e intestino Mejora de la cicatrización
Función renal	Incremento de la tasa de filtración glomerular Incremento del flujo renal plasmático Mejor y más rápida recuperación de un infarto isquémico renal
Hormonas contra regulatorias	Disminución de GH Disminución de glucagón Incremento de las catecolaminas
Crecimiento	Incremento en sujetos con hipopituitarismo y en pacientes con insensibilidad a GH
Otros efectos	Crecimiento de la glándula parótida con falta de rigidez, parálisis facial periférica, dolor de cabeza, edema periférico y taquicardia

IGF-I además posee actividades autocrinas y paracrinas debido a que su síntesis se produce en múltiples tejidos. La expresión localizada en el cerebro puede tener claras funciones autocrinas y paracrinas (D'Ercole 1993). Tanto IGF-I como IGF-II se expresan en el sistema nervioso central (SNC) y cruzan poco la barrera hematoencefálica. Muchos grupos neuronales tienen abundantes receptores de IGF-I y la mayor actividad de IGF-I en SNC es de forma autocrina o paracrina en vez de endocrina. IGF-I puede actuar también como neurotransmisor o neuromodulador (Castro-Alamancos et al., 1993) así como ejercer un papel de promotor del crecimiento en el SNC. Así mismo esta acción paracrina o autocrina ha sido observado en órganos como el ovario, el tejido

conectivo y el intestino (Jones et al., 1995b).

1.3.1.2.1 Resumen de las acciones de IGF-I in vivo y otras posibles actuaciones.

La acción más característica in vivo de IGF-I es su capacidad para promover la proliferación celular y de forma complementaria, para inhibir la muerte celular o apoptosis. A través de las investigaciones con ratones mutantes se ha podido constatar su papel esencial e independiente en el crecimiento prenatal siendo mediada esta acción por su receptor. Con las investigaciones llevadas a cabo con ratones sobreexpresando GH e IGF-I se ha constatado que el crecimiento postnatal está asociado a la expresión de IGF-I y que la mayor parte del crecimiento debido a GH está mediado por IGF-I.

Las mayores diferencias en las acciones de insulina y de IGF-I son debidas a la existencia de las proteínas de transporte de IGF-I, las IGFBP, que prolongan y amortiguan los efectos hipoglucémicos de IGF-I, sobre todo en individuos con problemas en el receptor de la insulina de tal modo que IGF-I puede ser más efectiva controlando el nivel de glucosa en suero.

La terapia con IGF-I parece ser la mejor aproximación a pacientes con insensibilidad a GH. La administración de IGF-I da como resultado en individuos en estado catabólico un incremento en la retención de nitrógeno. Esta terapia combinada con la administración de GH puede potenciarse mientras que se minimizan los efectos sobre la regulación de la glucosa.

1.3.2 Acciones de IGF-I in vitro.

Los receptores de IGF-I están ampliamente distribuidos entre los diferentes tipos celulares e intervienen en la mayoría de los efectos in vitro producidos por IGF-I e IGF-II y también los producidos por la insulina si está presente en altas concentraciones. Los efectos in vitro se centran en los efectos anabólicos sobre las proteínas y los hidratos de carbono o sobre los efectos a largo plazo sobre la replicación y diferenciación celular.

El efecto más estudiado de IGF-I in vitro es su capacidad de estimular la síntesis de ADN y la replicación celular a través de su funcionamiento como favorecedor de la progresión del ciclo celular. Las células pasan del estado G_0 a G_1 por la estimulación de los factores de competencia. El

tratamiento de las células en este punto con IGF-I hace que el ciclo celular avance hacia una mayor síntesis de ADN y de la proliferación celular (Baserga et al., 1993). IGF-I actúa como estimulador de la miogénesis en la progresión del ciclo celular (en el cambio de G2 a M). Interviene también en la regulación de la expresión génica, en la apoptosis, en la producción de esteroides en la glándula adrenal y en la producción de esteroides sexuales (Le Roith 2001).

IGF-I in vitro tiene efectos mitogénicos sobre un amplio rango de tipos celulares como los fibroblastos, condrocitos, osteoblastos, queratinocitos, células foliculares tiroideas, células musculares blancas y rojas, neuronas, células del tejido mamario, células progenitoras de eritrocitos, del epitelio tímico, oocitos, células de la granulosa, espermatogonias, células de Sertoli y varios tipos de células cancerosas (Sara et al., 1990; Giudice 1992)

Las acciones autocrinas in vitro de IGF-I son vistas cuando IGF-I es colocada en el medio con lo que posteriormente reacciona con los receptores de las membranas celulares de la superficie (Dai et al., 1992).

Una capacidad de IGF-I in vitro complementaria a la mitogénica es la capacidad que tiene de inhibir la muerte celular o apoptosis de determinados tipos celulares. Los eritrocitos son el paradigma de esta función, estando programados previamente para su muerte celular. En las células progenitoras de eritrocitos, la interrupción de la ruptura de ADN por apoptosis debida a la privación de suero es suprimida por IGF-I y más probablemente por sus receptores. La observación de que la sobreexpresión de los receptores de IGF-I recombinante mitiga a las células hematopoyéticas de su dependencia de la interleukina 3 para el crecimiento y supervivencia soporta la hipótesis de que la inhibición de la apoptosis en estas células está mediada por el receptor de IGF-I (McCubrey et al., 1991; Valentinis et al., 1999; DiFalco et al., 2003).

IGF-I tiene también acciones sobre la diferenciación celular in vitro. Mioblastos así como osteoclastos, condrocitos, neuronas, adipocitos y osteoblastos se hallan entre los grupos celulares más estudiados donde se han visto efectos de diferenciación celular mediada por la acción in vitro de IGF-I (Hill et al., 1995; Philippou et al., 2007a; Philippou et al., 2007b;).

La secreción de muchas otras hormonas está regulada por IGF-I y por lo tanto IGF-I tiene una función de regulación celular in vitro. La granulosa del ovario así como las células de la teca son estimuladas por IGF-I (Giudice 1992). El timo, las células de Leydig así como los folículos de los tiroides son estimulados por IGF-I in vitro. Otra de las acciones reguladas por IGF-I e IGF-II a

través de sus receptores es la potenciación de la liberación de histamina por parte de los basófilos en respuesta a la inmunoglobulina E (Hirai et al., 1993). En la mayoría de las células con receptores IGF-I, IGF-I estimula la absorción de glucosa y de aminoácidos y en general la síntesis de proteína.

1.3.3 Mecanismos de actuación de IGF-I

Se han propuesto dos mecanismos de acción para la familia IGF-I. La primera fue la hipótesis del mecanismo endocrino que propone un efecto de la GH sobre el crecimiento mediado por IGF-I pero el descubrimiento de que IGF-I se produce en casi todos los tejidos corporales condujo a la siguiente hipótesis dual donde los niveles endocrinos de IGF-I y los producidos localmente eran respuestas de GH y responsables de los efectos de GH. Tampoco se excluyen la posibilidad de que GH tenga efectos independientes de IGF-I en los tejidos (Le Roith, et al, 2001).

La hipótesis dual no está apoyada por recientes estudios y parece claro actualmente que GH tiene efectos directos no mediados e independientes de IGF-I en células in vitro e in vivo pero el significado de estos descubrimientos no son evidentes (Le Roith, et al., 2001).

Por el momento la regulación somática del crecimiento postnatal incluye ambas acciones de IGF-I. Por una parte las acciones de IGF-I moduladas por los complejos ligados a GH y las acciones locales directas de GH, IGF-I y probablemente IGF-II. IGF-I tiene también acciones independientes de GH en el crecimiento embrional y acciones en el sistema reproductivo.

Actualmente las investigaciones están destinadas a demostrar que en lugar de actuar como promotor de crecimiento, IGF-I podría servir para disminuir la acción el eje somatotrópico (Le Roith, et al, 2001).

1.4 La familia IGFBP y sus acciones

1.4.1 Descripción y características de la familia IGFBP

La familia de las proteínas transportadoras de IGF, también llamada superfamilia (Hwa et al., 1999), fue descubierta, cuando se intentó la purificación de IGF-I del suero (Zapf et al., 1975; Hintz et al., 1977).

En humanos y roedores han sido clonadas y caracterizadas 6 tipos de IGFBP (Ballard et al., 1988)

creyéndose que esto es igual en todos los mamíferos. En la mayoría de las especies el nivel total de IGF-I en suero es mayor a 500 µg/L a lo largo de todo el desarrollo post-natal. Debido a que este nivel es muy superior al necesario para el estimular el crecimiento celular, la actividad de IGF-I debe ser controlada por vías independientes de los cambios en los niveles circulantes de IGF-I por lo que la acción de IGF-I está muy influenciada por la presencia de las diferentes IGFBP. Esto es evidente cuando se considera que la cantidad de IGF-I libre en suero y en otros líquidos biológicos es muy difícil de medir (Frystyk, 1994) y que está presente en pequeñas cantidades, menos del 0,4% del total.

La nomenclatura que se usó para nombrar las proteínas ligantes de IGF-I fue paralela a su descubrimiento cronológico. Así, IGFBP-1 fue la primera en ser purificada y secuenciada dada su abundancia en el líquido amniótico (Drop et al., 1984; Pova et al., 1984). Posteriormente fue secuenciada para determinar su perfil aminoacídico (Brewer et al., 1988; Lee et al., 1988). El clonaje y secuenciación de IGFBP-2 de la rata fue realizado poco después (Brown et al., 1989) al que siguieron las demás IGFBP que actualmente conocemos. (Martin et al., 1986; Wood et al., 1988; Shimasaki et al., 1991a). No obstante se han propuesto nuevas nomenclaturas para la familia de las proteínas IGFBP con el descubrimiento de proteínas relacionadas con IGFBP no propiamente las 6 originales, principalmente en humanos.

Durante los intentos de purificación se desarrollaron anticuerpos específicos frente a esas proteínas que permitieron su cuantificación en fluidos corporales con lo que se ha obtenido mucha información sobre su síntesis, secreción y distribución a través de los diferentes tejidos así como sobre las células sobre las que realizan sus acciones (Drop et al., 1984; Baxter et al., 1986; Baxter 1991)

IGF-I y II no actúan de forma aislada en la regulación del crecimiento y del metabolismo sino que forman parte de un complejo sistema que modula la acción de estos factores del crecimiento. La actividad de IGF-I y II está regulada no sólo por GH y por otros moduladores endocrinos que incrementan o disminuyen sus niveles locales y sistémicos sino que también están regulados por la presencia de IGFBP que ligan y transportan a IGF-I y II. IGFBP secuestran IGF-I y II del suero, prolongando su vida media en la circulación y hacen difícil el análisis de IGF-I y II. IGF-I y II tienen menor actividad cuando se encuentran ligadas a sus proteínas transportadoras. La familia de las IGFBP también es capaz de incrementar las acciones de IGF-I y II. Si por un lado IGFBP pueden incrementar la activación del receptor de IGF-I prolongando su vida media, por otro lado pueden reducirla inhibiendo competitivamente su unión a sus receptores. La competencia entre

IGFBP y el receptor de IGF por IGF disponible en el microambiente de los tejidos es un proceso dinámico. Las afinidades ligantes de IGFBP están alteradas en muchas ocasiones por fosforilación, proteólisis parcial y adhesiones celulares tanto a la superficie celular como a la matriz extracelular (Annunziata et al., 2011).

En casi todas las células y tejidos que han sido estudiados se ha encontrado al menos un tipo de IGFBP pero no existe un patrón común de distribución de las mismas y depende de cada tipo celular y tejido. Las células mesenquimatosas como los fibroblastos sintetizan IGFBP-3, 4 y 5 (Camacho-Hubner et al., 1992) mientras que las células epiteliales sintetizan más IGFBP-2 y 4 (Clemmons 1997). Igualmente en los diferentes órganos hay diferentes regiones donde las IGFBP son sintetizadas sin seguir ningún patrón. No se conoce la importancia de este hallazgo fisiológico.

Tras la entrada en la circulación de IGF-I ésta es ligada inmediatamente por las IGFBPs (Hwa et al., 1999). Los factores que controlan las concentraciones de IGFBP controlan de forma endocrina las acciones de IGF-I. Para comprender las acciones de IGF-I (y por ende de IGF-II) hay que entender cómo otras hormonas controlan la síntesis de IGFBP en el hígado y su secreción a la circulación.

La proteína más importante en el transporte de IGF-I e IGF-II en el suero es la denominada IGFBP-3 (Baxter et al., 1989). Se sintetiza en el hígado por las células no parenquimatosas (Takenaka et al., 1991) y también puede ser sintetizada por el endotelio (Booth et al., 1990). Dada su alta afinidad por IGF-I y II, entre 10 y 20 veces superior a la potencia con que lo hacen IGFBP-1 y 2, IGFBP-3 es responsable del transporte del 90 al 96% de IGF-I y II siendo su concentración molar igual a la suma de IGF-I y II (Clemmons 1997). La concentración sanguínea de IGFBP-3 está regulada por la edad, la nutrición y el medio hormonal (Rechler et al., 1990) siendo GH, el mayor factor hormonal que controla su concentración.

GH estimula directamente la síntesis de IGFBP-3 y los factores que disminuyen la acción de GH son los que más disminuyen así mismo la concentración de IGFBP-3 en sangre. IGF-I también ejerce un papel secundario en la concentración de IGFBP-3 en sangre a través del control de la unión al complejo IGFBP-3/IGF-I de una proteína ácido lábil, ALS, que estabiliza el mismo y prolonga su vida media siendo ésta de entre 12 a 16 h (Davis et al., 1989), (Hodgkinson et al., 1989), de 20 min para IGF-I libre y de 2 a 6 h para el complejo binario de IGFBP-3/IGF-I. IGF-I libre en sangre suprime los niveles de GH que son necesarios para mantener los niveles de ALS. Por lo tanto la administración de altas dosis de IGF-I da como resultado una disminución de los niveles de ALS y por ende una disminución de los niveles de IGFBP-3, resultando ello en unos niveles muy bajos

de IGF-I en plasma y una respuesta muy reducida y atenuada en términos de síntesis y balance proteico (Clemmons 1997). Mientras la mayor parte de la insulina circula de forma libre, más del 75% de IGF-I está en la circulación unida en el complejo terciario ALS/IGFBP-3/IGF-I (Firth et al., 2002).

La síntesis de ALS depende de GH pero no de IGF-I (Guler et al., 1989) siendo estimulada su producción en los hepatocitos (Dai et al., 1994a). Animales tratados con GH de forma intravenosa ven cómo el nivel de ALS es dos veces superior y el nivel de mRNA de ALS se incrementa 4 veces. Disminuciones intensas de insulina dan como resultado una disminución de la síntesis de ALS posiblemente debido a una reducción de IGF-I en suero vista en diabetes. Además niveles adecuados de insulina son necesarios para mantener una adecuada síntesis de ALS por parte de los hepatocitos (Dai et al., 1994b; Drop et al., 1984).

Otras hormonas también ejercen su influencia sobre la concentración de IGFBP-3. Así en mujeres que han pasado la menopausia su concentración es de un 40% menor a los niveles anteriores, niveles que vuelven a restablecerse tras una inyección de estrógenos. La tiroxina controla también los niveles de IGFBP-3 ya que tras su administración, los niveles de IGFBP-3 en casos de hipotiroidismo se restablecen. La insulina no parece tener un efecto directo aunque mejora la síntesis de IGFBP-3 como respuesta a la acción de GH (Rechler 1993; Adamo et al., 1992).

La coordinación de los niveles tanto de IGFBP-3 como de IGF-I es importante para mantener una adecuada reserva de ambas en la sangre. Cuando GH incrementa la síntesis de IGF-I también se produce un incremento de IGFBP-3 y de su afinidad por IGF-I. Como ya hemos comentado anteriormente este complejo IGFBP-3/IGF-I se estabiliza mediante una subunidad proteica ácido lábil formando el complejo ternario con un peso molecular de 150.000 Da.

IGFBP-2 es la segunda forma más abundante de las proteínas transportadoras de IGF en el suero pero a diferencia de IGFBP-3 su afinidad es mayor por IGF-II, cuatro veces mayor, que por IGF-I. Circula asociada o bien a IGF-I o a IGF-II formando un complejo binario (Zapf et al., 1990). Tiene un peso molecular entre 40 y 50 kDa. Se origina en los hepatocitos y la abundancia en el hígado de IGFBP-2 mRNA está regulado en paralelo a su concentración en plasma. GH regula así mismo su concentración de forma inversa. IGF-I es un potente estimulador de IGFBP-2 en suero (Camacho-Hubner et al., 1991) y también parece que lo sea IGF-II. El estado nutricional es un débil regulador de la expresión de IGFBP-2. La transcripción del gen de IGFBP-2 se incrementa en roedores sometidos a dieta y las concentraciones en plasma se incrementan en humanos sometidos a dieta

aunque el cambio es muy lento y se tardan 6 días para alcanzar los máximos niveles.

Parece ser que la ingesta de proteína regula mejor la concentración de IGFBP-2 que la restricción calórica y que restricciones severas de ingesta de proteína incrementan el nivel en plasma del orden del 30-40 %. Strauss et al., (1990) demostraron el incremento de IGFBP-2 mRNA a nivel hepático cuando había una restricción proteica pero este cambio era reversible cuando se normalizaban las ingestas de proteína. IGFBP-2 está también regulada por la tiroxina (Clemmons 1997).

La regulación de IGFBP-2 por parte de GH ha sido demostrada en animales de experimentación y también en cerdos. Ratas y cerdos hipofisectomizadas tienen incrementos del orden de 10 a 20 veces de su nivel de IGFBP-2 mRNA en el hígado y también en plasma (Ooi et al., 1992). Ratas con deficiencia en insulina tienen también incrementos de IGFBP-2 en plasma que vuelven a la normalidad una vez que se les vuelve a suministrar insulina. No obstante cuando encontramos personas con diabetes tipo I mal controlada no se encuentran niveles incrementados en plasma de IGFBP-2. La administración en humanos de GH da como resultado una disminución de IGFBP-2 en plasma (Clemmons et al., 1991) y este efecto parece que es independiente de la insulina dado que la administración de GH a pacientes con mutaciones en el receptor de GH no dan como resultado una disminución en el nivel de IGFBP-2 en plasma (Walker et al., 1991).

IGFBP-1 también se sintetiza en el hígado y está bajo control de la insulina aunque también GH y el cortisol intervienen en su regulación. El incremento postprandial de insulina da lugar a descensos en el nivel de IGFBP-1 de entre 4 a 5 veces su nivel normal en plasma (Busby et al., 1988a) debido a la supresión de su síntesis en el hígado. La abundancia de IGFBP-1 mRNA en el hígado disminuye cuando se administra insulina a animales bien normales o bien diabéticos. Los niveles de IGFBP-1 están también correlacionados con la sensibilidad a la insulina. En pacientes con diabetes tipo I los niveles de IGFBP-1 son elevados y disminuye tras la administración de insulina. Ayunos de 12 a 14 horas de duración dan como resultado incrementos en la concentración de IGFBP-1 de 6 veces su nivel normal (Clemmons et al., 1991).

GH suprime la excreción de IGFBP-1 y por tanto sus niveles son elevados en niños y en adultos con deficiencia en GH (Busby et al., 1988b; Seneviratne et al, 1990).

Además de la insulina, los glucocorticoides con acciones opuestas a la insulina tienen efecto contrario a la síntesis de IGFBP-1 resultando en incrementos de IGFBP-1 cuando se administran a animales (Luo et al., 1989; Ooi et al., 1990).

IGFBP-4 está relacionada con el control de los efectos tróficos de IGF-I y el metabolismo óseo. Cuando se encuentran bajas concentraciones de la hormona paratiroidea el nivel el suero de IGFBP-4 se encuentran elevados. También existe alguna correlación entre la exposición solar, el nivel de vitamina D y sus metabolitos y las concentraciones séricas de IGFBP-4 (Honda et al., 1996).

Los niveles de IGFBP-5 y 6 en suero son muy bajos por lo que existen pocos estudios publicados acerca del papel de ambas proteínas en la regulación de IGF-I pero la mayor secreción de IGFBP-5 es en el tejido conectivo y las características de esta proteína hacen que tenga muchas dificultades para entrar en el espacio vascular.

Las 6 IGFBP tienen alta afinidad por IGF-I y II siendo las número 3 y 5 las que mayor afinidad tienen, siendo incluso mayor su afinidad que la que muestra el receptor de IGF-I (Hwa et al., 1999). La implicación biológica es importante ya que previene la asociación de IGF-I con su receptor lo que las convierte en un importante reservorio de IGF-I. Por otra parte previenen la salida de IGF-I de los tejidos proveyendo un reservorio estable de IGF-I.

La afinidad de las IGFBP puede ser alterada por proteólisis, fosforilación y por la adherencia a la superficie de determinadas células o a la matriz extracelular y a ciertos glicosaminoglicanos (Clemmons 1997). Cada tipo celular sintetiza múltiples formas de IGFBP así como diferentes tipos de IGFBP-proteasas por lo que sus acciones son reguladas por cualquier forma de IGFBP, su abundancia, su afinidad por IGF-I y II y sus respectivas concentraciones y la actividad proteolítica.

1.4.2 Acciones de la familia IGFBP

Las acciones de las proteínas IGFBP están relacionadas con la alta afinidad que muestra por las IGF-I y II, mayor que las de sus receptores y actúan por lo tanto no sólo como proteínas transportadoras sino también incrementando la vida media de IGF-I y II y modulando su actividad y biodisponibilidad (Hwa et al., 1999). Los modos de acción pueden ser endocrino, paracrino y autocrino y pueden tener dos diferentes mecanismos de acción, estimulatorio o inhibitorio. Así mismo se les reconocen acciones independientes de las relacionadas con IGF-I y II siempre relacionadas con el crecimiento celular.

Las formas solubles de IGFBP atenúan la acción de IGF-I y las formas asociados a células pueden bien atenuar o incrementar la acción de IGF-I.

Las IGFBP circulantes tienen dos acciones fundamentales en el animal. El complejo IGFBP/IGF mantiene un pool de IGF en la circulación. La mayoría de IGF sistémica está ligado al complejo trinario de IGFBP-3 que no es capaz de cruzar el endotelio capilar y es un reservorio estable de IGF circulante. El complejo binario de IGFBP/IGF es capaz de cruzar el endotelio vascular y transporta así IGF ligada a los tejidos diana (Bar et al., 1990; Boes et al., 1992).

La actividad inhibitoria de la familia IGFBP es debida a la alta afinidad que éstas tienen por IGF previniendo su asociación con receptores celulares de superficie e inhibiendo su actividad de forma dosis dependiente (Ritvos et al., 1988; Gopinath et al., 1989; Lee et al., 1993) disminuyendo su actividad metabólica y mitogénica (Zapf 1995).

La actividad estimuladora de IGF por parte del complejo binario de IGFBP/IGF está relacionada con la asociación a la superficie celular del citado complejo. IGFBP-1 y 2 incrementan la actividad mitogénica de IGF-I en células musculares lisas porcinas (Camacho-Hubner, et al., 1991; Bourner et al., 1992).

Por lo tanto los efectos de la familia IGFBP dependen no sólo de la concentración y las relativas proporciones de IGFBP en los fluidos extracelulares sino también de la relativa distribución de IGFBP entre los fluidos extracelulares y las superficies celulares. Distintos mecanismos, aunque no bien definidos, permiten la expresión de la forma adecuada de IGFBP que bajo un determinado estado fisiológico puede bien estimular o bien inhibir la acción de IGF-I sobre el crecimiento (Hossner et al, 1997).

1.4.2.1 IGFBP-1

Un exceso de IGFBP-1 en presencia de IGF-I ó II resulta en una inhibición de sus acciones si IGFBP-1 está altamente fosforilada ó si se ha añadido a una concentración molar de al menos 4:1 y se inhiben la síntesis de proteína y la incorporación de glucosa (Ritvos et al., 1988; Okajima et al., 1993) . Estas no son situaciones metabólicas normales pero si estas situaciones in vitro pueden ocurrir in vivo, si existen altos niveles de IGFBP-1 in vivo el crecimiento puede verse alterado.

Si las concentraciones de IGFBP-1 están en rangos cercanos a los que fisiológicamente se encuentran, IGFBP-1 es una proteína que potencia la acción de IGF-1. Por ejemplo en un experimento donde se usaron formas no fosforiladas de IGFBP-1 los efectos de IGF-1 sobre tejido muscular liso aórtico porcino y sobre cultivos de fibroblastos humanos fueron incrementados 5,5

veces (Elgin et al., 1987; Busby Jr et al., 1988) . En esas condiciones la evacuación y degradación de IGF-I se ve inhibida y su afinidad por las IGFBP se acerca a las de su receptor permitiendo un equilibrio entre IGF-I y sus receptores.

Esta actividad de IGFBP-1 ha sido también observada en experimentos sobre heridas en piel de rata donde la reparación de la herida era entre 33 a 40% más elevada si la concentración molar de IGFBP-1 sobre IGF-I era 1:4 o mayor no observándose ningún efecto si se usaba IGFBP-1 fosforilada (Jyung et al., 1994). Más recientemente, este mismo efecto ha sido observado en heridas ulcerosas en la piel de conejos tanto normales como diabéticos (Tsuboi et al., 1995).

1.4.2.2 IGFBP-2

Las concentraciones séricas de IGFBP-2 están inducidas por IGF-I e inhibidas por GH por lo que el estudio de sus acciones sobre IGF-I son muy importantes. Se ha observado inhibición de la síntesis de ADN en fibroblastos de pollo y en células de la astrogliia en ratas (Rechler et al., 1990; Knauer et al., 1980). Inhibe también otras funciones de IGF-I como la degradación proteica (Ross et al., 1989) y puede inhibir completamente el efecto de IGF-I sobre la migración de las células musculares lisas (Gockerman et al., 1995) así como el efecto de IGF-I sobre la síntesis de colágeno (Feyen et al., 1991; Bourner et al., 1992).

1.4.2.3 IGFBP-3

Al ser su papel principal el transporte de IGF-I y II en suero, IGFBP-3 tiene un papel fundamental en la modulación endocrina de las acciones de IGF-I. El exceso de IGFBP-3 inhibe la regulación que IGF-I ejerce sobre las acciones parecidas a la insulina en células Balb/c 3T3 (Ritvos et al., 1988), inhibe también la síntesis de ADN como respuesta a IGF-I en fibroblastos en cultivo celular (Blat et al., 1989).

IGFBP-3 inhibe también las respuestas de IGF-I sobre la estimulación de la esteroidogénesis en las células de la granulosa en ratas (Bicsak et al., 1990), la síntesis de colágeno en osteoblastos de rata o de ratón (Schmid et al., 1991) y no tiene efectos sobre captación de insulina estimulada.

Dada su asociación a las superficies celulares, IGFBP-3 estimula la síntesis de ADN en fibroblastos humanos (De Mellow et al., 1988). Si se administra IGFBP-3 junto con IGF-I las heridas de ratas

aceleran su curación (Sommer et al., 1991) siendo la suma de sus acciones anticatabólicas (Sommer et al., 1991; Clark et al., 1993).

1.4.2.4 IGFBP-4

Esta es la única forma de las IGFBP que ha mostrado consistentemente la inhibición de las acciones de IGF-I siendo su principal función la protección celular contra la sobreestimulación que puede causar IGF-I y quizás incrementando su destrucción.

1.4.2.5 IGFBP-5 y 6

Los estudios sobre las funciones de estas dos IGFBP son muy limitados conociéndose que sus principales funciones son la inhibición de las acciones de IGF-I y en el caso de IGFBP-6 la inhibición de las acciones de IGF-II. IGFBP-5 se expresa de forma muy baja o nula en el hígado (Shimasaki et al., 1991b).

1.4.3 IGF-I en la producción porcina

Muchos estudios han indicado que el ayuno y la desnutrición incrementan las concentraciones de GH, disminuyen las concentraciones en plasma de IGF-I y alteran los niveles circulantes de IGFBP (Thissen et al., 1994).

Las respuestas del eje GH/IGF a los cambios en el status nutricional han sido estudiadas en la etapa de postdestete y en animales púberes. Existe poca información acerca de la regulación de los receptores de GH e IGF-I durante el periodo neonatal del cerdo lo que está asociado con numerosos cambios en el eje GH/IGF-I (Louveau et al., 2000) y durante momentos en los cuales el status nutricional puede ser clave para el desarrollo posterior (Louveau et al., 2002).

Louveau et al., en 2002 encontraron que el aumento del tamaño de camada da como resultado una reducción de la ganancia de peso circunstancia también mostrada en los estudios de Auldist et al., en 1998.

La disminución de la tasa de crecimiento fue asociada en los experimentos de Louveau et al., con

una disminución de los niveles plasmáticos de IGF-I. Estas observaciones están de acuerdo con la respuesta a la privación de alimento o a su restricción previamente observadas en otras especies incluyendo a la especie porcina y por lo tanto apoyan la relación entre el consumo de energía y los niveles circulantes de IGF-I en lechones (Louveau et al., 2000).

Ferguson et al., en 2003 demostraron un incremento en el número de pulsos de LH, un incremento en las concentraciones de estradiol en los fluidos foliculares y más oocitos que en metafase II en cerdas nulíparas alimentadas con una dieta de alta energía. Estos pulsos de LH son importantes para el estímulo del desarrollo folicular y también es probable que sean responsables del incremento observado en las concentraciones de estradiol observadas en el fluido folicular.

Las hormonas metabólicas como la insulina, IGF-I, la glucosa y la leptina son probablemente mediadores entre el status nutricional y los resultados reproductivos. Las concentraciones plasmáticas de IGF-I estaban disminuidas en la fase folicular y luteal del ciclo ovárico en nulíparas alimentadas con una dieta a nivel de mantenimiento (Ferguson et al., 2003). Este hallazgo es consistente con los estudios en los que concentraciones reducidas de IGF-I han sido asociadas con tasas de ovulación reducidas. IGF-I puede tener un efecto directo sobre el ovario ya que los lugares de fijación de IGF-I en las células de la granulosa de las cerdas se cree que amplifican los efectos de FSH a través del incremento de la esteridogénesis en el folículo (Ferguson et al., 2003).

En 1997 Schils Limited, una compañía holandesa dedicada al engorde de terneros conoció que unos investigadores franceses estudiaban las propiedades del género *Taxus* al cual pertenece el tejo. Estaban investigando esta planta en la búsqueda de una vacunación efectiva contra el cáncer. Entre otras propiedades, el tejo tiene un efecto claramente inhibitor del crecimiento celular. Estos investigadores consideraron que también sería posible encontrar el efecto contrario, es decir, encontrar extractos vegetales que estimularan el crecimiento celular (Janssens, 2007). Tras estas preliminares investigaciones encontraron un producto extraído mediante fermentación de la proteína de patata que en terneros de cebo tenía un interesante efecto: los terneros tenían mejor ingesta diaria y mostraban mejor digestibilidad. Su hipótesis de trabajo fue que este extracto incrementaba la producción de IGF-I a nivel hepático y que este nivel de IGF-I tenía un efecto positivo en otras funciones del sistema digestivo (Janssens, 2007).

Tras una serie de ensayos en cerdos con el extracto de proteína de patata fermentada PPF los resultados productivos de los cerdos y cerdas mejoraban (Frier, 2007, comunicación personal; Boerenbond et al., 2007).

El objetivo global de esta serie de estudios es conocer si la administración oral de un extracto de proteína de patata fermentada incrementa los resultados productivos en diferentes fases del ciclo de producción porcina y si este incremento es debido a un incremento de IGF-I a nivel plasmático.

1.5 Bibliografía

- Accili, D., Taylor, S.I. 1991. "Targeted Inactivation of the Insulin Receptor Gene in Mouse 3T3-L1 Fibroblasts via Homologous Recombination." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88 (11): 4708-4712.
- Adamo, M.L., Z.-M. Shao, F. Lanau, Jian Chyi Chen, D.R. Clemmons, C.T. Roberts Jr., D. LeRoith, and J.A. Fontana. 1992. "Insulin-like Growth factor-I (IGF-I) and Retinoic Acid Modulation of IGF- Binding Proteins (IGFBPs): IGFBP-2, -3, and -4 Gene Expression and Protein Secretion in a Breast Cancer Cell Line." *Endocrinology* 131 (4): 1858-1866.
- Aleman, A., Verhaar, H.J.J., De Haan, E.H.F., De Vries, W.R., Samson, M.M., Drent, M.L., Van Der Veen, E.A., Koppeschaar, H.P.F. 1999. "Insulin-like Growth factor-I and Cognitive Function in Healthy Older Men." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 84 (2): 471-475.
- Annunziata, M., R. Granata, and E. Ghigo. 2011. "The IGF System." *Acta Diabetologica* 48 (1): 1-9.
- Ballard, F.J., Ross, M., Upton, F.M., Francis, G.L. 1988. "Specific Binding of Insulin-like Growth Factors 1 and 2 to the Type 1 and Type 2 Receptors Respectively." *Biochemical Journal* 249 (3): 721-726.
- Bar, R.S., Boes, M., Dake, B.L., Sandra, A., Bayne, M., Cascieri, M., Booth, B.A. 1990. "Tissue Localization of Perfused Endothelial Cell IGF Binding Protein Is Markedly Altered by Association with IGF-I." *Endocrinology* 127 (6): 3243-3245.
- Baserga, R., and R. Rubin. 1993. "Cell Cycle and Growth Control." *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression* 3 (1): 47.
- Baxter, R.C. 1991. "Physiological Roles of IGF Binding Proteins." *Modern Concepts of Insulin-Like Growth Factors*: 371-380.
- Baxter, R.C., and J.L. Martin. 1986. "Radioimmunoassay of Growth Hormone-dependent Insulin like Growth Factor Binding Protein in Human Plasma." *Journal of Clinical Investigation* 78 (6): 1504-1512.
- Baxter, R. C., y J. L. Martin. 1989. «Binding Proteins for the Insulin-like Growth Factors: Structure, Regulation and Function.» *Progress in Growth Factor Research* 1 (1): 49-68.
- Behringer, R R, T M Lewin, C J Quaife, R D Palmiter, R L Brinster, and A J D'Ercole. 1990. "Expression of Insulin-like Growth Factor I Stimulates Normal Somatic Growth in Growth

Hormone-deficient Transgenic Mice.” *Endocrinology* 127 (3) (September): 1033-1040.

- Behringer, R R, L S Mathews, R D Palmiter, and R L Brinster. 1988. “Dwarf Mice Produced by Genetic Ablation of Growth Hormone-expressing Cells.” *Genes & Development* 2 (4): 453 - 461. doi:10.1101/gad.2.4.453.
- Belfiore, A., Frasca, F., Pandini, G., Sciacca, L., Vigneri, R. 2009. “Insulin Receptor Isoforms and Insulin Receptor/insulin-like Growth Factor Receptor Hybrids in Physiology and Disease.” *Endocrine Reviews* 30 (6): 586-623.
- Berelowitz, M., Szabo, M., Frohman, L.A. 1981. “Somatomedin-C Mediates Growth Hormone Negative Feedback by Effects on Both the Hypothalamus and the Pituitary.” *Science* 212 (4500): 1279-1281.
- Bicsak, T.A., M. Shimonaka, M. Malkowski, and N. Ling. 1990. “Insulin-like Growth Factor-binding Protein (IGF-BP) Inhibition of Granulosa Cell Function: Effect on Cyclic Adenosine 3',5'-monophosphate, Deoxyribonucleic Acid Synthesis, and Comparison with the Effect of an IGF-I Antibody.” *Endocrinology* 126 (4): 2184-2189.
- Blat, C., J. Delbe, J. Villaudy, G. Chatelain, A. Golde, and L. Harel. 1989. “Inhibitory Diffusible Factor 45 Bifunctional Activity. As a Cell Growth Inhibitor and as an Insulin-like Growth Factor I-binding Protein.” *Journal of Biological Chemistry* 264 (21): 12449-12454.
- Boes, M., Booth, B.A., Sandra, A., Dake, B.L., Bergold, A., Bar, R.S. 1992. “Insulin-like Growth Factor Binding Protein (IGFBP)4 Accounts for the Connective Tissue Distribution of Endothelial Cell IGFBPs Perfused Through the Isolated Heart.” *Endocrinology* 131 (1): 327-330.
- Booth, B.A., R.S. Bar, M. Boes, B.L. Dake, M. Bayne, and M. Cascieri. 1990. “Intrinsic Bioactivity of Insulin-like Growth Factor-binding Proteins from Vascular Endothelial Cells.” *Endocrinology* 127 (6): 2630-2638.
- Boulware, S. D., W. V. Tamborlane, L. S. Matthews, and R. S. Sherwin. 1992. “Diverse Effects of Insulin-like Growth Factor I on Glucose, Lipid, and Amino Acid Metabolism.” *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism* 262 (1): E130 -E133.
- Bourner, M.J., W.H. Busby Jr., N.R. Siegel, G.G. Krivi, R.H. McCusker, and D.R. Clemmons. 1992. “Cloning and Sequence Determination of Bovine Insulin-like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP-2): Comparison of Its Structural and Functional Properties with IGFBP-1.” *Journal of Cellular Biochemistry* 48 (2): 215-226.
- Bourner, M.J., Busby Jr., W.H., Siegel, N.R., Krivi, G.G., McCusker, R.H., Clemmons, D.R. 1992. “Cloning and Sequence Determination of Bovine Insulin-like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP-2): Comparison of Its Structural and Functional Properties with IGFBP-1.” *Journal of Cellular Biochemistry* 48 (2): 215-226.
- Brewer, M.T., G.L. Stetler, C.H. Squires, R.C. Thompson, W.H. Busby, and D.R. Clemmons. 1988. “Cloning, Characterization, and Expression of a Human Insulin-like Growth Factor Binding Protein.” *Biochemical and Biophysical Research Communications* 152 (3): 1289-1297.

- Brown, A.L., L. Chiariotti, C.C. Orlowski, T. Mehlman, W.H. Burgess, E.J. Ackerman, C.B. Bruni, and M.M. Rechler. 1989. "Nucleotide Sequence and Expression of a cDNA Clone Encoding a Fetal Rat Binding Protein for Insulin-like Growth Factors." *Journal of Biological Chemistry* 264 (9): 5148-5154.
- Busby Jr., W.H., D.G. Klapper, and D.R. Clemmons. 1988. "Purification of a 31,000-dalton Insulin-like Growth Factor Binding Protein from Human Amniotic Fluid. Isolation of Two Forms with Different Biologic Actions." *Journal of Biological Chemistry* 263 (28): 14203-14210.
- Busby, W.H., D.K. Snyder, and D.R. Clemmons. 1988a. "Radioimmunoassay of a 26,000-dalton Plasma Insulin-like Growth Factor-binding Protein: Control by Nutritional Variables." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 67 (6): 1225-1230.
- Busby, W.H., D.K. Snyder, y D.R. Clemmons. 1988. «Radioimmunoassay of a 26,000-dalton plasma insulin-like growth factor-binding protein: Control by nutritional variables.» *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 67 (6): 1225-30.
- Camacho-Hubner, C., W.H. Busby Jr., R.H. McCusker, G. Wright, and D.R. Clemmons. 1992. "Identification of the Forms of Insulin-like Growth Factor-binding Proteins Produced by Human Fibroblasts and the Mechanisms That Regulate Their Secretion." *Journal of Biological Chemistry* 267 (17): 11949-11956.
- Camacho-Hubner, C., D.R. Clemmons, and A.J. D'Ercole. 1991. "Regulation of Insulin-like Growth Factor (IGF) Binding Proteins in Transgenic Mice with Altered Expression of Growth Hormone and IGF-I." *Endocrinology* 129 (3): 1201-1206.
- Camacho-Hubner, C., McCusker, R.H., Clemmons, D.R. 1991. "Secretion and Biological Actions of Insulin-like Growth Factor Binding Proteins in Two Human Tumor-derived Cell Lines in Vitro." *Journal of Cellular Physiology* 148 (2): 281-289.
- Carro, E., Trejo, J.L., Gomez-Isla, T., LeRoith, D., Torres-Aleman, I. 2002. "Serum Insulin-like Growth Factor I Regulates Brain Amyloid- β Levels." *Nature Medicine* 8 (12): 1390-1397.
- Castro-Alamancos, M A, and I Torres-Aleman. 1993. "Long-term Depression of Glutamate-induced Gamma-aminobutyric Acid Release in Cerebellum by Insulin-like Growth Factor I." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 (15) (August 1): 7386-7390.
- Clark, P.G., D. Mortensen, D. Reigsupreder, M. Mohler, T. Etchevery, and V. Mukkev. 1993. "Recombinant Human Insulin Like Growth Factor Binding Protein 3: Effects on the Glycine and Growth Promotions Activities of Rh Igf-i in the Rat." *Growth Regulations* 3: 46-50.
- Clemmons, D. R. 1997. "Insulin-like Growth Factor Binding Proteins and Their Role in Controlling IGF Actions." *Cytokine and Growth Factor Reviews* 8 (1): 45-62.
- Clemmons, D.R., D.K. Snyder, and W.H. Busby Jr. 1991. "Variables Controlling the Secretion of Insulin-like Growth Factor Binding Protein-2 in Normal Human Subjects." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 73 (4): 727-733.
- Colao, A. 2008. "The GH-IGF-I Axis and the Cardiovascular System: Clinical Implications."

Clinical Endocrinology 69 (3): 347-358.

- Chao, M. V. 1992. "Growth Factor Signaling: Where Is the Specificity?" *Cell* 68 (6): 995-997.
- Chuang, L. -M, M. G. Myers Jr, G. A. Seidner, M. J. Birnbaum, M. F. White, and C. R. Kahn. 1993. "Insulin Receptor Substrate 1 Mediates Insulin and Insulin-like Growth Factor I-stimulated Maturation of *Xenopus* Oocytes." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 (11): 5172-5175.
- D'Ercole, A J. 1993. "Expression of Insulin-like Growth factor-I in Transgenic Mice." *Annals of the New York Academy of Sciences* 692 (August 27): 149-160.
- Dai, J., and R.C. Baxter. 1994a. "Regulation in Vivo of the Acid-labile Subunit of the Rat Serum Insulin- Like Growth Factor-binding Protein Complex." *Endocrinology* 135 (6): 2335-2341.
- Dai, Z, A D Stiles, B Moats-Staats, J J Van Wyk, and A J D'Ercole. 1992. "Interaction of Secreted Insulin-like Growth factor-I (IGF-I) with Cell Surface Receptors Is the Dominant Mechanism of IGF-I's Autocrine Actions." *Journal of Biological Chemistry* 267 (27): 19565-19571.
- Daughaday, W. H., and P. Rotwein. 1989. "Insulin-like Growth Factors I and II. Peptide, Messenger Ribonucleic Acid and Gene Structures, Serum, and Tissue Concentrations." *Endocrine Reviews* 10 (1): 68-91.
- Daughaday, W. H., and W. H. Salmon. 1999. "Historical Perspective." In , ed. R. G Rosenfeld and C. T Roberts, 1. *The IGF System. Molecular Biology, Physiology and Clinical Applications.* New Jersey: Humana Press Inc.
- Daughaday, W. H., K. Hall, M. S. Raben, W. D. Salmon Jr, J. Leo Van Den Brande, and J. J. Van Wyk. 1972. "Somatomedin: Proposed Designation for Sulphation Factor [7]." *Nature* 235 (5333): 107.
- Davis, S.R., Hodgkinson, S.C., Moore, L.G., Gluckman, P.D. 1989. "Improved Estimates of Clearance of ¹³¹I-labelled Insulin-like Growth factor-I Carrier Protein Complexes from Blood Plasma of Sheep." *Journal of Endocrinology* 123 (3): 469-475.
- DiFalco, Marcos R., Suhad Ali, and Luis Fernando Congote. 2003. "The Improved Survival of Hematopoietic Cells Cultured with a Fusion Protein of Insulin-like Growth Factor II (IGF-II) and Interleukin 3 (IL-3) Is Associated with Increases in Bcl-xL and Phosphatidylinositol-3 Kinase Activity." *Journal of Leukocyte Biology* 73 (2) (February 1): 297 -305. doi:10.1189/jlb.0802396.
- Drop, S.L.S., D.J. Kortleve, and H.J. Guyda. 1984. "Isolation of a Somatomedin-binding Protein from Preterm Amniotic Fluid. Development of a Radioimmunoassay." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 59 (5): 899-907.
- Drop, S.L.S., D.J. Kortleve, H.J. Guyda, and B.I. Posner. 1984. "Immunoassay of a Somatomedin-binding Protein from Human Amniotic Fluid: Levels in Fetal, Neonatal, and Adult Sera." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 59 (5): 908-915.

- Elgin, R.G., W.H. Busby Jr., and D.R. Clemmons. 1987. "An Insulin-like Growth Factor (IGF) Binding Protein Enhances the Biologic Response to IGF-I." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84 (10): 3254-3258.
- Federici, M., Porzio, O., Zucaro, L., Fusco, A., Borboni, P., Lauro, D., Sesti, G. 1997. "Distribution of Insulin/insulin-like Growth factor-I Hybrid Receptors in Human Tissues." *Molecular and Cellular Endocrinology* 129 (2): 121-126.
- Feyen, J.H.M., D.B. Evans, C. Binkert, G.F. Heinrich, S. Geisse, and H.P. Kocher. 1991. "Recombinant Human [Cys281]insulin-like Growth Factor-binding Protein 2 Inhibits Both Basal and Insulin-like Growth Factor I-stimulated Proliferation and Collagen Synthesis in Fetal Rat Calvariae." *Journal of Biological Chemistry* 266 (29): 19469-19474.
- Firth, S. M., and R. C. Baxter. 2002. "Cellular Actions of the Insulin-like Growth Factor Binding Proteins." *Endocrine Reviews* 23 (6): 824-854.
- Foster, C. M., N. Hashimoto, J. F. Randolph Jr, and I. Z. Beitins. 1995. "Comparison of Growth Hormone and Insulin-like Growth factor-I Regulation of Estradiol and Progesterone Production in Human Luteinized Granulosa Cells." *Pediatric Research* 38 (5): 763-767.
- Frattali, A. L., and J. E. Pessin. 1993. "Relationship Between α Subunit Ligand Occupancy and β Subunit Autophosphorylation in Insulin/insulin-like Growth Factor-1 Hybrid Receptors." *Journal of Biological Chemistry* 268 (10): 7393-7400.
- Froesch, E. R., W. A. Müller, H. Bürgi, M. Waldvogel, and A. Labhart. 1966. "Non-suppressible Insulin-like Activity of Human Serum. II. Biological Properties of Plasma Extracts with Non-suppressible Insulin-like Activity." *BBA - General Subjects* 121 (2): 360-374.
- Frystyk, J. 1994. "Free Insulin-like Growth Factors (IGF-I and IGF-II) in Human Serum." *FEBS Letters* 348 (2): 185-191.
- Giudice, L. C. 1992. "Insulin-like Growth Factors and Ovarian Follicular Development." *Endocrine Research* 18 (4): 641-669.
- Gockerman, A., T. Prevette, J.I. Jones, and D.R. Clemmons. 1995. "Insulin-like Growth Factor (IGF)-binding Proteins Inhibit the Smooth Muscle Cell Migration Responses to IGF-I and IGF-II." *Endocrinology* 136 (10): 4168-4173.
- Gopinath, R., Walton, P.E., Etherton, T.D. 1989. "An Acid-stable Insulin-like Growth Factor (IGF)-binding Protein from Pig Serum Inhibits Binding of IGF-I and IGF-II to Vascular Endothelial Cells." *Journal of Endocrinology* 120 (2): 231-236.
- Green, H., Morikawa, M., Nixon, T. 1985. "A Dual Effector Theory of Growth-hormone Action." *Differentiation* 29 (3): 195-198.
- Guler, H P, C Schmid, J Zapf, and E R Froesch. 1989. "Effects of Recombinant Insulin-like Growth Factor I on Insulin Secretion and Renal Function in Normal Human Subjects." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 86 (8) (April): 2868-2872.
- Guler, H.-P., J. Zapf, C. Schmid, and E.R. Froesch. 1989. "Insulin-like Growth Factors I and II in

- Healthy Man. Estimations of Half-lives and Production Rates.” *Acta Endocrinologica* 121 (6): 753-758.
- Han, V.K.M., Lund, P.K., Lee, D.C., D’Ercole, A.J. 1988. “Expression of Somatomedin/insulin-like Growth Factor Messenger Ribonucleic Acids in the Human Fetus: Identification, Characterization, and Tissue Distribution.” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 66 (2): 422-429.
- Hardingham, T. E., and A. J. Fosang. 1992. “Proteoglycans: Many Forms and Many Functions.” *FASEB Journal* 6 (3): 861-870.
- Hill, P A, J J Reynolds, and M C Meikle. 1995. “Osteoblasts Mediate Insulin-like Growth factor-I and -II Stimulation of Osteoclast Formation and Function.” *Endocrinology* 136 (1): 124 - 131. doi:10.1210/en.136.1.124.
- Hintz, R. L., D. R. Clemmons, L. E. Underwood, and J. J. Van Wyk. 1972. “Competitive Binding of Somatomedin to the Insulin Receptors of Adipocytes, Chondrocytes, and Liver Membranes.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 69 (8): 2351-2353.
- Hintz, R.L., and F. Liu. 1977. “Demonstration of Specific Plasma Protein Binding Sites for Somatomedin.” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 45 (5): 988-995.
- Hirai, K, M Miyamasu, M Yamaguchi, K Nakajima, T Ohtoshi, T Koshino, T Takaishi, Y Morita, and K Ito. 1993. “Modulation of Human Basophil Histamine Release by Insulin-like Growth Factors.” *The Journal of Immunology* 150 (4) (February 15): 1503 -1508.
- Hirschberg, Raimund, Giuliano Brunori, Joel D Kopple, and Hans-Peter Guler. 1993. “Effects of Insulin-like Growth Factor I on Renal Function in Normal Men.” *Kidney Int* 43 (2) (February): 387-397.
- Hodgkinson, S. C., J. R. Napier, G. S. G. Spencer, and J. J. Bass. 1994. “Glycosaminoglycan Binding Characteristics of the Insulin-like Growth Factor-binding Proteins.” *Journal of Molecular Endocrinology* 13 (1): 105-112.
- Hodgkinson, S.C., S.R. Davis, L.G. Moore, H.V. Henderson, and P.D. Gluckman. 1989. “Metabolic Clearance of Insulin-like Growth factor-II in Sheep.” *Journal of Endocrinology* 123 (3): 461-468.
- Honda, Y., E.C. Landale, D.D. Strong, D.J. Baylink, and S. Mohan. 1996. “Recombinant Synthesis of Insulin-like Growth Factor-binding Protein-4 (IGFBP-4): Development, Validation, and Application of a Radioimmunoassay for IGFBP-4 in Human Serum and Other Biological Fluids.” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 81 (4): 1389-1396.
- Hossner, K. L., R. H. McCusker, and M. V. Dodson. 1997. “Insulin-like Growth Factors and Their Binding Proteins in Domestic Animals.” *Animal Science* 64 (1): 1-15.
- Humbert, S., Bryson, E.A., Cordelières, F.P., Connors, N.C., Datta, S.R., Finkbeiner, S., Greenberg, M.E., Saudou, F. 2002. “The IGF-1/Akt Pathway Is Neuroprotective in Huntington’s Disease and Involves Huntingtin Phosphorylation by Akt.” *Developmental Cell* 2 (6): 831-

837.

- Hwa, V., Y. Oh, and R. G. Rosenfeld. 1999. "The Insulin-like Growth Factor-binding Protein (IGFBP) Superfamily." *Endocrine Reviews* 20 (6): 761-787.
- Isaksson, O.G.P., Jansson, J.O., Gause, I.A.M. 1982. "Growth Hormone Stimulates Longitudinal Bone Growth Directly." *Science* 216 (4551): 1237-1239.
- Jacob, R., E. Barrett, G. Plewe, K. D. Fagin, and R. S. Sherwin. 1989. "Acute Effects of Insulin-like Growth Factor I on Glucose and Amino Acid Metabolism in the Awake Fasted Rat. Comparison with Insulin." *Journal of Clinical Investigation* 83 (5): 1717-1723.
- Jones, J. I., and D. R. Clemmons. 1995a. "Insulin-like Growth Factors and Their Binding Proteins: Biological Actions." *Endocrine Reviews* 16 (1): 3-34.
- Jyung, R.W., T. Mustoe, W.H. Busby, and D.R. Clemmons. 1994. "Increased Wound Breaking Strength Induced by Insulin-like Growth factor-I in Combination with IGF Binding Protein-1." *Surgery* 115: 223-239.
- Kaplan, S. A., and P. Cohen. 2007. "Review: The Somatomedin Hypothesis 2007: 50 Years Later." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 92 (12): 4529-4535.
- Kasuga, M., Fujita Yamaguchi, Y., Blithe, D.L. 1983. "Characterization of the Insulin Receptor Kinase Purified from Human Placental Membranes." *Journal of Biological Chemistry* 258 (18): 10973-10980.
- Kato, H., T. N. Faria, B. Stannard, C. T. Roberts Jr, and D. LeRoith. 1993. "Role of Tyrosine Kinase Activity in Signal Transduction by the Insulin- Like Growth factor-I (IGF-I) Receptor. Characterization of Kinase-deficient IGF-I Receptors and the Action of an IGF-I-mimetic Antibody (α IR-3)." *Journal of Biological Chemistry* 268 (4): 2655-2661.
- Klapper, D.G., Svoboda, M.E., Van Wyk, J.J. 1983. "Sequence Analysis of somatomedin-C: Confirmation of Identify with Insulin-like Growth Factor I." *Endocrinology* 112 (6): 2215-2217.
- Knauer, D.J., and G.L. Smith. 1980. "Inhibition of Biological Activity of Multiplication-stimulating Activity by Binding to Its Carrier Protein." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 77 (12 II): 7252-7256.
- Kupfer, S R, L E Underwood, R C Baxter, and D R Clemmons. 1993. "Enhancement of the Anabolic Effects of Growth Hormone and Insulin-like Growth Factor I by Use of Both Agents Simultaneously." *Journal of Clinical Investigation* 91 (2) (February): 391-396.
- Laron, Z., S. Anin, Y. Klipper-Aurbach, and B. Klinger. 1992. "Effects of Insulin-like Growth Factor on Linear Growth, Head Circumference, and Body Fat in Patients with Laron-type Dwarfism." *Lancet* 339 (8804): 1258-1261.
- Lee, P.D.K., Conover, C.A., Powell, D.R. 1993. "Regulation and Function of Insulin-like Growth Factor-binding Protein-1." *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 204 (1): 4-29.

- Lee, Y.-L., R.L. Hintz, P.M. James, P.D.K. Lee, J.E. Shively, and D.R. Powell. 1988. "Insulin-like Growth Factor (IGF) Binding Protein Complementary Deoxyribonucleic Acid from Human HEP G2 Hepatoma Cells: Predicted Protein Sequence Suggests an IGF Binding Domain Different from Those of the IGF-I and IGF-II Receptors." *Molecular Endocrinology* 2 (5): 401-411.
- Liu, J P, J Baker, A S Perkins, E J Robertson, and A Efstratiadis. 1993. "Mice Carrying Null Mutations of the Genes Encoding Insulin-like Growth Factor I (Igf-1) and Type 1 IGF Receptor (Igf1r)." *Cell* 75 (1) (October 8): 59-72.
- Luo, J., and L.J. Murphy. 1989. "Dexamethasone Inhibits Growth Hormone Induction of Insulin-like Growth factor-I (IGF-I) Messenger Ribonucleic Acid (mRNA) in Hypophysectomized Rats and Reduces IGF-I mRNA Abundance in the Intact Rat." *Endocrinology* 125 (1): 165-171.
- Llorens-Martín, M., Torres-Alemán, I., Trejo, J.L. 2009. "Mechanisms Mediating Brain Plasticity: IGF1 and Adult Hippocampal Neurogenesis." *Neuroscientist* 15 (2): 134-148.
- Marshall, R. N., L. E. Underwood, and S. J. Voina. 1974. "Characterization of the Insulin and Somatomedin C Receptors in Human Placental Cell Membranes." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 39 (2): 283-292.
- Martin, J.L., and R.C. Baxter. 1986. "Insulin-like Growth Factor-binding Protein from Human Plasma. Purification and Characterization." *Journal of Biological Chemistry* 261 (19): 8754-8760.
- Massague, J., and M. P. Czech. 1982. "The Subunit Structures of Two Distinct Receptors for Insulin-like Growth Factors I and II and Their Relationship to the Insulin Receptor." *Journal of Biological Chemistry* 257 (9): 5038-5045.
- Mathews, L S, R E Hammer, R L Brinster, and R D Palmiter. 1988. "Expression of Insulin-like Growth Factor I in Transgenic Mice with Elevated Levels of Growth Hormone Is Correlated with Growth." *Endocrinology* 123 (1) (July): 433-437.
- McClain, D. A., H. Maegawa, R. S. Thies, and J. M. Olefsky. 1990. "Dissection of the Growth Versus Metabolic Effects of Insulin and Insulin-like Growth factor-I in Transfected Cells Expressing Kinase-defective Human Insulin Receptors." *Journal of Biological Chemistry* 265 (3): 1678-1682.
- McCubrey, JA, LS Steelman, MW Mayo, PA Algate, RA Dellow, and M Kaleko. 1991. "Growth-promoting Effects of Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) on Hematopoietic Cells: Overexpression of Introduced IGF-1 Receptor Abrogates Interleukin-3 Dependency of Murine Factor-dependent Cells by a Ligand-dependent Mechanism." *Blood* 78 (4): 921 - 929.
- Megyesi, K., C. R. Kahn, and J. Roth. 1975. "The NSILA-s Receptor in Liver Plasma Membranes. Characterization and Comparison with the Insulin Receptor." *Journal of Biological Chemistry* 250 (23): 8990-8996.

- De Mellow, J.S.M., and R.C. Baxter. 1988. "Growth Hormone-dependent Insulin-like Growth Factor (IGF) Binding Protein Both Inhibits and Potentiates IGF-I-stimulated DNA Synthesis in Human Skin Fibroblasts." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 156 (1): 199-204.
- Miell, J P, A M Taylor, J Jones, C R Buchanan, J Rennie, R Sherwood, R Leicester, and R J Ross. 1992. "Administration of Human Recombinant Insulin-like Growth factor-I to Patients Following Major Gastrointestinal Surgery." *Clinical Endocrinology* 37 (6) (December): 542-551.
- Nakae, J., Kido, Y., Accili, D. 2001. "Distinct and Overlapping Functions of Insulin and IGF-I Receptors." *Endocrine Reviews* 22 (6): 818-835.
- O'Connor, J. C., R. H. McCusker, K. Strle, R. W. Johnson, R. Dantzer, and K. W. Kelley. 2008. "Regulation of IGF-I Function by Proinflammatory Cytokines: At the Interface of Immunology and Endocrinology." *Cellular Immunology* 252 (1-2): 91-110.
- O'Sullivan, U., P.D. Gluckman, B.H. Breier, S. Woodall, R.A. Siddiqui, and S.N. McCutcheon. 1989. "Insulin-like Growth factor-I (IGF-I) in Mice Reduces Weight Loss During Starvation." *Endocrinology* 125 (5): 2793-2794.
- Okajima, T., M. Iwashita, Y. Takeda, S. Sakamoto, T. Tanabe, T. Yasuda, and R.G. Rosenfeld. 1993. "Inhibitory Effects of Insulin-like Growth Factor (IGF)-binding Proteins-1 and -3 on IGF-activated Glucose Consumption in Mouse BALB/c 3T3 Fibroblasts." *Journal of Endocrinology* 136 (3): 457-470.
- Olanrewaju, H., L. Patel, and E. R. Seidel. 1992. "Trophic Action of Local Intraileal Infusion of Insulin-like Growth Factor I: Polyamine Dependence." *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism* 263 (2): E282 -E286.
- Ooi, G.T., C.C. Orłowski, A.L. Brown, R.E. Becker, T.G. Unterman, and M.M. Rechler. 1990. "Different Tissue Distribution and Hormonal Regulation of Messenger RNAs Encoding Rat Insulin-like Growth Factor-binding Proteins-1 and -2." *Molecular Endocrinology* 4 (2): 321-328.
- Ooi, G.T., L.Y.-H. Tseng, Minh Quoc Tran, and M.M. Rechler. 1992. "Insulin Rapidly Decreases Insulin-like Growth Factor-binding Protein-1 Gene Transcription in Streptozotocin-diabetic Rats." *Molecular Endocrinology* 6 (12): 2219-2228.
- Philippou, A., A. Halapas, M. Maridaki, and M. Koutsilieris. 2007. "Type I Insulin-like Growth Factor Receptor Signaling in Skeletal Muscle Regeneration and Hypertrophy." *J Musculoskelet Neuronal Interact* 7 (3): 208-18.
- Philippou, A., M. Maridaki, A. Halapas, and M. Koutsilieris. 2007. "The Role of the Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1) in Skeletal Muscle Physiology." *In Vivo* 21 (1): 45-54.
- Pollak, Michael N., Eva S. Schernhammer, and Susan E. Hankinson. 2004. "Insulin-like Growth Factors and Neoplasia." *Nat Rev Cancer* 4 (7) (July): 505-518. doi:10.1038/nrc1387.
- Povoa, G., G. Enberg, H. Jornvall, and K. Hall. 1984. "Isolation and Characterization of a

Somatomedin-binding Protein from Mid-term Human Amniotic Fluid.” *European Journal of Biochemistry* 144 (2): 199-204.

- Pratipanawatr, Thongchai, Wilailak Pratipanawatr, Clifford Rosen, Rachele Berria, Mandeep Bajaj, Kenneth Cusi, Lawrence Mandarino, Sangeta Kashyap, Renata Belfort, and Ralph A. DeFronzo. 2002. “Effect of IGF-I on FFA and Glucose Metabolism in Control and Type 2 Diabetic Subjects.” *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism* 282 (6) (June 1): E1360 -E1368. doi:10.1152/ajpendo.00335.2001.
- Rechler, M. M., J. Zapf, and S. P. Nissley. 1980. “Interactions of Insulin-like Growth Factors I and II and Multiplication-stimulating Activity with Receptors and Serum Carrier Proteins.” *Endocrinology* 107 (5): 1451-1459.
- Rechler, M.M. 1993. *Insulin-like Growth Factor Binding Proteins*. Vol. 47.
<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0027357339&partnerID=40&md5=ad35fb7ffb299b6e0d8a463270bb0ff5>.
- Rechler, M.M., and S.P. Nissley. 1990. “Insulin-like Growth Factors.” *Peptide Growth Factors and Their Receptors* (1): 263-367.
- Rinderknecht, E., and R. E. Humbel. 1978a. “Primary Structure of Human Insulin-like Growth Factor II.” *FEBS Letters* 89 (2): 283-286.
- Rinderknecht, E., Humbel, R.E. 1978. “The Amino Acid Sequence of Human Insulin-like Growth Factor I and Its Structural Homology with Proinsulin.” *Journal of Biological Chemistry* 253 (8): 2769-2776.
- Ritvos, O., T. Ranta, J. Jalkanen, A.-M. Suikkari, R. Voutilainen, H. Bohn, and E.-M. Rutanen. 1988. “Insulin-like Growth Factor (IGF) Binding Protein from Human Decidua Inhibits the Binding and Biological Action of IGF-I in Cultured Choriocarcinoma Cells.” *Endocrinology* 122 (5): 2150-2157.
- Ritvos, O., Ranta, T., Jalkanen, J., Suikkari, A.-M., Voutilainen, R., Bohn, H., Rutanen, E.-M. 1988. “Insulin-like Growth Factor (IGF) Binding Protein from Human Decidua Inhibits the Binding and Biological Action of IGF-I in Cultured Choriocarcinoma Cells.” *Endocrinology* 122 (5): 2150-2157.
- Roberts Jr., C.T., Lasky, S.R., Lowe Jr., W.L., Seaman, W.T., LeRoith, D. 1987. “Molecular Cloning of Rat Insulin-like Growth Factor I Complementary Deoxyribonucleic Acids: Differential Messenger Ribonucleic Acid Processing and Regulation by Growth Hormone in Extrahepatic Tissues.” *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 1 (3): 243-248.
- Roith, Le D. 2001. “The Somatomedin Hypothesis: 2001.” *Endocrine Reviews* 22 (1) (February): 53-74. doi:10.1210/er.22.1.53.
- Roith, Le, D. 2003. “The Insulin-like Growth Factor System.” *Experimental Diabetes Research* 4 (4): 205-212.
- Rosenfeld, Ron G., and Charles T. Roberts. 1999. *The Igf System: Molecular Biology, Physiology, and Clinical Applications*. 1st ed. Humana Press.

- Ross, M., G.L. Francis, L. Szabo, J.C. Wallace, and F.J. Ballard. 1989. "Insulin-like Growth Factor (IGF)-binding Proteins Inhibit the Biological Activities of IGF-1 and IGF-2 but Not des-(1-3)-IGF-1." *Biochemical Journal* 258 (1): 267-272.
- Rotwein, P., Pollock, K.M., Didier, D.K., Krivi, G.G. 1986. "Organization and Sequence of the Human Insulin-like Growth Factor I Gene. Alternative RNA Processing Produces Two Insulin-like Growth Factor I Precursor Peptides." *Journal of Biological Chemistry* 261 (11): 4828-4832.
- Rubin, C.S., Hirsch, A., Fung, C., Rosen, O.M. 1978. "Development of Hormone Receptors and Hormonal Responsiveness in Vitro. Insulin Receptors and Insulin Sensitivity in the Preadipocyte and Adipocyte Forms of 3T3-L1 Cells." *Journal of Biological Chemistry* 253 (20): 7570-7578.
- Rubin, C.S., Lai, E., Rosen, O.M. 1977. "Acquisition of Increased Hormone Sensitivity During in Vitro Adipocyte Development." *Journal of Biological Chemistry* 252 (10): 3554-3557.
- Ruoslahti, E. 1989. "Proteoglycans in Cell Regulation." *Journal of Biological Chemistry* 264 (23): 13369-13372.
- Sara, V R, and K Hall. 1990. "Insulin-like Growth Factors and Their Binding Proteins." *Physiological Reviews* 70 (3) (July): 591-614.
- Schmid, C., J. Rutishauser, I. Schlapfer, E.R. Froesch, and J. Zapf. 1991. "Intact but Not Truncated Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 (IGFBP-3) Blocks IGF I-induced Stimulation of Osteoblasts: Control of IGF Signalling to Bone Cells by IGFBP-3-specific Proteolysis?" *Biochemical and Biophysical Research Communications* 179 (1): 579-585.
- Seneviratne, C., J. Luo, and L.J. Murphy. 1990. "Transcriptional Regulation of Rat Insulin-like Growth Factor-binding Protein-1 Expression by Growth Hormone." *Molecular Endocrinology* 4 (8): 1199-1204.
- Shier, P., Watt, V.M. 1989. "Primary Structure of a Putative Receptor for a Ligand of the Insulin Family." *Journal of Biological Chemistry* 264 (25): 14605-14608.
- Shimasaki, S., M. Shimonaka, H.-P. Zhang, and N. Ling. 1991a. "Identification of Five Different Insulin-like Growth Factor Binding Proteins (IGFBPs) from Adult Rat Serum and Molecular Cloning of a Novel IGFBP-5 in Rat and Human." *Journal of Biological Chemistry* 266 (16): 10646-10653.
- Siebler, Thomas, Helen Robson, Stephen M. Shalet, and Graham R. Williams. 2001. "Glucocorticoids, Thyroid Hormone and Growth Hormone Interactions: Implications for the Growth Plate." *Hormone Research* 56 (Suppl. 1): 7-12. doi:10.1159/000048127.
- Sommer, A., C.A. Maack, S.K. Spratt, D. Mascarenhas, T.J. Tressel, E.T. Rhodes, R. Lee, et al., 1991. "Molecular Genetics and Actions of Recombinant Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3." *Modern Concepts of Insulin-Like Growth Factors*: 715-728.
- Soos, M.A., Siddle, K. 1989. "Immunological Relationships Between Receptors for Insulin and

Insulin-like Growth Factor I. Evidence for Structural Heterogeneity of Insulin-like Growth Factor I Receptors Involving Hybrids with Insulin Receptors." *Biochemical Journal* 263 (2): 553-563.

Steele-Perkins, G., J. Turner, J. C. Edman, J. Hari, S. B. Pierce, C. Stover, W. J. Rutter, and R. A. Roth. 1988. "Expression and Characterization of a Functional Human Insulin-like Growth Factor I Receptor." *Journal of Biological Chemistry* 263 (23): 11486-11492.

Steinberg, M.M., Brownstein, B.L. 1982. "A Clonal Analysis of the Differentiation of 3T3-L1 Preadipose Cells: Role of Insulin." *Journal of Cellular Physiology* 113 (3): 359-364.

Straus, D.S., and C.D. Takemoto. 1990. "Effect of Dietary Protein Deprivation on Insulin-like Growth Factor (IGF)-I and -II, IGF Binding Protein-2, and Serum Albumin Gene Expression in Rat." *Endocrinology* 127 (4): 1849-1860.

Takenaka, A., Y. Miura, M. Mori, M. Hirose, H. Kato, and T. Noguchi. 1991. "Distribution of Messenger RNAs of Insulin-like Growth Factor (IGF)-binding Proteins-1 and -3 Between Parenchymal and Nonparenchymal Cells in Rat Liver." *Agric. Biol. Chem.* 55: 1191-1193.

Thissen, J. -P, J. -M Ketelslegers, and L. E. Underwood. 1994a. "Nutritional Regulation of the Insulin-like Growth Factors." *Endocrine Reviews* 15 (1): 80-101.

Thissen, J.-P., L.E. Underwood, and J.-M. Ketelslegers. 1999. "Regulation of Insulin-like Growth factor-I in Starvation and Injury." *Nutrition Reviews* 57 (6): 167-176.

Tsuboi, R., C.-M. Shi, G.N. Cox, and H. Ogawa. 1995. "Co-administration of Insulin-like Growth Factor (IGF)-I and IGF-binding Protein-1 Stimulates Wound Healing in Animal Models." *Journal of Investigative Dermatology* 104 (2): 199-203.

Valentinis, Barbara, Gaetano Romano, Francesca Peruzzi, Andrea Morrione, Marco Prisco, Silvia Soddu, Barbara Cristofanelli, Ada Sacchi, and Renato Baserga. 1999. "Growth and Differentiation Signals by the Insulin-like Growth Factor 1 Receptor in Hemopoietic Cells Are Mediated Through Different Pathways." *Journal of Biological Chemistry* 274 (18): 12423 -12430. doi:10.1074/jbc.274.18.12423.

Walker, J.L., M. Ginalska-Malinowska, T.E. Romer, J.B. Pucilowska, and L.E. Underwood. 1991. "Effects of the Infusion of Insulin-like Growth Factor I in a Child with Growth Hormone Insensitivity Syndrome (Laron Dwarfism)." *New England Journal of Medicine* 324 (21): 1483-1488.

Wood, W.I., G. Cachianes, W.J. Henzel, G.A. Winslow, S.A. Spencer, R. Hellmiss, J.L. Martin, and R.C. Baxter. 1988. "Cloning and Expression of the Growth Hormone-dependent Insulin-like Growth Factor-binding Protein." *Molecular Endocrinology* 2 (12): 1176-1185.

Yakar, S., H. Sun, H. Zhao, P. Pennisi, Y. Toyoshima, J. Setser, B. Stannard, L. Scavo, and D. LeRoith. 2005. "Metabolic Effects of IGF-I Deficiency: Lessons from Mouse Models." *Pediatric Endocrinology Reviews* 3 (1): 11-19.

Yakar, S., Y. Wu, J. Setser, and C. J. Rosen. 2002. "The Role of Circulating IGF-I: Lessons from Human and Animal Models." *Endocrine* 19 (3): 239-248.

- Zapf, J. 1995. "Physiological Role of the Insulin-like Growth Factor Binding Proteins." *European Journal of Endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 132 (6) (June): 645-654.
- Zapf, J., C. Schmid, H.P. Guler, M. Waldvogel, C. Hauri, E. Futo, P. Hossenlopp, M. Binoux, and E.R. Froesch. 1990. "Regulation of Binding Proteins for Insulin-like Growth Factors (IGF) in Humans. Increased Expression of IGF Binding Protein 2 During IGF I Treatment of Healthy Adults and in Patients with Extrapaneatic Tumor Hypoglycemia." *Journal of Clinical Investigation* 86 (3): 952-961.
- Zapf, J., M. Waldvogel, and E.R. Froesch. 1975. "Binding of Nonsuppressible Insulinlike Activity to Human Serum: Evidence for a Carrier Protein." *Archives of Biochemistry and Biophysics* 168 (2): 638-645.
- Zenobi, P D, S Graf, H Ursprung, and E R Froesch. 1992. "Effects of Insulin-like Growth factor-I on Glucose Tolerance, Insulin Levels, and Insulin Secretion." *Journal of Clinical Investigation* 89 (6) (June): 1908-1913

2 Hipótesis y Objetivos

La hipótesis de trabajo por lo tanto fue que si las concentraciones reducidas de IGF-I han sido asociadas con tasas de ovulación reducidas, IGF-I puede tener un efecto directo sobre el ovario, ya que los lugares de fijación de IGF-I en las células de la granulosa de las cerdas se cree que amplifican los efectos de FSH a través del incremento de la esteroidogénesis en el folículo. Además como IGF-I actúa también como regulador del metabolismo en animales en crecimiento, creemos que si un ingrediente adicionado en la dieta puede modificar los niveles de IGF-I circulantes, por un lado podríamos mejorar el status metabólico de las cerdas, y por lo tanto mejorar los resultados productivos siendo más eficientes, y por el otro mejorar los resultados de crecimiento de los lechones durante la lactación y en la etapa postdestete.

Los objetivos de la tesis son el estudio y revisión de los actuales conocimientos sobre el metabolismo y las acciones de IGF-I en cerdos y como objetivo principal la investigación de los efectos que un suplemento alimenticio proveniente de la fermentación de la proteína de patata (PPF) puede tener sobre los niveles de IGF-I en la especie porcina en diferentes estadios productivos o metabólicos y si estas modificaciones tienen alguna repercusión práctica sobre la producción.

IGF-I en cerdas en la fase destete hasta su cubrición

El objetivo de este estudio fue estudiar si la adición en la dieta de cerdas lactantes durante 5 días antes del destete y 5 días post destete de PPF con o sin glucosa tenía algún efecto sobre los días no productivos entre el destete y su cubrición, sobre la fertilidad y sobre el número de lechones nacidos totales en el subsiguiente parto y si estos parámetros productivos están relacionados con niveles plasmáticos de IGF-I.

IGF-I en lechones lactantes

El objetivo de este ensayo fue estudiar el efecto de la administración oral de PPF a lechones durante las primeras 24 horas tras el nacimiento sobre los niveles plasmáticos de IGF-I, sobre la mortalidad y sobre la ganancia de peso vivo desde el nacimiento al hasta el destete.

IGF-I en lechones destetados

El objetivo de los dos estudios fue estudiar si la adición en la dieta de lechones de PPF tras su destete en diferentes proporciones podía reemplazar el uso de plasma animal y si las modificaciones estaban relacionadas con los niveles plasmáticos de IGF-I.

3 Ensayo en cerdas reproductoras al destete

3.1 Introducción

La rentabilidad de la producción porcina depende del número de lechones destetados por cerda y año. Más del 30% de los oocitos presentes en el momento de la ovulación no se desarrollan y no se convierten en lechones nacidos representando un serio problema para la producción porcina (Geisert, et al., 2002) situándose este factor como uno de los principales para mejorar la rentabilidad y productividad.

La mayoría de las pérdidas prenatales ocurren durante el primer mes de gestación. Sólo el 75% de los blastocistos presentes el día 9 de gestación sobreviven hasta el día 25 de gestación (Foxcroft et al., 2007), produciéndose las mayores pérdidas en el momento del reconocimiento de la gestación por parte de la cerda y de la implantación de los embriones (días 12 a 18 de gestación). En el momento del reconocimiento de la gestación y de la implantación de los embriones existe un desfase en el desarrollo de los embriones que hace que los más desarrollados evolucionen más favorablemente de afectando negativamente a los menos desarrollados (Pope, 1988; Jindal et al., 1997).

Diversos estudios han demostrado que cambios nutricionales antes y después de la concepción influyen sobre la concentración de hormonas metabólicas y reproductivas circulantes. Aunque la nutrición puede afectar a los resultados de supervivencia prenatal existen estudios que demuestran que incluso se influye más sobre esta supervivencia actuando con modificaciones alimentarias en el periodo anterior a la cubrición (Ashworth et al., 1999).

Algunos mecanismos hormonales están involucrados en la mejora de la calidad de los oocitos y de la supervivencia embrional. Al menos 4 proteínas uterinas (uteroferrina, la proteína de fijación del retinol, la proteína de fijación del folato y la riboflavina) y las IGF-I e IGF-II, están relacionadas con la supervivencia embrionaria (Novak et al., 2003). IGF-I y leptina son capaces de incrementar la supervivencia embrionaria pero los efectos de diferentes niveles nutricionales sobre el nivel de IGF-I circulante y en el útero permanecen desconocidos. Además el eje GH/IGF-I juega un papel importante en la regulación de los efectos de la alimentación sobre la reproducción, alterando las concentraciones de metabolitos intermediarios y hormonas reproductivas (Simmen et al., 1998). La progesterona, que es la hormona responsable de la preparación del endometrio del útero para la implantación del embrión, puede ser una de las hormonas más importantes que influye sobre los efectos que la alimentación induce sobre la supervivencia de lechones en cerdas nulípara (Jindal et al., 1996). El mecanismo conocido como flushing hace que se incrementen las tasas de ovulación

(Jindal et al., 1997). No obstante, no se conoce si este incremento es una respuesta a un mayor incremento de ingesta *per se* o al incremento de algún nutriente específico. Se ha propuesto que la respuesta al flushing es debida a un incremento en los niveles plasmáticos de IGF-I y a la liberación y secreción de esteroides por el hígado que intervienen en el mecanismo de la maduración de los oocitos (De et al., 2009).

El consumo de pienso está positivamente correlacionado con el incremento de peso del hígado (Pickard et al, 1996, citado por Ferguson et al., 2003) y hay un incremento de flujo sanguíneo en la vena porta como consecuencia de un incremento en el plano alimentario en cerdas nulíparas (Prime et al., 1993).

Las concentraciones de IGF-I pueden estar afectadas por el origen de la energía en la dieta pero no está definido en qué fase, lactación, intervalo destete a celo o inicio de la gestación tiene mayor influencia. Sí parece estar definido que los hidratos de carbono tienen mejor respuesta que las grasas a la hora de influenciar sobre las variables reproductivas (van den Brand et al., 2009).

El concentrado de proteína de patata es un coproducto de la industria del almidón que se obtiene por termocoagulación de la proteína del rezumado tras la extracción del almidón, separación y secado hasta alcanzar valores de proteína bruta del 75-80% (de Blas et al., 2003). Este concentrado tiene cantidades variables de solanina, un alcaloide que da sabor amargo y disminuye su palatabilidad y que en caso de altas ingestas da lugar a síntomas parecidos a una gastroenteritis. El tratamiento de este concentrado con levaduras (Gélinas et al., 2007) o mediante otros procesos (Aziz et al., 2002) intenta reducir los efectos negativos e incrementar su digestibilidad.

3.2 Objetivo

La hipótesis de trabajo por lo tanto fue que si las concentraciones reducidas de IGF-I están asociadas con tasas de ovulación reducidas, IGF-I puede tener un efecto directo sobre el ovario ya que los lugares de fijación de IGF-I en las células de la granulosa de las cerdas se cree que amplifican los efectos de FSH a través del incremento de la esteridogénesis en el folículo.

El objetivo de este estudio fue evaluar si la adición en la dieta de cerdas lactantes durante 5 días antes del destete y 5 días post destete de PPF con o sin glucosa modificaba el número de días no productivos transcurridos entre el destete y su cubrición, la fertilidad, el número de lechones nacidos totales y si estos parámetros productivos están relacionados con niveles plasmáticos de IGF-I.

3.3 Material y métodos

El estudio se realizó en una granja de cerdas comercial productora de lechones destetados (conocido en la producción de cerdos como sitio 1) manejada en bandas de parto semanales. Las cerdas eran un cruce comercial de Landrace con Large White y fueron inseminadas con un macho Duroc.

La granja consta de una zona de cuarentena de las futuras reproductoras, donde llegan a la granja con una edad entre 20 y 22 semanas de vida procedente de una unidad de recría (sitio 3). Tiene unas naves de cubrición, zona de gestación control, zona de gestación confirmada y varias salas de lactación. Una vez destetados los lechones son transportados el mismo día del destete al sitio 2. Cumple con la legislación actual sobre bienestar animal (Real Decreto 1135/2002).

La alimentación se realiza de forma automática con comederos individualizados para cada cerda donde un técnico supervisa la cantidad diaria de comida a distribuir a las cerdas en función de su estado reproductivo (gestante, lactante o vacía) y su ciclo de parto. Durante el estudio no se modificó el esquema nutricional de la granja salvo en las cerdas objeto del estudio, a las que fueron suministrados los diferentes tratamientos. El agua se suministra en las zonas de gestación mediante un bebedor tipo canal *ad libitum* y en la lactación mediante bebederos tipo cazoleta con distribución *ad libitum* también. A los lechones en las salas de parto se les suministra pienso a partir de una semana de edad, primero sobre la placa de calefacción y posteriormente en unos comederos especiales y cuentan con un bebedero tipo cazoleta con suministro de agua *ad libitum*.

La climatización de la granja es mediante ventilación natural que es manejada por un sistema automático en función de la temperatura interior y exterior. En las salas de parto, se suministra calor a los lechones mediante un sistema de calor radiante en el suelo además de a través de bombillas de infrarrojos durante los primeros días de vida para asegurar su confort durante la fase de lactación.

El día 1 del estudio se incluyeron 199 cerdas (ver Tabla 3) de 3 lotes de semanales consecutivos de destete en el estudio. Mediante una rutina de aleatorización que incluía el ciclo de parto, el número de lechones destetados en el ciclo anterior y el número de lechones paridos en el actual ciclo, cada una de las cerdas fue asignada a uno de los siguientes grupos de tratamiento:

- PPF+G+, en el que las cerdas recibieron 20 g de PPF más 50 g de glucosa diariamente durante 5 días antes del destete y 5 días post destete;
- PPF+G-: en el que las cerdas recibieron 20 g de PPF diariamente durante 5 días antes del destete y 5 días post destete;

- PPF-G+: en el que las cerdas recibieron 50 g de glucosa diariamente durante 5 días antes del destete y 5 días post destete y,
- PPF-G-: en el que las cerdas no recibieron ningún suplemento.

Por razones de manejo de la granja, se decidió sacrificar 16 cerdas incluidas en el estudio antes de su salida en celo. La Tabla 3 muestra las cerdas excluidas del estudio.

Tabla 3. Número de cerdas por tratamiento.

	Total	PPF+G+	PPF+G-	PPF-G+	PPF-G-
Número de cerdas	183	47	43	47	46
Número de cerdas excluidas	16	4	5	4	3
Total de cerdas al inicio del estudio	199	51	48	51	49

Se obtuvo una muestra de sangre de todas las cerdas el día 1 y el día 10 del estudio mediante punción de la vena yugular mediante Vacutainer™ (Becton Dickinson and Company, NJ, USA) antes del inicio del tratamiento y de la distribución de la primera comida del día para el análisis de IGF-I. Tras el sangrado, las muestras se refrigeraron hasta su llegada al laboratorio de procesamiento donde fueron centrifugadas a 2.500 rpm durante 10 minutos para la obtención de plasma. De cada muestra de plasma se obtuvieron dos alícuotas de 300 microlitros aproximadamente en tubos Eppendorf para el análisis de IGF-I. Las muestras de plasma se guardaron en congelación a -20°C hasta su envío al laboratorio.

No se enviaron todas las muestras de plasma al laboratorio. Mediante una rutina de aleatorización se eligieron 100 muestras antes del envío al laboratorio para el análisis de IGF-I.

Los tratamientos fueron suministrados a las cerdas junto con la primera comida del día de forma manual e individualizada.

El día 5 del estudio las cerdas fueron destetadas. Sus lechones fueron enviados a las naves de destete. Las cerdas fueron alojadas tras el destete en una sala de forma individualizada para controlar su salida a celo y su inseminación posterior siguiendo los procedimientos habituales de la granja. Su alimentación fue *ad libitum*.

Para estimular la salida en celo, las cerdas fueron expuestas cada mañana a varios machos y un operario revisaba la aparición del celo. Una vez que las cerdas mostraban reflejo de inmovilidad al hombre, fueron inseminadas 2 veces con 24 h de intervalo entre ambas inseminaciones. Una vez finalizada la segunda inseminación, las cerdas fueron enviadas a la sala de gestación donde permanecieron hasta unos días antes de producirse el parto momento en el que fueron enviadas a las salas de parto.

Se recogieron todos los datos productivos de las cerdas incluidas en el estudio para el cálculo de la duración del intervalo del destete al celo, la fertilidad y la prolificidad de las cerdas.

El análisis de IGF-I se llevó a cabo mediante un ELISA de doble sandwich con dos anticuerpos específicos y de alta afinidad para la IGF-I. La IGF-I de la muestra se liga al primer anticuerpo inmovilizado en la placa de microvaloración tras lo que la enzima Streptavidin-Peroxidasa conjugada con biotina (biotinilada) liga la IGF-I inmovilizada como segundo anticuerpo anti-IGF-I. La reacción termina con un cambio de color altamente específico catalizado cuantitativamente dependiendo de los niveles de IGF-I en la muestra.

La recuperación es como media en diferentes muestras del 98,67% con una sensibilidad analítica de 0,09 ng/mL. El coeficiente de variación inter e intra ensayo es menor de 6,8% y 6,7% respectivamente. La calibración del ELISA con respecto a la referencia internacional de preparaciones de IGF-I de la OMS, NIBSC código 87/518 da un factor de conversión de 1,075.

El protocolo del análisis fue el siguiente:

1. Las muestras fueron diluidas en la solución tampón en la proporción 1/20.
2. Se añaden 80 µL de anticuerpo conjugado diluido en los pozos.
3. Se añaden 20 µL de la muestra de referencia y las muestras en los pozos.
4. Se sellan los pozos y se incuban durante una hora temperatura ambiente con un movimiento mayor a 350 rpm.
5. Tras la incubación, se aspira el contenido de los pozos y se lavan 3 veces con 250 µL de solución tapón.
6. Se añaden 100 µL de la enzima conjugada diluida en cada pozo.
7. Se cubre y se incuba la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente.
8. Tras la incubación, se aspira el contenido de los pozos y se lava 3 veces con 250 µL de solución tampón.
9. Se añaden 100 µL de solución substrato en cada pozo.

10. Se incubó la placa durante 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente.
11. Se para la reacción añadiendo 100 µL de solución finalizadora en todos los pozos.
12. Se mide la absorbancia durante los siguientes 30 minutos a 450 nm.

La cerda fue la unidad experimental.

Se utilizó R (*R: The R Project for Statistical Computing* 2015) como programa estadístico. Los niveles de IGF-I del día 1 y del día 10 del estudio, el intervalo de tiempo entre el destete y la salida a celo, el intervalo de tiempo entre el destete y la fertilización efectiva, el número de lechones nacidos vivos, muertos y totales por parto fueron analizados mediante un análisis de varianza de la librería *glm2* (Marschner, IC, 2011) mediante el modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + \text{GROUP}_i + \text{CYCLE}_j + \text{LACT}_k + e_{ijkl}$$

donde Y_{ijkl} fue la variable analizada de la cerda l , del grupo de tratamiento i (GROUP_i), con el ciclo de parto j (CYCLE_j) y con una duración de la lactación anterior k (LACT_k), siendo e_{ijkl} el error experimental.

El porcentaje de cerdas que repitieron celo tras la inseminación fue analizado mediante regresión logística con la librería *lm* de R con el modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{GROUP}_i + \text{CYCLE}_j + e_{ijk}$$

donde Y_{ijk} fue la variable analizada (repeticiones de celo) de la cerda k , del grupo de tratamiento i (GROUP_i), con el ciclo de parto j (CYCLE_j) siendo e_{ijk} el error experimental.

Para el cálculo del tamaño muestral se ha tenido en cuenta la variable número de lechones nacidos vivos asumiendo una SD de 1.6 y una diferencia entre el grupo PPF+ y PPF- que queremos detectar de 0.7. El tamaño muestral por grupo para detectar esa diferencia es aproximadamente de 90 cerdas. Por tanto con 45 cerdas por grupo debe ser suficiente para el objetivo de este estudio.

Los test usados fueron de dos colas con un error α del 5 % y se verificaron las condiciones de aplicación de los diferentes tests estadísticos.

3.4 Resultados

La Tabla 4 muestra los resultados de IGF-I los días 1 y 10 del estudio que corresponden a 5 días

antes del destete y 5 días posteriores al mismo en las cerdas. Los valores mostrados son las medias mínimo cuadráticas y su error estándar. Debido a que no hubo interacción entre el ciclo de las cerdas y el tratamiento, ésta se eliminó del modelo inicial. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 4. Valores de IGF-I (ng/mL) en las cerdas en los días 1 y 10 del estudio (media mínimo cuadrática \pm error estándar, LSM \pm EE).

	PPF+G+	PPF+G-	PPF-G+	PPF-G-
IGF-I día 1	78,69 \pm 5,60	77,24 \pm 5,22	87,52 \pm 5,88	86,65 \pm 6,21
IGF-I día 10	60,86 \pm 4,65	66,00 \pm 4,38	66,13 \pm 6,25	65,70 \pm 5,61
Número de cerdas	25	29	25	21

Medias de la misma fila con diferentes letras son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

Cuando se estudió el efecto del ciclo sobre el nivel de IGF-I se vio que las cerdas de segundo ciclo que habían sido nodrizas durante la lactación previa al tratamiento, tenían niveles de IGF-I diferentes al resto por lo que se decidió crear una nueva variable ciclo. Así las cerdas quedaron clasificadas en i) ciclo 2 (2), ii) mayores de 2 ciclos (> 2) y iii) mayores de 2 ciclos que habían sido nodrizas¹ (> 2 nod). Dado que el nivel de IGF-I que las cerdas tuvieron al inicio del estudio era desconocido en el momento de la aleatorización, no se pudo tener en cuenta este factor para aleatorizar las cerdas antes de recibir el tratamiento. La Tabla 5 muestra los valores de IGF-I según el ciclo de parto de la cerda y el día del estudio. Las cerdas con más de dos ciclos de parto que habían sido nodrizas en la lactación previa tuvieron mayor nivel de IGF-I el día 1 de estudio que las cerdas de los otros ciclos. El día 10 del estudio las cerdas de más de dos ciclos que habían sido nodriza tuvieron mayor nivel de IGF-I que las cerdas de 2 ciclos pero igual que las cerdas de más de dos ciclos que no habían sido nodrizas. Las cerdas que no habían sido nodrizas independientemente de su ciclo tuvieron el mismo nivel de IGF-I el día 10 del estudio.

¹ En esta granja, una cerda nodriza fue una cerda de más de dos ciclos que tras finalizar su lactancia con éxito, adoptó una camada de lechones super numerarios más pequeños que los que ella destetó para incrementar el peso de los mismos y sus posibilidades de supervivencia.

Tabla 5. Valores de IGF-I (ng/mL) agrupados por el ciclo de parto en las cerdas en los días 1 y 10 del estudio (LSM ± EE).

	(dos)	(> de 2)	(>2nod)	Valor p		
				>2 vs >2nod	>2 vs dos	>2nod vs dos
IGF-I día 1	68,63±4,98a	75,16±3,95a	103,8±6,51b	0,0002	0,3048	<0,0001
IGF-I día 10	56,18±4,05a	64,04±3,23ab	73,8±5,97b	0,1508	0,1292	0,0147
Número de cerdas	31	50	19			

Medias de la misma fila con diferentes letras son estadísticamente diferentes (p<0,05).

La Tabla 6 muestra los valores de IGF-I el día 1 del estudio por tratamiento y ciclo de parto en los diferentes días del estudio y el número de cerdas en cada grupo. Al tener en cuenta el factor “nodriza” no hubo diferencias en el nivel de IGF-I previo al inicio del estudio.

Tabla 6. Valores de IGF-I (ng/mL) en las cerdas el día 1 del estudio por tratamiento y ciclo de parto (media mínimo cuadrática ± error estándar, LSM ± EE).

	PPF+G+	PPF+G-	PPF-G+	PPF-G-
IGF-I día 1				
Cerdas de 2 ciclos	64,79±6,91	63,34±6,91	73,62±6,94	72,75±7,11
+ de 2 ciclos	71,32±6,38	69,87±5,95	80,16±6,01	79,28±6,74
+ de 2 ciclos nodrizas	99,96±7,80	98,51±7,34	108,79±8,66	107,92±8,66
Número de cerdas				
Cerdas de 2 ciclos	8	7	8	8
+ de 2 ciclos	11	14	15	10
+ de 2 ciclos nodrizas	6	8	2	3

Medias de la misma fila con diferentes letras son estadísticamente diferentes (p<0,05) excepto para “z” que es una tendencia estadística (p<0,10).

La Tabla 7 muestra los valores de IGF-I el día 10 del estudio por tratamiento y ciclo de parto en los diferentes días del estudio y el número de cerdas en cada grupo. No se encontraron diferencias en los niveles de IGF-I entre los diferentes tratamientos.

Tabla 7. Valores de IGF-I (ng/mL) en las cerdas el día 10 del estudio por tratamiento y ciclo de parto (media mínimo cuadrática \pm error estándar, LSM \pm EE).

	PPF+G+	PPF+G-	PPF-G+	PPF-G-
IGF-I día 10				
Cerdas de 2 ciclos	55,40 \pm 7,97	53,87 \pm 8,52	61,56 \pm 7,97	53,88 \pm 7,97
+ de 2 ciclos	66,57 \pm 6,79	62,13 \pm 6,02	69,08 \pm 5,82	58,39 \pm 7,13
+ de 2 ciclos nodrizas	60,62 \pm 9,20	82,01 \pm 7,97	67,75 \pm 15,93	84,83 \pm 13,01
Número de cerdas				
Cerdas de 2 ciclos	8	7	8	8
+ de 2 ciclos	11	14	15	10
+ de 2 ciclos nodrizas	6	8	2	3

Medias de la misma fila con diferentes letras son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

El intervalo de tiempo entre el destete y la salida en celo (IDC) y el intervalo de tiempo entre el destete y la salida en celo efectiva (IDCF) en los tratamientos se muestran en la Tabla 8. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Tabla 8. Intervalo (días) entre el destete y la salida en celo (IDC) e intervalo entre el destete y la salida en celo efectiva (LSM \pm EE).

	PPF+G+	PPF+G-	PPF-G+	PPF-G-
IDC, días	4,68 \pm 0,35	4,00 \pm 0,37	4,14 \pm 0,35	3,81 \pm 0,36
IDCF, días	6,67 \pm 1,39	5,71 \pm 1,40	7,02 \pm 1,39	5,40 \pm 1,38
Número de cerdas	47	43	47	46

Medias de la misma fila con diferentes letras son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

El número de cerdas que repitió el celo y su porcentaje sobre el número de cerdas inseminadas por tratamiento se muestra en la Tabla 9. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Tabla 9. Número de cerdas inseminadas y que retornaron a celo.

	PPF+G+	PPF+G-	PPF-G+	PPF-G-
Cerdas inseminadas	43	41	43	44
Cerdas que retornaron a celo	6	3	7	3
en porcentaje	13,95%	7,32%	16,28%	6,82%

Medias de la misma fila con diferentes letras son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

El número de lechones nacidos totales, vivos y muertos por parto y por tratamiento se muestran en la Tabla 10. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Tabla 10. Número de lechones nacidos totales, vivos y muertos (LSM±EE) por tratamiento.

	PPF+G+	PPF+G-	PPF-G+	PPF-G-
Lechones nacidos totales	15,04±0,71	15,74±0,71	14,25±0,72	16,12±0,69
Lechones nacidos vivos	13,25±0,62	14,28±0,62	13,17±0,63	14,64±0,61
Lechones nacidos muertos	1,79±0,29	1,47±0,29	1,08±0,29	1,47±0,28
Número de partos	37	38	36	42

Medias de la misma fila con diferentes letras son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

Dada la influencia que tuvo el factor “nodriza” se estudió el número de lechones nacidos totales por tratamiento y ciclo que se muestra en la Tabla 11.

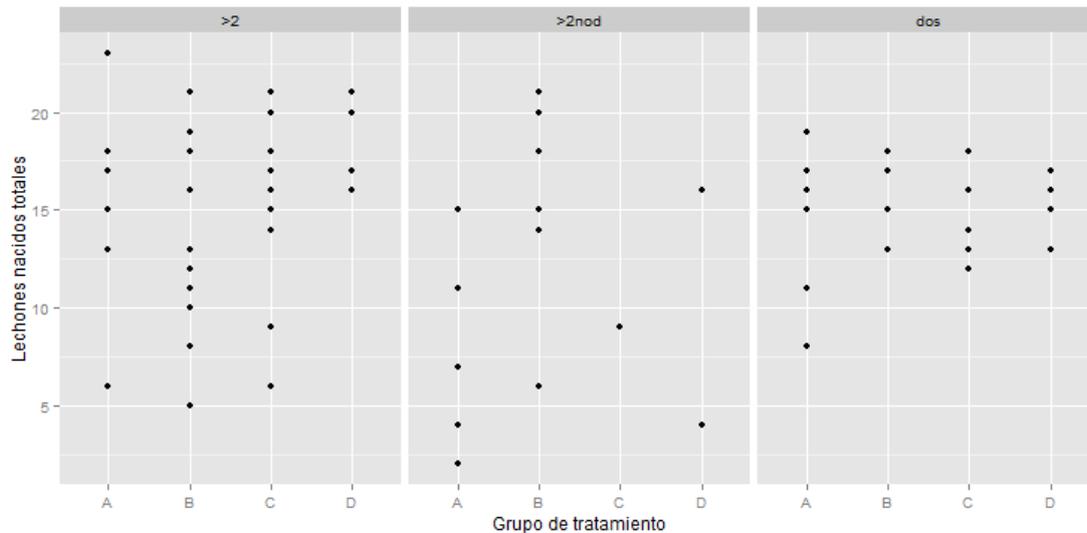
Tabla 11. Número de lechones nacidos totales (LSM±EE) por tratamiento y ciclo de parto.

	PPF+G+	PPF+G-	PPF-G+	PPF-G-
Cerdas de 2 ciclos	14,63±1,46ab	15,60±1,85ab	15,00±1,56ab	15,57±1,56ab
+ de 2 ciclos	15,33±1,69ab	14,17±1,19ab	15,27±1,25b	18,22±1,34b
+ de 2 ciclos nodrizas	7,80±1,85a	15,67±1,69ab	9,00±4,14ab	10,00±2,93ab

Medias con diferentes letras son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

Dada la falta de aleatorización al inicio del estudio por el factor “nodriza”, el número de partos por ciclo y tratamiento estuvo muy desequilibrado por lo que los datos de la Tabla 11 deben tomarse con precaución. En la Figura 4 puede verse la distribución del número de lechones nacidos totales en cada parto por tratamiento y por ciclo. Además cada punto es una camada por lo que puede apreciarse el número de camadas por tratamiento y ciclo.

Figura 4. Distribución del número de lechones nacidos en cada parto por tratamiento y por ciclo.



3.5 Discusión

Los resultados del presente estudio no soportan la hipótesis, en las condiciones de este estudio, de que el suministro de PPF con o sin glucosa durante 5 días previos al destete y 5 días posteriores al destete, mejorasen los parámetros reproductivos de cerdas en términos de días productivos y lechones producidos. Tampoco se modificaron los niveles de IGF-I circulante como consecuencia del tratamiento. Probablemente factores como la alta sanidad, el alto estatus de las condiciones de la granja donde se llevó a cabo el estudio, el alto nivel de implicación de los operarios y la hiperproliferación de las cerdas, hayan tenido un papel muy importante.

Reducir el intervalo entre el destete y el celo (tanto el primer celo como el efectivo), incrementando por ende la tasa de fertilidad e incrementar el número de lechones nacidos totales en esta granja es una labor complicada dado su nivel de productividad. Pero precisamente este alto nivel de productividad era el que se buscaba ya que si se hubiera realizado el presente estudio en una granja con estatus sanitario y de manejo medio o bajo o con cerdas no hiperprolíficas, probablemente también otros tratamientos diferentes a los efectuados hubieran podido incrementarlos.

Los valores de IGF-I encontrados en este estudio difieren de los encontrados en la literatura científica durante intervalos de tiempo parecidos de la gestación. De et al., (2009) encontraron valores entre 153 ± 17 y 253 ± 39 ng/mL a los 12 días de gestación. Una de las razones de esta diferencia puede ser el uso de un método de análisis diferente al llevado a cabo en este estudio. Otra de las razones por las que estos parámetros pueden ser diferentes es debida a la edad de las cerdas o su ciclo productivo. De et al, (2009) encontraron diferencias en el nivel de IGF-I el día 12 de

gestación cuando estudiaron el efecto de la alimentación sobre los parámetros reproductivos en cerdas nulíparas. En este estudio se usaron solamente cerdas destetadas mientras que De et al., (2009) usaron sólo cerdas nulíparas. Ferguson et al., (2003) también encontraron valores más altos de IGF en nulíparas, situando los valores entre 102 ± 32 ng/mL y 190 ± 46 ng/mL.

Los estudios llevados a cabo por Ashworth et al., (1999), por Gatford et al., (1997), Musser et al., (1999), Hunter et al., (2004) y Musser et al., (2006) demostraron que las modificaciones nutricionales antes y después de la concepción influenciaban la circulación y concentración de hormonas reproductoras y metabólicas y la supervivencia neonatal siendo el mecanismo responsable de la respuesta al flushing un incremento en la liberación de IGF-I así como un incremento en la destrucción de esteroides en el hígado.

Estos factores nutricionales afectan también a la calidad del oocito y como consecuencia a su supervivencia embrional. Otros factores como la regulación de la angiogénesis folicular han demostrado jugar un papel muy importante en el desarrollo de los folículos ovulatorios, particularmente el factor de crecimiento endotelial vascular que es producido por las células de la granulosa en el ovario y puede ser estimuladas por las gonadotropinas (Foxcroft et al., 1987; Cosgrove et al., 1992; Hunter et al., 2004; Ashworth et al., 2009).

Sin embargo en este estudio no se ha podido comprobar que a través del suministro de PPF o de Glucosa, se hayan podido incrementar los niveles de IGF-I circulante ni se hayan reducido los días no productivos al reducir bien el intervalo destete-celo o los retornos a celo de las cerdas. Tampoco se han incrementado el número de lechones nacidos totales con los tratamientos.

No se ha encontrado correlación entre el nivel de IGF-I en el día 5 post destete con el número de lechones nacidos totales ($p = 0,486$). El estudio de Ferguson et al., (2003) demostró un incremento en la supervivencia embrionaria en cerdas nulíparas Meishan y en cerdas europeas cuando eran sometidas a un flushing. Las cerdas que no eran sometidas a flushing tenían un nivel de IGF-I inferior a las que fueron alimentadas con un alto nivel antes de la concepción. En este estudio, ninguna cerda fue sometida a una disminución en el consumo de alimento. Además el hecho de que algunas cerdas de más de dos ciclos realizaran una lactación más larga con una segunda camada (nodrizas) dio como resultado un incremento en el nivel de IGF-I muy significativo que posteriormente no se vio reflejado en un incremento de la productividad, medida como un aumento del número de lechones nacidos totales. Este incremento de IGF-I concuerda con los estudios de Ferguson et al., (2006) y de De et al., (2009) donde altos niveles de alimentación resultaban en altos

niveles de IGF-I, pareciendo más una consecuencia que un efecto.

La técnica del nodrizaje es usada en algunas granjas que usan cerdas hiperprolíficas como una ayuda en la recuperación de los lechones supernumerarios. En la granja donde se realizó el estudio, son cerdas nodrizas aquellas cerdas de más de dos partos que no han perdido condición corporal durante su lactación y tienen unas características maternas especiales, como unos pezones finos. Estas cerdas recuperan peso y condición corporal durante la lactación ya que el consumo de pienso es alto y las necesidades metabólicas bajas como consecuencia del bajo consumo de leche que tienen los lechones que les son asignados (King et al., 1997).

La variabilidad en los resultados obtenidos por los diferentes autores en diferentes estudios para demostrar una relación entre la nutrición o niveles nutricionales y la productividad es alta y difícil de ser comparada entre estudios. Estudios realizados con núlparas a menudo someten a dietas restrictivas a las cerdas antes de la concepción encontrando posteriormente resultados positivos al incremento del plano nutritivo no sólo en el número de lechones nacidos sino también en otras especies (Zak et al., 1997; Zak et al., 1997; O'Callaghan et al., 1999; Louveau, et al., 2000; Yang et al., 2000; Comin et al., 2002; Ferguson et al., 2003;). En este tipo de estudios existe una inherente variación en el desarrollo del ovario de las cerdas así como un posible impacto del tratamiento sobre el desarrollo del mismo.

La insulina, IGF-I, la glucosa y la leptina son mediadores entre el estatus nutricional y los resultados productivos, viéndose reducido el nivel de IGF-I circulante en animales sometidos a una reducción en el plano alimenticio (Ferguson et al., 2003; Ferguson et al., 2006; Zhou et al., 2010). IGF-I puede tener efectos directos sobre el ovario de la cerda ya que se han encontrado receptores de IGF-I en las células de la granulosa en humanos (Veldhuis et al., 1985) y además se presupone que amplifican los efectos de FSH incrementando la esteroidogénesis en el folículo. Las alteraciones de la concentración de insulina pueden alterar también la secreción de LH e IGF-I teniendo un efecto directo en el ovario.

El origen de la energía tiene también efectos sobre los niveles de IGF-I circulante y sobre la maduración del oocito según Zhou et al., (2010). Dependiendo de si la energía de la dieta provenía de la grasa o del almidón, cerdas núlparas tuvieron diferencias en los niveles de IGF-I circulante y también diferencias en el desarrollo folicular siendo las dietas con almidón las que daban mayores niveles de IGF-I (198,5 ng/mL vs 143,1 ng/mL, para las dietas de almidón y grasa respectivamente), viéndose también afectados los niveles de estradiol. Sin embargo, Athorn et al.,

(2013) no encontraron ninguna respuesta cuando alimentaron cerdas nulíparas con diferentes niveles de almidón o grasa durante la fase de gestación temprana.

El hecho de usar glucosa en el periodo entre el destete y la salida de celo para incrementar la productividad de las cerdas ha sido objeto de determinados estudios y por ello fue elegido como control positivo en este estudio y también para conocer si había interacción entre la glucosa y la PPF. van den Brand et al., (2006), van den Brand et al., (2009), Park et al., (2010) y Wientjes et al., (2013) han realizado diferentes estudios con diferentes resultados pero parece que la mayor influencia en los subsecuentes resultados deriva del estatus previo nutricional y alimenticio de la cerda. La vía sobre la que actuaría un suplemento de glucosa sobre los resultados reproductivos no está clara pero podría ser que la insulina se viera incrementada, incrementándose los niveles de IGF-I y de LH, mejorando con ello el nivel y pulsatilidad de LH. En este estudio los niveles de glucosa que se suministró a las cerdas fue inferior al de la literatura (50 g al día vs 300 g que suministró Van den Brand en 2009) con lo que la influencia sobre la insulina pudo haber sido mucho menor.

L-carnitina ha sido estudiada también como suplemento nutricional en cerdas para incrementar la productividad (Brown et al., 2006; Birkenfeld et al., 2006; Doberenz et al., 2006) sin encontrar mejoras notables en la productividad, aunque el número de lechones nacidos muertos disminuyó en las cerdas que consumieron L-carnitina y el peso de los lechones nacidos también aumentó. Birkenfeld et al., (2006) y Doberenz et al., (2006) encontraron diferencias en el nivel de IGF-I en las cerdas que tomaron L-carnitina durante la gestación, pero estas diferencias fueron halladas el día 80 de gestación mientras que Brown et al., (2006) no encontraron diferencias aunque sí las encontraron en los mioblastos del embrión. También Waylan et al., (2003) y Waylan et al., (2004) encontraron diferencias en el nivel de IGF-I en los mioblastos embrionarios.

3.6 Conclusiones e implicaciones.

Bajo las condiciones de este estudio no se ha podido demostrar que la suplementación de las cerdas múltiparas con PPF con glucosa o sin glucosa, incremente los niveles de IGF-I de las cerdas, ni se vean reducidos los días no productivos o aumentadas la productividad expresada como el número de lechones nacidos totales en el parto subsiguiente.

Factores como el alto estatus sanitario y nutricional, el alto nivel de confort y calidad de las instalaciones de la granja que se usó en el estudio sumados a la hiperprolificidad de las cerdas

presentes en la misma probablemente hayan influenciado la falta de resultados.

También quizá las cantidades tanto de PPF como de glucosa suministradas a las cerdas para inducir este efecto hayan sido insuficientes y otros estudios deban incidir en la dosis-respuesta de estos suplementos.

No obstante, niveles altos de IGF-I vienen dados más por el plano alimenticio que pueda suministrar un producto o su combinación que por sus características inherentes. Otros suplementos como la L-carnitina o la glucosa tampoco han conseguido elevar bien los niveles circulantes de IGF-I o las productividades.

3.7 Bibliografía.

- Ashworth, C.J., C. Antipatis, y L. Beattie. 1999. «Effects of Pre- and Post-Mating Nutritional Status on Hepatic Function, Progesterone Concentration, Uterine Protein Secretion and Embryo Survival in Meishan Pigs.» *Reproduction, Fertility and Development* 11 (1): 67-73.
- Ashworth, C.J., L.M. Toma, y M.G. Hunter. 2009. «Nutritional Effects on Oocyte and Embryo Development in Mammals: Implications for Reproductive Efficiency and Environmental Sustainability.» *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364 (1534): 3351-61. doi:10.1098/rstb.2009.0184.
- Athorn, R.Z., P. Stott, E.G. Bouwman, A.C. Edwards, M.A. Blackberry, G.B. Martin, y P. Langendijk. 2013. «Feeding Level and Dietary Energy Source Have No Effect on Embryo Survival in Gilts, despite Changes in Systemic Progesterone Levels.» *Animal Production Science* 53 (1): 30-37. doi:10.1071/AN12004.
- Birkenfeld, C., J. Doberenz, H. Kluge, y K. Eder. 2006. «Effect of l-carnitine supplementation of sows on l-carnitine status, body composition and concentrations of lipids in liver and plasma of their piglets at birth and during the suckling period.» *Animal Feed Science and Technology* 129 (1-2): 23-38.
- Brown, K. R., B. J. Johnson, R. D. Goodband, M. D. Tokach, J. L. Nelssen, y J. C. Woodworth. 2006. «L-Carnitine supplementation to gestating gilts alters the IGF-I axis in porcine embryonic myoblasts» *Proceedings of KSU Swine Day 2006*: 7-12.
- Comin, A., D. Gerin, A. Cappa, V. Marchi, R. Renaville, M. Motta, U. Fazzini, y A. Prandi. 2002. «The effect of an acute energy deficit on the hormone profile of dominant follicles in dairy cows.» *Theriogenology* 58 (5): 899-910. doi:10.1016/S0093-691X(02)00922-6.
- Cosgrove, J., J. Tilton, M. Hunter, y G. Foxcroft. 1992. «Gonadotrophin-independent mechanisms participate in ovarian responses to realimentation in feed restricted pre-pubertal gilts.» *Journal of Reproduction and Fertility* 98: 736-45.
- De, W., Z. Ai-rong, L. Yan, X. Sheng-yu, G. Hai-yan, y Z. Yong. 2009. «Effect of Feeding Allowance Level on Embryonic Survival, IGF-1, Insulin, GH, Leptin and Progesterone

Secretion in Early Pregnancy Gilts.» *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 93 (5): 577-85. doi:10.1111/j.1439-0396.2008.00844.x.

Doberenz, J., C. Birkenfeld, H. Kluge, y K. Eder. 2006. «Effects of L-carnitine supplementation in pregnant sows on plasma concentrations of insulin-like growth factors, various hormones and metabolites and chorion characteristics.» *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 90 (11-12): 487-99. doi:10.1111/j.1439-0396.2006.00631.x.

Ferguson, E. M., C. J. Ashworth, S. A. Edwards, N. Hawkins, N. Hepburn, y M. G. Hunter. 2003. «Effect of Different Nutritional Regimens before Ovulation on Plasma Concentrations of Metabolic and Reproductive Hormones and Oocyte Maturation in Gilts.» *Reproduction* 126 (1): 61-71. doi:10.1530/rep.0.1260061.

Ferguson, E.M., J. Slevin, S.A. Edwards, M.G. Hunter, y C.J. Ashworth. 2006. «Effect of Alterations in the Quantity and Composition of the Pre-Mating Diet on Embryo Survival and Foetal Growth in the Pig.» *Animal Reproduction Science* 96 (1-2): 89-103. doi:10.1016/j.anireprosci.2005.11.007.

Foxcroft, G.R., H.J. Shaw, M.G. Hunter, P.J. Booth, y R.T. Lancaster. 1987. «Relationships between luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and prolactin secretion and ovarian follicular development in the weaned sow.» *Biology of Reproduction* 36 (1): 175-91.

Foxcroft, G. R., M. D. Vinsky, F. Paradis, W. -Y. Tse, S. C. Town, C. T. Putman, M. K. Dyck, y W. T. Dixon. 2007. «Macroenvironment effects on oocytes and embryos in swine.» *Theriogenology*, doi:10.1016/.

Gatford, K. L., K. J. Quinn, P. E. Walton, P. A. Grant, B. J. Hosking, A. R. Egan, y P. C. Owens. 1997. «Ontogenic and Nutritional Changes in Circulating Insulin-like Growth Factor (IGF)-I, IGF-II and IGF-Binding Proteins in Growing Ewe and Ram Lambs.» *The Journal of Endocrinology* 155 (1): 47-54.

Geisert, R.D., y R.A.M. Schmitt. 2002. «Early embryonic survival in the pig: Can it be improved?» *Journal of Animal Science* 80 (E. SUPPL. 1): E54-65.

Hunter, M.G., Robinson, R.S., Mann, G.E., Webb, R. 2004. «Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species.» *Animal Reproduction Science* 82-83: 461-77.

Jindal, R., J.R. Cosgrove, F.X. Aherne, y G.R. Foxcroft. 1996. «Effect of Nutrition on Embryonal Mortality in Gilts: Association with Progesterone.» *Journal of Animal Science* 74 (3): 620-24.

Jindal, R., J.R. Cosgrove, y G.R. Foxcroft. 1997. «Progesterone Mediates Nutritionally Induced Effects on Embryonic Survival in Gilts.» *Journal of Animal Science* 75 (4): 1063-70.

King, R.H., B.P. Mullan, F.R. Dunshea, y H. Dove. 1997. «The influence of piglet body weight on milk production of sows.» *Livestock Production Science* 47 (2): 169-74.

Louveau, I., H. Quesnel, y A. Prunier. 2000. «GH and IGF-I Binding Sites in Adipose Tissue, Liver, Skeletal Muscle and Ovaries of Feed-Restricted Gilts.» *Reproduction, Nutrition,*

Development 40 (6): 571-78.

- Marschner, IC. 2011. *glm2: Fitting Generalized Linear Models with Convergence Problems*. R. http://journal.r-project.org/archive/2011-2/RJournal_2011-2_Marschner.pdf.
- Musser, R. E., D. L. Davis, M. D. Tokach, J. L. Nelssen, S. S. Dritz, y R. D. Goodband. 2006. «Effects of high feed intake during early gestation on sow performance and offspring growth and carcass characteristics.» *Animal Feed Science and Technology* 127 (3-4): 187-99.
- Musser, R. E., R. D. Goodband, M. D. Tokach, K. Q. Owen, J. L. Nelssen, S. A. Blum, S. S. Dritz, y C. A. Civis. 1999. «Effects of L-Carnitine Fed during Gestation and Lactation on Sow and Litter Performance.» *Journal of Animal Science* 77 (12): 3289-95.
- Novak, S., F.R.C.L. Almeida, J.R. Cosgrove, W.T. Dixon, y G.R. Foxcroft. 2003. «Effect of pre- and postmating nutritional manipulation on plasma progesterone, blastocyst development, and the oviductal environment during early pregnancy in gilts.» *Journal of Animal Science* 81 (3): 772-83.
- O'Callaghan, D., y M.P. Boland. 1999. «Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants.» *Animal Science* 68 (2): 299-314.
- Park, M. S., Y. X. Yang, P. L. Shinde, J. Y. Choi, J. K. Jo, J. S. Kim, J. D. Lohakare, et al., 2010. «Effects of Dietary Glucose Inclusion on Reproductive Performance, Milk Compositions and Blood Profiles in Lactating Sows.» *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 94 (5): 677-84. doi:10.1111/j.1439-0396.2009.00962.x.
- Pope, W. F. 1988. «Uterine Asynchrony: A Cause of Embryonic Loss.» *Biology of Reproduction* 39 (5): 999-1003. doi:10.1095/biolreprod39.5.999.
- Prime, G. R., y H. W. Symonds. 1993. «Influence of Plane of Nutrition on Portal Blood Flow and the Metabolic Clearance Rate of Progesterone in Ovariectomized Gilts.» *The Journal of Agricultural Science* 121 (03): 389. doi:10.1017/S0021859600085580.
- R: The R Project for Statistical Computing. 2015. Accedido agosto 22. <https://www.r-project.org/>.
- Simmen, F.A., L. Badinga, M.L. Green, I. Kwak, S. Song, y R.C.M. Simmen. 1998. «The Porcine Insulin-like Growth Factor System: At the Interface of Nutrition, Growth and Reproduction.» *Journal of Nutrition* 128 (2 SUPPL.): 315S - 320S.
- Van Den Brand, H., N.M. Soede, y B. Kemp. 2006. «Supplementation of Dextrose to the Diet during the Weaning to Estrus Interval Affects Subsequent Variation in within-Litter Piglet Birth Weight.» *Animal Reproduction Science* 91 (3-4): 353-58. doi:10.1016/j.anireprosci.2005.04.009.
- Van den Brand, H., L. C. M. van Enkevort, E. M. van der Hoeven, y B. Kemp. 2009. «Effects of Dextrose plus Lactose in the Sows Diet on Subsequent Reproductive Performance and within Litter Birth Weight Variation.» *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene* 44 (6): 884-88. doi:10.1111/j.1439-0531.2008.01106.x.

- Veldhuis, J.D., R.W. Furlanetto, y D. Juchter. 1985. «Trophic actions of human somatomedin C/insulin-like growth factor I on ovarian cells: In vitro studies with swine granulosa cells.» *Endocrinology* 116 (4): 1235-42.
- Waylan, A. T., B. J. Johnson, D. P. Gnad, y J. C. Woodworth. 2004. «Feeding L-Carnitine to gestating sows alters the insulin-like growth-factor system in cultured porcine embryonic muscle cells isolated from fetal skeletal muscle.» *Proceedings of KSU Swine Day 2004*: 5-10.
- Waylan, A. T., B. J. Johnson, J. P. Kayser, D. P. Gnad, J. D. Dunn, E. K. Sissom, J. J. Higgins, y J. C. Woodworth. 2003. «Effects of L-Carnitine on fetal growth and the insulin-like growth factor system in pigs» *Proceedings of KSU Swine Day 2003*: 1-6.
- Wientjes, J.G.M., N.M. Soede, B.F.A. Laurensen, R.E. Koopmanschap, H. Van Den Brand, y B. Kemp. 2013. «Insulin-Stimulating Diets during the Weaning-to-Estrus Interval Do Not Improve Fetal and Placental Development and Uniformity in High-Prolific Multiparous Sows.» *Animal* 7 (8): 1307-16. doi:10.1017/S1751731113000566.
- Yang, H, J E Pettigrew, L J Johnston, G C Shurson, y R D Walker. 2000. «Lactational and Subsequent Reproductive Responses of Lactating Sows to Dietary Lysine (protein) Concentration.» *Journal of Animal Science* 78 (2): 348-57.
- Zak, L.J., J.R. Cosgrove, F.X. Aherne, y G.R. Foxcroft. 1997. «Pattern of Feed Intake and Associated Metabolic and Endocrine Changes Differentially Affect Postweaning Fertility in Primiparous Lactating Sows.» *Journal of Animal Science* 75 (1): 208-16.
- Zak, L.J., X. Xu, R.T. Hardin, y G.R. Foxcroft. 1997. «Impact of different patterns of feed intake during lactation in the primiparous sow on follicular development and oocyte maturation.» *Journal of Reproduction and Fertility* 110 (1): 99-106.
- Zhou, D.S., Z.F. Fang, D. Wu, Y. Zhuo, S.Y. Xu, Y.Z. Wang, P. Zhou, y Y. Lin. 2010. «Dietary Energy Source and Feeding Levels during the Rearing Period Affect Ovarian Follicular Development and Oocyte Maturation in Gilts.» *Theriogenology* 74 (2): 202-11. doi:10.1016/j.theriogenology.2010.02.002.

4 Ensayo en lechones lactantes

4.1 Introducción

La productividad en una explotación porcina se mide por el número de kg de carne de cerdos producidos por unidad de tiempo, siendo éstos el resultado de la combinación de dos factores i) el peso de cada cerdo y ii) el número de cerdos enviados al matadero. Dado que el peso al sacrificio viene fijado por matadero, la máxima productividad se reduce entonces a un único factor, el número de cerdos producido.

Para mejorar la productividad el productor debe incrementar el número de cerdos producido por unidad de producción, siendo ésta o bien la cerda (por unidad de tiempo) o bien la camada. El incremento del número de lechones obtenido por camada ha sido y es, desde hace muchos años, uno de los pilares básicos del incremento de la productividad porcina (Gill, 2007). Actualmente se superan ampliamente en las granjas de alta productividad, los 30 lechones destetados por cerda y año, llegándose a alcanzar medias de nacidos totales por parto de más de 15 lechones (Årsberetning, 2014).

Sin embargo la mortalidad de los lechones durante los primeros 5 días de vida se sitúa alrededor del 16% siendo uno de los factores que más atención está teniendo por parte de la industria (Årsberetning, 2014). Una de las principales causas de mortalidad de los lechones neonatos nacidos de cerdas hiperprolíficas, si no la más importante, es el bajo peso al nacimiento (Varley, 1995; Rehfeldt et al., 2006; Morise et al., 2008; Morise et al., 2009; D’Inca et al., 2011). También la irregularidad del peso dentro de las camadas (Morise et al., 2008), propicia que haya una gran competencia intracamada por parte de los lechones y que los lechones de menor peso tengan ingestas menores de calostro y leche.

Bajos pesos al nacimiento están relacionados con bajas reservas de energía en el lechón recién nacido. Estos lechones no son capaces de ingerir suficiente calostro y leche materna tras el nacimiento (Van Barneveld et al., 2011). Este hecho disminuye la supervivencia del lechón recién nacido ya que no es capaz de mantener la temperatura corporal (Kammersgaard et al., 2011) cayendo en un estado de hipotermia, hambre y muerte (Louveau et al., 2000; Gondret et al., 2005, Kammersgaard et al., 2011).

El eje GH/IGF-I tiene un importante papel en el proceso que une la alimentación con el desarrollo postnatal y el desarrollo (Simmen et al., 1998). A pesar de ello del eje GH/IGF-I no está maduro todavía en los lechones como demostraron Harrell et al., (1999) donde no encontraron respuestas de

incrementos de IGF-I cuando a los lechones se les suministraba somatotropina exógena hasta el día 37 de vida, incrementándose posteriormente con la edad. El status nutricional tiene una gran influencia en la expresión y secreción de una variedad de hormonas relacionadas con el crecimiento, incluyendo la hormona del crecimiento, el factor de crecimiento similar a la insulina tipos I y II, las hormonas tiroideas y algunos glucocorticoides (Straus 1994; Booth et al., 2002; Renaville et al., 2002). De hecho el hambre y la desnutrición disminuyen el nivel de GH en plasma, disminuyen el nivel de IGF-I en plasma y alteran las cantidades de las proteínas ligantes de IGF-I (Straus 1994; Thissen et al., 1994). La disminución de GH debida a una disminución de la ingesta hace que las concentraciones de IGF-I también disminuyan (Thissen et al., 1999).

Estos resultados sugieren que las diferencias encontradas en los niveles de IGF-I en lechones neonatos, antes del destete, pueden ser debidas a cambios hormonales diferentes a los niveles de GH. Dado que en la composición corporal del lechón lactante, la grasa es uno de los mayores componentes (Mitchell et al., 2012) y que el tejido graso es capaz de producir IGF-I (Miner, 2004), parece posible que las variaciones en los niveles de IGF-I en lechones sean debidas a las relaciones entre cantidad de músculo y grasa en el cuerpo del lechón confirmando la sugerencia de Harrell et al., (1999) de que probablemente la mayor parte de la IGF-I en lechones lactantes no provenga del hígado.

El status nutricional y el endocrino pueden ser una restricción en el crecimiento de los lechones con bajos pesos tras el nacimiento (Van Barneveld et al., 2011). Una estrategia que podría disminuir estos efectos sería la suplementación en la alimentación del lechón (Dunshea et al., 2003; Van Barneveld et al., 2011) en este tiempo crucial, con suplementos que estimularan el crecimiento tanto del lechón como de su intestino como demostró Van Barneveld en 2011.

Aunque una baja ingesta de proteína es capaz de incrementar los niveles de IGF-I si existe un nivel adecuado de ingesta energética, se necesita un umbral mínimo de energía bajo el cual una adecuada ingesta de proteína no es capaz de incrementar el nivel de IGF-I (Isley et al., 1984) tras un periodo de desnutrición. La desnutrición disminuye la producción hepática de IGF-I disminuyendo la expresión del gen IGF-I. Esta expresión génica disminuida es consecuencia tanto de los mecanismos transcripcionales como posttranscripcionales. La disminución de la ingesta o la restricción de la misma incrementan la depuración y degradación de IGF-I a través de cambios en los niveles circulantes de IGF-BP.

La leche (entre 0,01 y 0,04 ng/mL) y el calostro (entre 0,10 y 0,40 ng/mL) de la cerda contienen

IGF-I (Burrin et al., 1997; Donovan et al., 2004; Zabielski et al., 2005) que estimula el crecimiento intestinal y el desarrollo del lechón. Además es durante las primeras 24 h de vida cuando se producen los cambios más intensos en las células epiteliales de la mucosa intestinal. En este periodo las hormonas presentes en el lumen intestinal y los factores de crecimiento como IGF-I juegan un papel importante en este desarrollo (Zabielski et al., 2005; Zabielski, et al., 2008). La producción por parte de las células epiteliales de lactasa se ve favorecida por la presencia en el lumen intestinal de IGF-I (Burrin et al., 1997) siendo esto importante para el desarrollo del lechón dado que la lactosa es el principal azúcar de la leche.

El concentrado de proteína de patata es un coproducto de la industria del almidón que se obtiene por termocoagulación de la proteína del rezumado tras la extracción del almidón, separación y secado hasta alcanzar valores de proteína bruta del 75-80% (de Blas et al., 2003). Este concentrado tiene cantidades variables de solanina, un alcaloide que da sabor amargo y disminuye su palatabilidad y que en caso de altas ingestas da lugar a síntomas parecidos a una gastroenteritis. El tratamiento de este concentrado con levaduras (Gélinas et al., 2007) o mediante otros procesos (Aziz et al., 2002) intenta reducir los efectos negativos e incrementar su digestibilidad.

4.2 Objetivo

La hipótesis de trabajo fue que si se lograra incrementar el nivel circulante de IGF-I en el lechón recién nacido, su status metabólico sería mayor con lo que tendría un mayor crecimiento y debido a este sufriría una menor mortalidad durante la fase de lactación.

El objetivo de este ensayo fue evaluar el efecto de la administración de una proteína de patata fermentada (PPF) a lechones durante las primeras 12 horas tras el nacimiento sobre los niveles plasmáticos de IGF-I, sobre la mortalidad y sobre la ganancia de peso vivo desde el nacimiento al hasta el destete.

4.3 Material y métodos

El estudio se llevó a cabo en una granja de cerdas comercial productora de lechones destetados (conocido en la producción de cerdos como sitio 1) manejada en bandas de parto semanales. Las cerdas eran un cruce comercial de Landrace con Duroc y fueron inseminadas con un macho Large White, con lo que los lechones eran un cruce comercial con 25 % de raza Landrace, 25 % de raza Duroc y 50% de raza Large White.

La granja consta de una zona de cuarentena y recría de las futuras reproductoras, donde llegan a la granja con una edad entre 7 y 10 semanas de vida procedente de una unidad de destete (sitio 2). Tiene unas salas de cubrición, zona de gestación control, zona de gestación confirmada y varias salas de lactación. Una vez destetados los lechones son transportados el mismo día del destete al sitio 2. Cumple con la legislación actual sobre bienestar animal (Real Decreto 1135/2002).

La alimentación se realiza de forma automática con comederos individualizados para cada cerda donde un técnico supervisa la cantidad diaria de comida a distribuir a las cerdas en función de su estado reproductivo (gestante, lactante o vacía) y su ciclo de parto. Durante el estudio no se modificó el esquema nutricional de la granja que se explica posteriormente. El agua se suministra en las zonas de gestación mediante un bebedor tipo canal *ad libitum* y en la lactación mediante bebederos tipo cazoleta con distribución *ad libitum* también. A los lechones en las salas de parto se les suministra pienso una semana antes del destete aproximadamente en unos comederos especiales y cuentan con un bebedero tipo cazoleta con suministro de agua *ad libitum*.

La climatización de la granja es mediante ventilación natural que es manejada por un operario en función de la temperatura interior y exterior. En las salas de parto, se suministra calor a los lechones mediante un sistema de calor radiante en el suelo para asegurar su confort durante la fase de lactación.

El día 1 del estudio se incluyeron 84 camadas de lechones que habían nacido en las últimas 12 horas, siendo incluidas 42 camadas durante la primera semana del estudio (todas las cerdas que parieron esa semana), 19 en la segunda y 23 en la tercera. El motivo por el cual se eligieron 19 cerdas en la segunda semana y 23 en la tercera fue para obtener suficiente tamaño muestral en cada uno de los grupos en los que se dividieron los lechones. 542 lechones en total fueron marcados y pesados (ver Tabla 13, Tabla 14 y Tabla 15). Dentro de cada camada los lechones fueron asignados a uno de los siguientes grupos de tratamiento en un experimento factorial 2 x 4 (dos grupos de peso por cuatro grupos de tratamiento) mediante una rutina de aleatorización de tal forma que se intentó que en cada camada estuvieran representados todos las combinaciones de grupos de tratamiento y grupos de peso.

Los dos grupos de peso fueron lechones con peso al nacimiento mayor o igual a 1,2 kg (grandes, g) y lechones con peso al nacimiento menor a 1,2 kg (pequeños, p).

Los cuatro tratamientos fueron:

- PPF2: lechones que recibieron 2 mL de PPF al nacimiento (antes de 24 h posteriores al nacimiento).
- PPF1+1: lechones que recibieron 1 mL de PPF al nacimiento más 1 mL de PPF a las 24 h del primer tratamiento.
- Gly: lechones que recibieron 2 mL de Glicerina de calidad farmacéutica (control positivo) al nacimiento.
- CN: lechones que no recibieron ningún tratamiento (control negativo).

La nomenclatura usada para las diferentes combinaciones de tratamientos y grupos de peso se presenta en la Tabla 12.

Tabla 12. Nomenclatura de los grupos de tratamiento y peso.

	Lechones grandes ($\geq 1,2$ kg)	Lechones pequeños ($< 1,2$ kg)
PPF2	gPPF2	pPPF2
PPF1+1	gPPF1+1	pPPF1+1
Gly	gGly	pGly
CN	gCN	pCN

Tabla 13. Número de lechones por tratamiento.

Grupo de tratamiento	Número total de lechones	Número de lechones sangrados
PPF2	136	47
PPF1+1	133	46
Gly	137	43
CN	136	40

Tabla 14. Número de lechones con peso de nacimiento mayor o igual a 1,2 kg

Grupo de tratamiento	Número total de lechones	Número de lechones sangrados ¹
gPPF2	80	24(23)
gPPF1+1	79	24(24)
gGly	80	24(22)
gCN	80	24(20)

1: Inicialmente fueron elegidos 24 animales por grupo pero debido a la muerte de algunos lechones en el proceso de extracción de sangre en el primer día de vida, se muestran entre paréntesis el número de lechones de los que finalmente se obtuvo sangre.

Tabla 15. Número de lechones con peso al nacimiento menor de 1,2 kg

Grupo de tratamiento	Número total de lechones	Número de lechones sangrados
pPPF2	56	24(24)
pPPF1+1	54	24(22)
pGly	57	24(21)

pCN	56	24(20)
-----	----	--------

1: Inicialmente fueron elegidos 24 animales por grupo pero debido a la muerte de algunos lechones en el proceso de extracción de sangre en el primer día de vida, se muestran entre paréntesis el número de lechones de los que finalmente se obtuvo sangre.

192 lechones (24 por grupo de tratamiento y peso) fueron elegidos con una rutina de aleatorización para la obtención de sangre mediante punción de la vena yugular mediante VacutainerTM (Becton Dickinson and Company, NJ, USA) en los días 1, 7 y 20 del experimento (ver Tabla 13, y Tabla 15). Tras el sangrado, las muestras se refrigeraron hasta su llegada al laboratorio de procesamiento donde fueron centrifugadas a 2.500 rpm durante 10 minutos para la obtención de plasma. De cada muestra de plasma se obtuvieron dos alícuotas de 300 microlitros aproximadamente en tubos Eppendorf para el análisis de IGF-I. Las muestras de plasma se guardaron en congelación a -20°C hasta su envío al laboratorio.

La administración del tratamiento con PPF fue manual mediante bombas dosificadoras que dispensaban 1 ó 2 mL en cada impulso. Una vez asignado el lechón a su grupo de tratamiento, pesado y tatuado, se administró el tratamiento. En caso de que el producto en alguna de las administraciones no fuese ingerido por el lechón, se volvió a repetir la dosificación del tratamiento.

Los lechones fueron pesados de nuevo los días 3, 7 y 20 del experimento. Se observó diariamente a los lechones registrándose la mortalidad así como su causa. Los tratamientos clínicos individuales fueron registrados.

El manejo tanto de los lechones como de las cerdas fue el propio de la explotación. Las cerdas fueron alimentadas con una ración de forma incremental comenzando el día del parto (día 1 del experimento) con una ración de 2,5 kg por cerda y día, para incrementar diariamente 0,5 kg por cerda y día de tal forma que en el día 6 post parto cada cerda consumiera la ración *ad libitum*. El valor nutritivo del pienso no fue inferior a las recomendaciones de Fedna 2003 (de Blas et al., 2003). El agua se suministró *ad libitum*.

Se suministró pienso a los lechones a partir del día 15 de vida *ad libitum* hasta el destete. El agua se suministró a los lechones *ad libitum*.

El método para la separación de las proteínas transportadoras (IGFBP) de la IGF-I fue la extracción con ácido-etanol. Para ello, en primer lugar se somete la muestra a una extracción ácida (pH < 3,1) que disociará de forma irreversible la unión de IGF a sus proteínas transportadoras. En una segunda etapa, se precipitan las proteínas transportadoras (de mayor peso molecular), y el IGF-I queda en

disolución. La recuperación de IGF-I tras este proceso de extracción es cercana al 100%. Sin embargo, la eliminación de IGFBP no es siempre completa, y quedan en el sobrenadante cantidades variables de estas proteínas. La eficiencia de este proceso de extracción es menor, sobre todo para la IGFBP-1 y la IGFBP-4. Con este método las IGFBP no son excluidas del análisis pero su función y su interferencia se neutralizan. Debido a la baja reactividad cruzada de los anticuerpos de IGF-I con IGF-2, el exceso de IGF-2 no reacciona con IGF-I.

El análisis de IGF-I se llevó a cabo mediante un ELISA de doble sandwich con dos anticuerpos específicos y de alta afinidad para la IGF-I. La IGF-I de la muestra se liga al primer anticuerpo inmovilizado en la placa de microvaloración tras lo que la enzima Streptavidin-Peroxidasa conjugada con biotina (biotinilada) liga la IGF-I inmovilizada como segundo anticuerpo anti-IGF-I. La reacción termina con un cambio de color altamente específico catalizado cuantitativamente dependiendo de los niveles de IGF-I en la muestra.

La recuperación es como media en diferentes muestras del 98,67% con una sensibilidad analítica de 0,09 ng/mL. El coeficiente de variación inter e intra ensayo es menor de 6,8% y 6,7% respectivamente. La calibración del ELISA con respecto a la referencia internacional de preparaciones de IGF-I de la OMS, NIBSC código 87/518 da un factor de conversión de 1,075.

El protocolo del análisis fue el siguiente:

13. Las muestras fueron diluidas en la solución tampón en la proporción 1/20.
14. Se añaden 80 µL de anticuerpo conjugado diluido en los pozos.
15. Se añaden 20 µL de la muestra de referencia y las muestras en los pozos.
16. Se sellan los pozos y se incuban durante una hora temperatura ambiente con un movimiento mayor a 350 rpm.
17. Tras la incubación, se aspira el contenido de los pozos y se lavan 3 veces con 250 µL de solución tapón.
18. Se añaden 100 µL de la enzima conjugada diluida en cada pozo.
19. Se cubre y se incuba la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente.
20. Tras la incubación, se aspira el contenido de los pozos y se lava 3 veces con 250 µL de solución tampón.
21. Se añaden 100 µL de solución substrato en cada pozo.
22. Se incuba la placa durante 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente.
23. Se para la reacción añadiendo 100 µL de solución finalizadora en todos los pozos.
24. Se mide la absorbancia durante los siguientes 30 minutos a 450 nm.

El lechón fue la unidad experimental.

Se utilizó R (*R: The R Project for Statistical Computing* 2015) como programa estadístico. Los niveles de IGF-I, el peso de los lechones en los diferentes días del estudio y su ganancia diaria fueron analizados mediante un análisis de la varianza de modelos mixtos de la librería lmer (Bates et al., 2014; Bates et al., 2015) mediante el modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + SEXO_i * DIA_l + TRATAMIENTO_j * DIA_l + PESO_k * DIA_l + TRATAMIENTO_j * PESO_k * DIA_l + LECHON_m + e_{ijklm}$$

donde Y_{ijklm} fue la variable analizada, de la combinación de sexo, tratamiento, grupo de peso y día, del sexo $SEXO_i$, del tipo de tratamiento $TRATAMIENTO_j$, del grupo de peso $PESO_k$ del día de estudio DIA_l , y del lechón $LECHON_m$ siendo e_{ijklm} el error experimental. Se consideró el tratamiento, grupo de peso y el día del estudio (DIA) como efectos fijos y el lechón (LECHON) como efecto aleatorio. Se utilizó la librería lsmeans (Lenth et al., 2015) de R para el cálculo de las medias mínimo cuadráticas y la librería ggplot2 (Wickham, H., 2009) para la realización de los gráficos.

La mortalidad fue analizada mediante regresión logística con la librería lm de R con el modelo:

$$Y_{jkl} = \mu + TRATAMIENTO_j * DIA_l + PESO_k * DIA_l + TRATAMIENTO_j * PESO_k * DIA_l + e_{jkl}$$

donde Y_{jkl} fue la variable analizada, de la combinación de tratamiento, grupo de peso y día, del tipo de tratamiento $TRATAMIENTO_j$, del grupo de peso $PESO_k$ del día de estudio DIA_l siendo e_{jkl} el error experimental.

La uniformidad de los lechones fue evaluada a partir de los coeficientes de variación de los pesos individuales de los lechones y sus diferencias entre los grupos de tratamiento fueron analizadas mediante un test F.

Para la variable principal del estudio, IGF-I siguiendo los resultados obtenidos por Carroll et al., (1998) y los mostrados por Bunter et al., (2005), 24 animales por grupo serían suficientes para obtener diferencias significativas de la media del 5%. Para el peso vivo, 50 animales por grupo permitirían obtener diferencias significativas en la media del 9%.

Los test usados fueron de dos colas con un error α del 5 % y se verificaron las condiciones de aplicación de los diferentes tests estadísticos.

4.4 Resultados

Durante la extracción de sangre en el primer día del estudio para cada lechón fallecieron 13 animales, 1 de gPPF2, 2 de gGly, 1 de gCN, 2 de pPPF1+1, 3 de pGly y 4 de pCN, siendo excluidos, evidentemente de todos los análisis.

Las Tabla 16 y Tabla 17 muestran los niveles de IGF-I de cada grupo de peso en los días 1, 7 y 20. No se encontraron diferencias entre los grupos de tratamiento en los días analizados cuando se analizaron por grupos de peso.

Tabla 16. Niveles de IGF-I (ng/mL) de lechones con peso vivo al nacimiento mayor o igual a 1,2 kg ($LSM \pm EE$).

	PPF2	PPF1+1	Gly	CN	Valor de p					
					1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
Día 1	59,49±5,67	64,49±5,74	65,74±5,77	60,12±5,76	0,537	0,440	0,938	0,878	0,593	0,490
Día 7	95,21±5,81	94,10±5,61	89,85±5,76	83,40±5,69	0,890	0,513	0,187	0,600	0,182	0,425
Día 20	75,08±5,67	79,44±5,68	81,50±5,77	78,79±6,06	0,587	0,427	0,655	0,800	0,938	0,746

Tabla 17. Niveles de IGF-I (ng/mL) de lechones con peso vivo al nacimiento menor de 1,2 kg ($LSM \pm EE$).

	PPF2	PPF1+1	Gly	CN	Valor de p					
					1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
Día 1	56,88±6,34	42,58±7,5	56,24±7,11	60,44±7,44	0,145	0,947	0,715	0,187	0,092	0,683
Día 7	72,44±6,34	78,38±7,21	74,76±6,98	68,62±7,29	0,535	0,806	0,693	0,719	0,342	0,543
Día 20	79,72±6,25	78,81±7,5	88,34±6,99	81,33±7,15	0,925	0,359	0,866	0,353	0,809	0,483

La Tabla 18 muestra los resultados de IGF-I cuando no se tuvieron en cuenta los grupos de peso. No se encontraron diferencias entre los grupos de tratamiento en los días analizados.

Tabla 18. Niveles de IGF-I (ng/mL) de lechones en los diferentes días del estudio ($LSM \pm EE$).

	PPF2	PPF1+1	Gly	CN	Valor de p					
					1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
Día 1	58,19±4,25	53,53±4,71	60,99±4,58	60,28±4,70	0,463	0,653	0,741	0,256	0,311	0,914
Día 7	83,83±4,30	86,24±4,55	82,31±4,52	76,01±4,62	0,700	0,808	0,216	0,540	0,115	0,330
Día 20	77,4±4,22	79,13±4,69	84,92±4,53	80,06±4,68	0,784	0,225	0,673	0,374	0,888	0,456

La Tabla 19 muestra los valores de IGF-I entre los grupos de pesos y los tratamientos por día. No se encontraron diferencias dentro de cada día y tratamiento para los diferentes grupos de peso.

Tabla 19. Niveles de IGF-I (ng/mL) de lechones por tratamiento, día y grupo de peso (LSM±EE).

Tratamiento	Día	Peso al nacimiento		Valor de p
		≥ 1,2 kg	< 1,2 kg	
PPF2	1	59,49±5,67	56,88±6,34	1,000
PPF1+1	1	64,49±5,74	42,58±7,50	0,806
Gly	1	65,74±5,77	56,24±7,11	1,000
CN	1	60,12±5,76	60,44±7,44	1,000
PPF2	7	95,21±5,81	72,44±6,34	0,559
PPF1+1	7	94,10±5,61	78,38±7,21	0,991
Gly	7	89,85±5,76	74,76±6,98	0,994
CN	7	83,40±5,69	68,62±7,29	0,996
PPF2	20	75,08±5,67	79,72±6,25	1,000
PPF1+1	20	79,44±5,68	78,81±7,50	1,000
Gly	20	81,50±5,77	88,34±6,99	1,000
CN	20	78,79±6,06	81,33±7,15	1,000

No hubo diferencias entre sexos en ninguno de los días de estudio en el valor de IGF-I. Únicamente se apreció el día 7 una tendencia estadística (p=0,103) a que los machos tuvieran mayor valor de IGF-I que las hembras (80,61±5,76 vs 66,70±6,18).

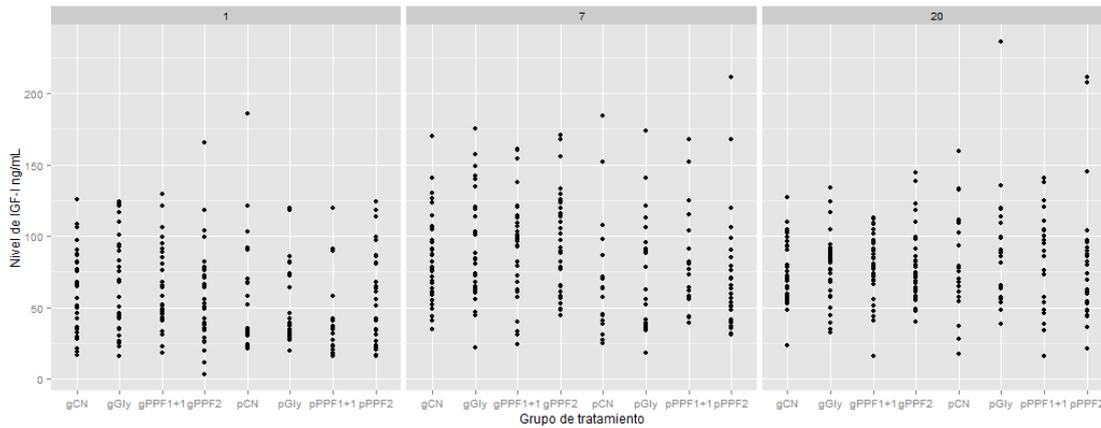
La Tabla 20 muestra los valores de IGF-I entre los grupos de peso y los diferentes días cuando no se consideraron los diferentes tratamientos. Los lechones de peso igual o mayor a 1,2 kg tuvieron mayor nivel de IGF-I a los 7 días de edad de forma significativa.

Tabla 20. Niveles de IGF-I (ng/mL) de lechones por día y grupo de peso (LSM±EE).

Día	Peso al nacimiento		Valor de p
	≥ 1,2 kg	< 1,2 kg	
1	62,46±2,87	54,03±3,56	0,436
7	90,64±2,86	73,55±3,48	0,002
20	78,70±2,90	82,05±3,49	0,977

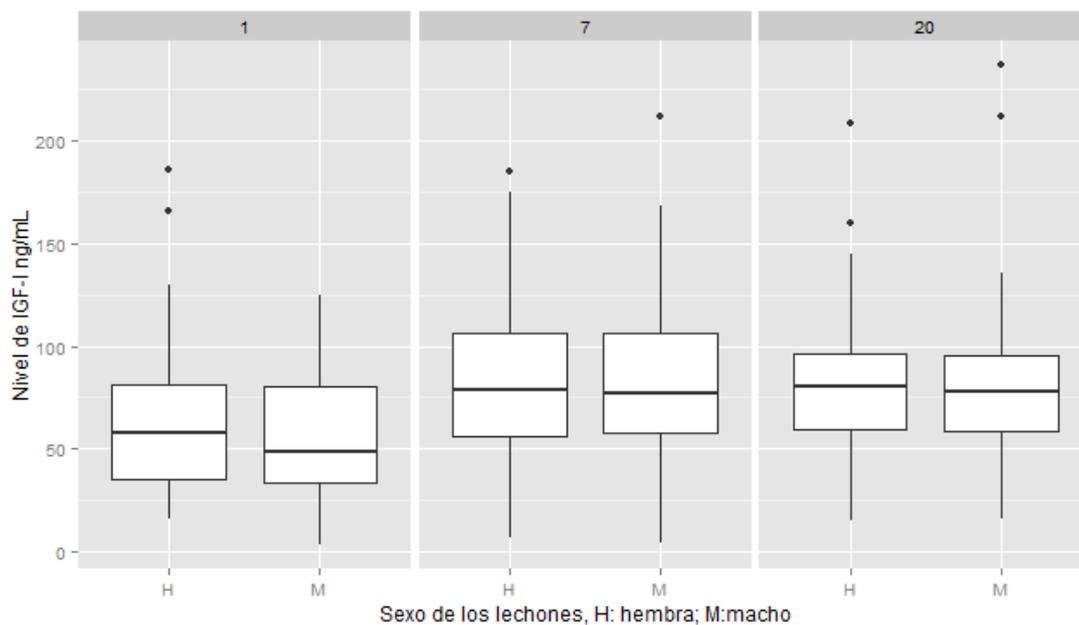
En la Figura 5 se muestran las distribuciones de los valores de IGF-I por grupos de tratamiento y días.

Figura 5. Distribución de los valores de IGF-I según los grupos de tratamiento y los días del estudio.



El sexo no tuvo ninguna influencia sobre los valores de IGF-I ni por tratamiento, ni por grupo de peso ni entre días y sus combinaciones. En la Figura 6 se muestra la distribución de los valores de IGF-I por sexo y días de tratamiento.

Figura 6. Distribución de los valores de IGF-I por sexo y día de tratamiento.



La mortalidad total se muestra en la Tabla 21. No se encontraron diferencias entre los grupos de tratamiento. Globalmente, la mortalidad fue mayor en los lechones con peso menor a 1,2 kg que en los lechones con peso mayor o igual a 1,2 kg ($p < 0,0001$) debido a que ésta fue mayor en el intervalo de estudio entre el día 1 y el 3 ($p < 0,05$). Para haber detectado una diferencia entre los grupos PPF2 y el CN se hubieran necesitado 285 lechones por tratamiento con una potencia del 80%.

Tabla 21. Porcentaje y número (entre paréntesis) de lechones muertos por intervalo de días de vida y grupo de tratamiento.

	TOTAL	PPF2	PPF1+1	Gly	CN
Total, %	12,33 (64)	9,70 (13)	13,39 (17)	10,94(14)	15,38 (20)
Del día 1 al 3, % (519) ¹	8,67 (45)	8,21 (11)	8,66 (11)	6,25(8)	11,54 (15)
Del día 4 al 7, % (474) ¹	1,69 (8)	0,81 (1)	1,72 (2)	1,67(2)	2,61 (3)
Del día 8 al 20, % (466) ¹	2,36 (11)	0,82 (1)	3,51 (4)	3,39(4)	1,79 (2)

Entre paréntesis se muestra el número de lechones que comenzó cada periodo.

La mortalidad por grupos de peso se muestra en las Tabla 22 y Tabla 23. Entre paréntesis se muestra el número de lechones que comenzó en cada periodo.

Tabla 22. Porcentaje y número (entre paréntesis) de lechones muertos con peso al nacimiento mayor o igual a 1,2 kg por intervalo de días y grupo de tratamiento.

	TOTAL	PPF2	PPF1+1	Gly	CN
Total, %	4,22 (13)	3,85 (3)	2,63 (2)	2,67 (2)	7,59 (6)
Del día 1 al 3, % (308) ¹	1,95 (6)	2,56 (2)	1,32 (1)	0,00 (0)	3,80 (3)
Del día 4 al 7, % (302) ¹	0,99 (3)	1,32 (1)	0,00 (0)	0,00 (0)	2,63 (2)
Del día 8 al 20, % (299) ¹	1,34 (4)	0,82 (0)	3,51 (1)	4 (2)	1,79 (1)

Entre paréntesis se muestra el número de lechones que comenzó cada periodo.

Tabla 23. Porcentaje y número (entre paréntesis) de lechones muertos con peso al nacimiento menor a 1,2 kg por intervalo de días y grupo de tratamiento.

	TOTAL	PPF2	PPF1+1	Gly	CN
Total, %	24,17 (51)	17,86 (10)	29,41 (15)	22,64 (14)	27,45 (12)
Del día 1 al 3, % (211) ¹	18,48 (39)	16,07 (9)	19,61 (10)	15,09 (8)	23,53 (12)
Del día 4 al 7, % (172) ¹	2,91 (5)	0,00 (0)	4,88 (2)	4,44 (2)	2,56 (1)
Del día 8 al 20, % (167) ¹	4,19 (7)	2,13 (1)	7,69 (3)	4,65 (2)	2,63 (1)

Entre paréntesis se muestra el número de lechones que comenzó cada periodo.

Las causas de la muerte de los lechones fueron por aplastamiento, 58% y 36 % para los lechones de peso al nacimiento mayor o igual a 1,2 kg y los de menos de 1,2 kg respectivamente y por

inanición, 45% y 64% respectivamente no encontrándose diferencias significativas entre los grupos de tratamiento en ambos casos.

El peso vivo se muestra en las Tabla 24 y Tabla 25. No se observaron diferencias significativas en ningún grupo de tratamiento en ambos grupos de pesos de lechones.

Tabla 24. Evolución del peso vivo de los lechones con peso al nacimiento mayor o igual a 1,2 kg (Medias mínimo cuadráticas, LSM).

	Peso inicial mayor a 1.2 kg				EE ¹	Valor de p					
	PPF2	PPF1+1	Gly	CN		1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
Día 1	1.6	1.6	1.6	1.6	0.1	0.833	0.997	0.952	0.836	0.786	0.949
Día 2	1.8	1.8	1.8	1.8	0.2	0.968	0.950	0.892	0.981	0.922	0.941
Día 3	2.1	2.1	2.1	2.0	0.1	0.962	0.914	0.783	0.952	0.819	0.866
Día 7	2.9	2.9	2.9	2.9	0.1	0.599	0.512	0.806	0.897	0.781	0.684
Día 20	5.9	5.8	5.8	5.9	0.1	0.256	0.315	0.682	0.895	0.470	0.554

¹ES: Error Estándar de la media

Tabla 25. Peso vivo de los lechones con peso al nacimiento menor a 1,2 kg.

	Peso inicial menor a 1.2 kg				EE ¹	Valor de p					
	PPF2	PPF1+1	Gly	CN		1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
Día 1	1.0	1.0	1.0	1.0	0.1	0.943	0.911	0.787	0.969	0.844	0.873
Día 3	1.3	1.3	1.2	1.2	0.1	0.977	0.605	0.604	0.637	0.635	0.987
Día 7	1.9	1.9	1.8	1.9	0.1	0.836	0.586	0.658	0.749	0.820	0.932
Día 20	4.2	4.3	4.2	4.2	0.1	0.459	0.951	0.991	0.505	0.472	0.945

¹ES: Error Estándar de la media

La ganancia media diaria se muestra en la Tabla 26 y Tabla 27. No se observaron diferencias significativas en ningún grupo de tratamiento en ambos grupos de pesos de lechones. Los lechones de peso mayor o igual a 1,2 kg tuvieron una ganancia media mayor a lo largo del estudio que los lechones con peso menor a 1,2 kg (p<0,05).

Tabla 26. Ganancia media diaria (g/d) de los lechones con peso al nacimiento mayor o igual a 1,2 kg. (LSM)

	Peso inicial mayor a 1.2 kg				EE ¹	Valor de p					
	gPPF2	gPPF1+1	gGly	gCN		1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
Día 1 a 3	143	134	138	133	7	0.371	0.637	0.336	0.672	0.928	0.607
Día 1 a 7	189	179	179	186	6	0.256	0.294	0.751	0.926	0.416	0.468
Día 3 a 7	230	225	224	229	7	0.653	0.564	0.895	0.899	0.753	0.659
Día 7 a 20	216	209	211	214	6	0.451	0.597	0.828	0.823	0.595	0.758

¹ES: Error Estándar de la media

Tabla 27. Ganancia media diaria (g/d) de los lechones con peso al nacimiento menor a 1,2 kg.

	Peso inicial menor a 1.2 kg				ES ¹	Valor de p					
	pPPF2	pPPF1+ 1	pGly	pCN		1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
Día 1 a 3	88	97	73	89	9	0.474	0.221	0.947	0.059	0.532	0.214
Día 1 a 7	127	124	119	125	8	0.789	0.527	0.901	0.732	0.893	0.632
Día 3 a 7	177	184	181	180	10	0.639	0.749	0.815	0.877	0.822	0.940
Día 7 a 20	160	160	161	162	8	0.601	0.869	0.827	0.723	0.772	0.954

¹ES: Error Estándar de la media

Se calculó la uniformidad del peso vivo de los lechones en el día 20 del estudio a través de la desviación estándar del peso vivo. La desviación estándar de los pesos fue de 1,22; 1,29; 1,14 y 1,18 para los grupos de tratamiento gPPF2, gPPF1+1, gGly y gCN y de 1,12; 0,90; 0,98 y 0,87 para los grupos de tratamiento pPPF2, pPPF1+1, gGly y gCN. No hubo diferencias entre los tratamientos a día 20. Los resultados se muestran en la Tabla 28.

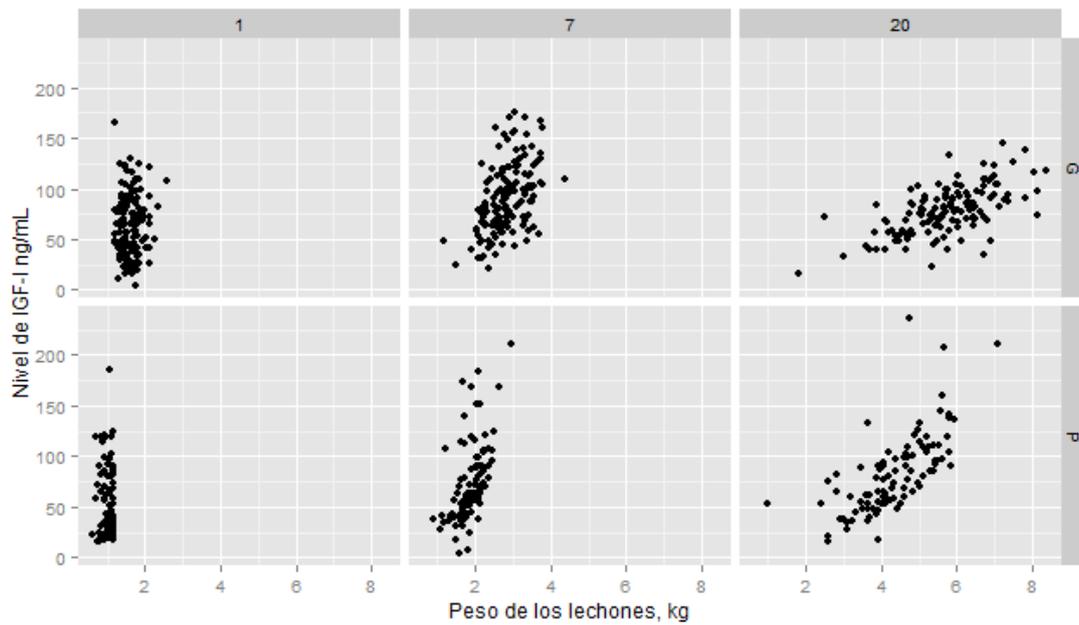
Tabla 28. Uniformidad mediante la comparación de las desviaciones estándar de los pesos vivos de los lechones a día 20 del experimento.

	Lechones con peso vivo al nacimiento mayor o igual a 1,2 kg		Lechones con peso vivo al nacimiento menor a 1,2 kg	
	Ratio varianzas	Valor p	Ratio varianzas	Valor p
PPF2 vs PPF1+1	0,95	0,643	1,25	0,173
PPF2 vs Gly	1,07	0,556	1,14	0,410
PPF2 vs CN	1,04	0,745	1,29	0,116
PPF1+1 vs Gly	1,13	0,295	0,91	0,570
PPF1+1 vs CN	1,10	0,433	1,03	0,848
Gly vs CN	0,97	0,795	1,14	0,440

No se apreciaron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon las desviaciones estándar de los pesos vivos en el día 20 del experimento en los diferentes tratamientos aunque la comparación entre el tratamiento PPF 2 mL frente al Control – estuvo cerca de la tendencia estadística ($p = 0,116$).

Hubo una correlación significativa entre el peso y el nivel de IGF-I entre los tratamientos ($r = 0,36$; $r = 0,37$; $r = 0,29$ y $r = 0,32$ con $p < 0,001$ en todos los casos para PPF2, PPF1+1, Gly y CN respectivamente) y entre la ganancia media diaria y el nivel de IGF-I entre los tratamientos ($r = 0,58$; $r = 0,53$; $r = 0,40$ y $r = 0,47$ con $p < 0,001$ en todos los casos para PPF2, PPF1+1, Gly y CN respectivamente) tanto si consideramos los grupos de peso como no. La Figura 7 muestra la correlación entre el peso y el valor de IGF-I por grupos de peso y tratamientos y la Figura 8 muestra la correlación entre la ganancia media diaria y el valor de IGF-I por grupos de peso y tratamiento.

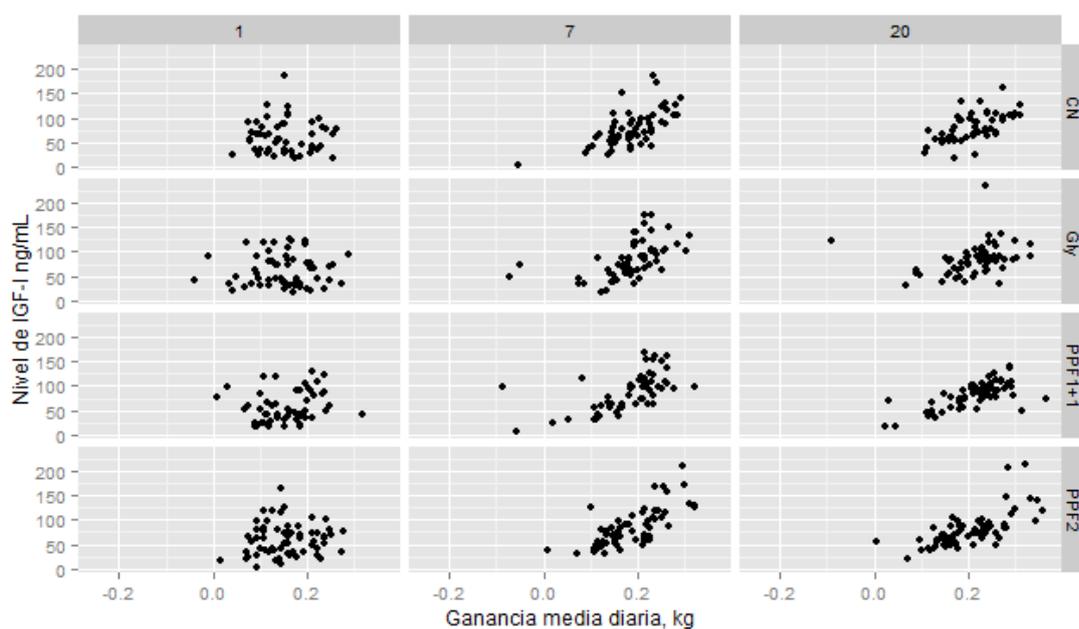
Figura 7. Correlación entre el peso de los lechones y el valor de IGF-I en los diferentes días y por grupos de peso.



G: Lechones de peso a nacimiento mayor o igual a 1,2 kg;

P: Lechones de peso a nacimiento menor a 1,2 kg.

Figura 8. Correlación entre la ganancia media diaria y el valor de IGF-I en los diferentes días y por tratamiento.



4.5 Discusión.

El objetivo de este estudio fue comprobar si a través del suministro de un producto nutricional se modificaban los niveles de IGF-I no mediante un incremento de la ingesta de proteína (debido a la composición del producto) sino a través de que el animal produjera más IGF-I y por ello incrementase el peso de los lechones al destete.

La nutrición es uno de los principales factores que regulan la circulación de IGF-I (Thissen et al., 1994; Thissen et al., 1999). Tanto la energía como la proteína son críticas en la regulación del nivel circulante de IGF-I (Isley et al., 1983) pero tras un periodo de ayuno o desnutrición, la energía es más importante que la proteína para recuperar los niveles de IGF-I (Isley et al., 1984). Además el origen de la energía es también importante en la regulación de los niveles de IGF-I (Snyder et al., 1989) y es por ello por lo que en este estudio se eligió el glicerol como control positivo. El glicerol en el organismo proviene de la lipólisis y al fosforilarse se obtiene glicerol-3-fostato que es la lanzadera principal del ciclo de Krebs (Nelson et al., 2005)

Los niveles de IGF-I en este estudio se incrementaron entre el día 1 y 7 del estudio tanto en el grupo de los lechones nacidos con peso igual o superior a 1,2 kg como en el grupo de lechones nacidos con peso inferior a 1,2 kg de forma muy significativa confirmando lo observado por Fliesen et al., (1989) y por Pan et al. (2012) en el que describen que los niveles de IGF-I son dependientes de la edad. Si este incremento refleja un incremento en la disponibilidad o en la capacidad de fijación del receptor de GH queda fuera del ámbito de este estudio. No obstante, Schnoebelen-Combes et al., (1996) demostraron un incremento en la capacidad de fijación del receptor de GH entre el día de nacimiento y los 11 días de edad en lechones.

En este estudio la correlación entre los niveles de IGF-I y la edad o el peso de los lechones fue significativa, como puede apreciarse en las Figura 7 y Figura 8. Dentro de cada grupo de edad, a mayor peso, mayor nivel de IGF-I tenían los lechones reflejando un mayor consumo de energía y proteína. Posteriormente entre el día 7 y el 20 del estudio los niveles de IGF-I descendieron pero sólo de forma significativa en los lechones nacidos con peso igual o superior a 1,2 kg. Bunter et al., (2005) encontraron correlaciones positivas significativas entre los valores de IGF-I y la ganancia diaria en lechones de poca edad aunque posteriormente, conforme se incrementa la edad de los cerdos, esta correlación se hace negativa.

Los niveles de IGF-I son alterados por el estatus nutricional (Thissen et al., 1994) y bajas ganancias

de peso en animales lactantes han sido asociadas con niveles bajos de IGF-I (Louveau et al., 2002) valores que se confirmaron en nuestro estudio.

Ninguno de los dos tratamientos (PPF2 o PPF1+1) suministrados a los lechones durante las primeras 12 h d vida modificaron en este estudio los valores de IGF-I en el plasma tanto en el grupo de animales considerados grandes ($\geq 1,2$ kg) como en el grupo de los pequeños ($< 1,2$ kg) respecto al control negativo. Tampoco el grupo del control positivo (Gly) modificó los valores de IGF-I. Cuando se compararon los lechones grandes y pequeños por días de tratamiento sin tener en cuenta el grupo de tratamiento, los lechones grandes tuvieron mayor nivel de IGF-I el día 7 del estudio ($90,64 \pm 2,86$ vs $73,55 \pm 3,48$; $p=0,002$) coincidiendo con lo encontrado por Buonomo (1991), Thissen (1994), Schoknecht (1997), Louveau (2000) y Louveau (2002).

Cuando se compararon los niveles de IGF-I en los lechones grandes ($>1,2$ kg) según los días de tratamiento, los niveles de IGF-I a día 7 fueron mayores en los tratamientos con PPF aunque no fueron estadísticamente significativos ($95,21 \pm 5,81$; $94,10 \pm 5,61$ y $83,40 \pm 5,69$ para PPF2, PPF1+1 y CN respectivamente). Estas diferencias no se apreciaron en los lechones pequeños. Si se hubieran extraído muestras de sangre a 192 lechones grandes por grupo de tratamiento en vez de a 24 lechones, se habrían detectado diferencias estadísticamente significativas en el grupo de los lechones grandes. En cambio para el grupo de los lechones pequeños hubieran sido necesarias 2627 muestras. El bajo número de muestras para el análisis de IGF-I fue debido a que este estudio fue un estudio inicial en la investigación de PPF y al limitado presupuesto que se tenía para la realización de estos estudios.

Existen poca información de la regulación de los receptores de GH e IGF-I durante el periodo neonatal asociado a numerosos cambios en los niveles de IGF-I que regularán el crecimiento y posterior desarrollo de los lechones (Louveau et al., 2002). Según el concepto de programación metabólica, alterando la nutrición en el periodo temprano del desarrollo se ven alterados el desarrollo de órganos y tejidos del organismo y pueden predisponer al mismo a desórdenes metabólicos en el subsecuente desarrollo (Dauncey, 1997; Lucas, 1998).

IGF-I regula el desarrollo celular y por lo tanto participa en el desarrollo muscular tanto prenatal como postnatal en el cerdo (Oksbjerg et al., 2004) y también participa en el desarrollo del tejido adiposo (Louveau et al., 2004; Miner, 2004; Gardan et al., 2008). Aunque el número de células musculares viene fijado durante la gestación, la hipertrofia de las miofibrillas se desarrolla en el periodo postnatal. Las células musculares producen IGFs e IGFbps en varios niveles dependiendo

del origen (especie y tipo muscular) y del estado de desarrollo de esas células con un modo de acción paracrina y autocrina de los factores relacionados con IGF. IGF-I en el periodo postnatal estimula la síntesis de proteína e inhibe la degradación de la misma con la que se incrementa la hipertrofia muscular y por ende, el peso vivo del animal (Oksbjerg et al., 2004; Paredes et al., 2013). Cerdos que crecen rápido con poca grasa corporal tienen niveles de IGF-I plasmático altos (Whang et al., 2003) estando además correlacionada la deposición proteica con los niveles plasmáticos de IGF-I como demostraron Taylor et al., (1992) y Whang (2003).

IGF-I estimula también tanto la absorción de glucosa como de aminoácidos por parte del músculo incrementando la síntesis proteica (Davis et al., 2002) contribuyendo de esta forma directa y también indirecta a la mayor vascularización de los músculos (Oksbjerg et al., 1994).

Schoknecht et al., (1997) mediante la infusión de IGF-I humana a lechones nacidos con bajo peso lograron un mayor nivel de IGF-I y una mayor deposición tanto proteica como grasa demostrando que los niveles incrementales de IGF-I en lechones neonatos podrían estar relacionados con mayores crecimientos.

Los datos de este estudio concuerdan con los hallados por Louveau et al (2002) donde encontraron que una reducción en el consumo de leche provocada al alimentar a lechones de forma manual con diferentes niveles de alimentación, daba como resultado una disminución en el nivel de IGF-I aunque los niveles de IGF-I que encontraron a los 24 días del estudio estuvieron en un rango entre 20 y 40 ng/mL cuando en este estudio estos niveles fueron entre 70 y 80 ng/mL. Probablemente la variación de la técnica de análisis de IGF-I haya dado esas diferencias en cuanto al rango de IGF-I. Estas observaciones concuerdan también con las respuestas a la privación de alimento o restricción del mismo en diferentes especies (Thissen et al., 1994) incluyendo a los cerdos (Buonomo et al., 1991; Louveau et al., 2000). Los mismos autores, en el mismo estudio simulando diferentes tamaños de camada con el fin de simular mayores o menores ingestas de leche materna, encontraron que los lechones que pertenecían a camadas numerosas tenían menores niveles de IGF-I en sangre. Nuestros resultados coinciden con los resultados de Louveau et al., en 2002: bajos crecimientos están asociados a menores niveles de IGF-I pero siendo significativos en nuestro caso solamente el día 7 del estudio.

Katsumata et al., (2004), estudiando si los niveles de treonina afectaba a las concentraciones plasmáticas de IGF-I en cerdos de engorde, encontraron que niveles bajos de treonina provocaban inferiores niveles de IGF-I y lo atribuyeron en parte a una mayor tasa de depuración de la IGF-I y

no a una disminución de la expresión del gen IGF-I en el hígado.

Morise et al., (2011) expusieron a lechones lactantes con peso normal (1,28 a 1,58 kg) o bajo al nacimiento (0,76 a 1,12 kg) a dietas normales o altas en proteínas durante 3 semanas y no encontrando diferencias en la concentración de IGF-I o de la expresión de los genes del sistema IGF, pero sí en la concentración de leptina en los lechones alimentados con la dieta alta en proteína. Sin embargo Schoknecht et al., (1997) mediante la dosificación de IGF-I humana a lechones neonatos con crecimiento intrauterino retardado provocado, observaron que el crecimiento se vio incrementado así como la deposición de proteína y grasa. Boudry et al., (2008) y (2010) alimentaron lechones destetados con calostro desecado bovino o leche bovina desecada y encontraron que los lechones que consumía calostro, tuvieron mayor crecimiento y mayor nivel de IGF-I.

Paredes et al., (2013) encontraron que en cerdos de alto rendimiento (26,8 a 30,9 kg a la edad de 10 semanas) frente a cerdos con bajo rendimiento (16,0 a 22,9 kg a la edad de 10 semanas), los valores de IGF-I eran 1,27 mayores que los autores atribuyen a una mayor expresión de mRNA de IGF-II (siendo tanto IGF-I como II los principales estimuladores de la síntesis proteica).

La alta variabilidad de los niveles de IGF-I en este estudio coincide con otros autores. Luxford et al., (1998) realizando un estudio sobre la viabilidad de usar los niveles de IGF-I como predictor en la selección genética porcina ya encontró una alta variabilidad en los errores estándar confirmando los resultados obtenidos anteriormente por Hossner et al., (1997) y posteriormente los de Harrell, et al., (1999). Estos autores junto con Bunter et al., (2005) sugieren que estas variaciones pueden ser debidas a influencias del medio ambiente sobre los lechones o a mecanismos ontogénicos en los mismos. Es también importante señalar que en el corto espacio de tiempo de una lactación (21 a 28 días) la modificación porcentual de la composición del cuerpo del lechón y su influencia sobre los niveles de IGF-I hagan que haya *per se* una alta variabilidad en los niveles de IGF-I.

Si el dimorfismo sexual a nivel de la circulación de la hormona del crecimiento (GH) es el responsable de los diferentes crecimientos de machos y hembras, cabría pensar que los niveles de IGF-I fueran diferentes en machos que en hembras (Gatford et al., 1998) pero estas diferencias sólo se evidencian a partir de los 45 días de edad como demostró Louveau et al., (1991) siendo mayores en machos que en hembras atribuyendo las mismas a los efectos esteroides sexuales del macho. Carroll et al., (1998) tampoco encontraron diferencias en el nivel de IGF-I entre lechones machos y hembras en un estudio que abarcó hasta la tercera semana de edad de los lechones. No se han

encontrado en este estudio diferencias en cuanto al valor de IGF-I según el sexo de los lechones en ningún día (1, 7 y 20) ni por grupo de peso ni por tratamiento.

La mortalidad de los lechones no fue diferente entre los grupos de tratamiento globalmente ni cuando se tuvo en cuenta los grupos de peso de los lechones, pero si fue diferente entre los grupos de peso cuando no se tuvo en cuenta el tratamiento confirmando lo encontrado por Varley, (1995), Rehfeldt et al., (2006), Morise et al., (2008), Morise et al., (2009) y D'Inca et al., (2011) por lo que el tratamiento con PPF no redujo en este estudio la mortalidad de los lechones de bajo peso.

Las variaciones en cuanto a los niveles de IGF-I en lechones de la misma edad en otros estudios puede deberse a la determinación de IGF-I. El mayor problema para la determinación de IGF-I es su unión de alta afinidad con las proteínas transportadoras (IGFBPs) que interfiere en la unión con los anticuerpos del inmunoanálisis (Granada Ybern, 2006). Las determinaciones directas de muestras de plasma no tratadas previamente dan lugar a valores erróneos debido a la baja disociación de los complejos IGF-I/IGFBP3 durante el ensayo. Dependiendo de la proporción entre IGF-I e IGFBP en la muestra, la interferencia se incrementa por lo que varias técnicas han sido usadas para separar físicamente IGF-I de sus proteínas transportadoras antes de su análisis. Estas técnicas incluyen la extracción mediante cromatografía de gel filtración con columna de Sephadex, cromatografía en fase sólida, bloqueo de IGFBP con exceso de IGF-II, la ultracentrifugación y la precipitación con ácido-etanol descrita inicialmente por (Daughaday, 1987). La cromatografía de gel filtración con columna de Sephadex es el método de referencia aunque, debido a su complejidad metodológica y el gran volumen de muestra necesario, no es aplicable en el laboratorio clínico. La precipitación con ácido-etanol es el más utilizado en inmunoanálisis manuales, mientras que el bloqueo de IGFBP mediante exceso de IGF-II es el principal método adaptado a los inmunoanálisis automatizados.

4.6 Conclusiones e implicaciones.

Bajo las condiciones de este estudio, el suministro de un suplemento alimenticio de proteína de patata fermentada antes de las 24 h de vida del lechón o bien de glicerol, no modifica el nivel de IGF-I de los lechones a lo largo de la lactancia de los mismos. Ni el peso ni la ganancia diaria ni la mortalidad, sobre todo en los lechones pequeños, se han visto modificadas. Esta falta de respuesta puede ser debida a que i) la cantidad de proteína suministrada no fue suficiente para realizar la modificación de los niveles de IGF-I, ii) la proteína de patata fermentada no modifica de la producción de IGF-I ó iii) los mecanismos involucrados en la producción de IGF-I no son capaces a tan temprana edad de verse modificados nutricionalmente.

Se ha confirmado la alta variabilidad del nivel de IGF-I en lechones tanto al nacimiento como antes de su destete y que los niveles de IGF-I son edad y peso dependientes en esta fase de vida del lechón.

El momento en que se estudia los niveles de IGF-I en los lechones es importante dado que estos niveles están afectados tanto por la ontología de los lechones como por el estado fisiológico de los mismos. El conocimiento del comportamiento de IGF-I en la producción porcina es importante debido a que sus concentraciones están relacionadas con animales más magros y más eficientes en la producción.

Las técnicas de análisis de IGF-I deben ser mejoradas y optimizadas para permitir a la industria análisis más rápidos, menos variables, más eficientes y menos costosos económicamente.

4.7 Bibliografía.

- Bates, Douglas, Martin Mächler, Ben Bolker, y Steve Walker. 2014. «Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4.» *arXiv:1406.5823 [stat]*, junio. <http://arxiv.org/abs/1406.5823>.
- Bates, Douglas, Martin Maechler, Ben Bolker, Steven Walker, Rune Haubo Bojesen Christensen, Henrik Singmann, Bin Dai, y Gabor Grothendieck. 2015. *lme4: Linear Mixed-Effects Models using «Eigen» and S4* (versión 1.1-9). <https://cran.r-project.org/web/packages/lme4/index.html>.
- Booth, Ronald A, Cathy Cummings, Mario Tiberi, y X Johné Liu. 2002. «GIPC participates in G protein signaling downstream of insulin-like growth factor 1 receptor.» *The Journal of Biological Chemistry* 277 (8): 6719-25. doi:10.1074/jbc.M108033200.
- Boudry, C., J.-P. Dehoux, F.G. Colinet, J. Wavreille, D. Portetelle, Y. Beckers, y A. Théwis. 2010. «Effect of Bovine Colostrum on the Serum Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I), the IGF Binding Proteins-2 and -3 and the Thyroid Hormones in Weaning Piglets.» *Archiv Fur Tierzucht* 53 (6): 675-88.
- Boudry, C., J.-P. Dehoux, D. Portetelle, y A. Buldgen. 2008. «Bovine Colostrum as a Natural Growth Promoter for Newly Weaned Piglets: A Review.» *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment* 12 (2): 157-70.
- Bunter, K. L., S. Hermes, B. G. Luxford, H. -U Graser, y R. E. Crump. 2005. «Insulin-like growth factor-I measured in juvenile pigs is genetically correlated with economically important performance traits.» *Australian Journal of Experimental Agriculture* 45 (7-8): 783-92.
- Buonomo, F.C., y C.A. Baile. 1991. «Influence of nutritional deprivation on insulin-like growth factor I, somatotropin, and metabolic hormones in swine.» *Journal of animal science* 69 (2): 755-60.

- Burrin, D.G., T.A. Davis, M.L. Fiorotto, y P.J. Reeds. 1997. «Role of Milk-Borne vs Endogenous Insulin-Like Growth Factor I in Neonatal Growth.» *Journal of Animal Science* 75 (10): 2739-43.
- Carroll, J.A., T.L. Veum, y R.L. Matteri. 1998. «Endocrine responses to weaning and changes in post-weaning diet in the young pig.» *Domestic Animal Endocrinology* 15 (3): 182-94.
- Daughaday, J.J. W.H., Hall, K., Salmon Jr., W.D., Van den Brande, J.L., Van Wyk. 1987. «On the nomenclature of the somatomedins and insulin-like growth factors.» *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 65 (5): 1075-76.
- Dauncey, M. J. 1997. «From Early Nutrition and Later Development ... to Underlying Mechanisms and Optimal Health.» *The British Journal of Nutrition* 78 Suppl 2 (noviembre): S113-23.
- Davis, T. A., M. L. Fiorotto, D. G. Burrin, R. C. Vann, P. J. Reeds, H. V. Nguyen, P. R. Beckett, y J. A. Bush. 2002. «Acute IGF-I infusion stimulates protein synthesis in skeletal muscle and other tissues of neonatal pigs.» *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 283 (4 46-4): E638-47.
- de Blas, Carlos de Blas, Gonzalo González Mateos, y Pilar García Rebollar. 2003. *Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos*. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.
- D’Inca, R., C. Gras-Le Guen, L. Che, P.T. Sangild, y I. Le Huërou-Luron. 2011. «Intrauterine Growth Restriction Delays Feeding-Induced Gut Adaptation in Term Newborn Pigs.» *Neonatology* 99 (3): 208-16. doi:10.1159/000314919.
- Donovan, S.M., J.L. Hartke, M.H. Monaco, y M.B. Wheeler. 2004. «Insulin-like Growth Factor-I and Piglet Intestinal Development.» *Journal of Dairy Science* 87 (SUPPL. 1): E47-54. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)70060-0.
- Dunshea, F.R., D. Suster, D.J. Kerton, y B.J. Leury. 2003. «Exogenous Porcine Somatotropin Administered to Neonatal Pigs at High Doses Can Alter Lifetime Fat but Not Lean Tissue Deposition.» *British Journal of Nutrition* 89 (6): 795-801. doi:10.1079/BJN2003843.
- Fliesen, Therese, Dominique Maiter, Guy Gerard, Louis E. Underwood, Marc Maes, y Jean-Marie Ketelslegers. 1989. «Reduction of Serum Insulin-like Growth Factor-I by Dietary Protein Restriction Is Age Dependent.» *Pediatric Research* 26 (5): 415-19. doi:10.1203/00006450-198911000-00010.
- Gardan, D., J. Mourot, y I. Louveau. 2008. «Decreased Expression of the IGF-II Gene during Porcine Adipose Cell Differentiation.» *Molecular and Cellular Endocrinology* 292 (1-2): 63-68. doi:10.1016/j.mce.2008.06.015.
- Gatford, K. L., A. R. Egan, I. J. Clarke, y P. C. Owens. 1998. «Sexual Dimorphism of the Somatotrophic Axis.» *Journal of Endocrinology* 157 (3): 373-89. doi:10.1677/joe.0.1570373.
- Gill, Pinder. 2007. «Managing reproduction—critical control points in exceeding 30 pigs per sow per year.» En *Proceedings of the London swine conference*, 171-84.

http://www.londonwineconference.ca/proceedings/2007/LSC2007_PGill2.pdf.

- Gondret, F., L. Lefaucheur, I. Louveau, B. Lebret, X. Pichodo, y Y. Le Cozler. 2005. «Influence of piglet birth weight on postnatal growth performance, tissue lipogenic capacity and muscle histological traits at market weight.» *Livestock Production Science* 93 (2): 137-46.
- Granada Ybern, María Luisa. 2006. «Factor de crecimiento similar a la insulina y sus proteínas de transporte.» *Endocrinología y Nutrición* 53 (7): 467-75. doi:10.1016/S1575-0922(06)71133-0.
- Harrell, R. J., M. J. Thomas, R. D. Boyd, S. M. Czerwinski, N. C. Steele, y D. E. Bauman. 1999. «Ontogenic maturation of the somatotropin/insulin-like growth factor Axis.» *Journal of animal science* 77 (11): 2934-41.
- Hossner, K. L., R. H. McCusker, y M. V. Dodson. 1997. «Insulin-like growth factors and their binding proteins in domestic animals.» *Animal Science* 64 (1): 1-15.
- Isley, W L, L E Underwood, y D R Clemmons. 1983. «Dietary components that regulate serum somatomedin-C concentrations in humans.» *Journal of Clinical Investigation* 71 (2): 175-82.
- Isley, W. L., L. E. Underwood, y D. R. Clemmons. 1984. «Changes in Plasma Somatomedin-C in Response to Ingestion of Diets with Variable Protein and Energy Content.» *JPEN. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 8 (4): 407-11.
- Kammersgaard, T. S., L. J. Pedersen, y E. Jorgensen. 2011. «Hypothermia in Neonatal Piglets: Interactions and Causes of Individual Differences.» *Journal of Animal Science* 89 (7): 2073-85. doi:10.2527/jas.2010-3022.
- Katsumata, M., S. Kawakami, Y. Kaji, y R. Takada. 2004. «Circulating levels of insulin-like growth factor-1 and associated binding proteins in plasma and mRNA expression in tissues of growing pigs on a low threonine diet.» *Animal Science* 79 (1): 85-92.
- Lenth, Russell V., y Maxime Hervé. 2015. *lsmeans: Least-Squares Means* (versión 2.19). <https://cran.r-project.org/web/packages/lsmeans/index.html>.
- Louveau, I., M. Bonneau, y D. N. Salter. 1991. «Age-related changes in plasma porcine growth hormone (GH) profiles and insulin-like growth factor-I (IGF-I) concentrations in Large White and Meishan pigs.» *Reproduction Nutrition Development* 31 (3): 205-16.
- Louveau, I., M.J. Dauncey, y J. Le Dividich. 2000. «Regulation of Development by Nutrition and by the Somatotrophic and Thyroid Axes in the Neonatal Pig.» *Livestock Production Science* 66 (2): 121-31. doi:10.1016/S0301-6226(00)00219-0.
- Louveau, I., y F. Gondret. 2004. «Regulation of development and metabolism of adipose tissue by growth hormone and the insulin-like growth factor system.» *Domestic animal endocrinology* 27 (3 SPEC. ISS.): 241-55.
- Louveau, I., y J. Le Dividich. 2002. «GH and IGF-I Binding in Adipose Tissue, Liver, and Skeletal Muscle in Response to Milk Intake Level in Piglets.» *General and Comparative*

Endocrinology 126 (3): 310-17. doi:10.1016/S0016-6480(02)00006-0.

- Lucas, A. 1998. «Programming by Early Nutrition: An Experimental Approach.» *The Journal of Nutrition* 128 (2 Suppl): 401S - 406S.
- Luxford B. G., K. L. Bunter. 1998. «Use of IGF-1 as a selection criteria in pig breeding.» En *AGBU Pig Genetics Workshop*: 935-41.
- Mitchell, Alva D., Timothy G. Ramsay, Thomas J. Caperna, y Armin M. Scholz. 2012. «Body composition of piglets exhibiting different growth rates.» *Archives of Animal Breeding* 55 (4): 356-63.
- Morise, A., I. Louveau, y I. Le Huërou-Luron. 2008. «Growth and development of adipose tissue and gut and related endocrine status during early growth in the pig: Impact of low birth weight.» *Animal* 2 (1): 73-83.
- Morise, A., B. Sève, K. Macé, C. Magliola, I. Le Huërou-Luron, y I. Louveau. 2009. «Impact of intrauterine growth retardation and early protein intake on growth, adipose tissue, and the insulin-like growth factor system in piglets.» *Pediatric research* 65 (1): 45-50.
- Morise, A., B. Sève, K. MacÉ, C. Magliola, I. Le Hurou-Luron, y I. Louveau. 2011. «Growth, body composition and hormonal status of growing pigs exhibiting a normal or small weight at birth and exposed to a neonatal diet enriched in proteins.» *British Journal of Nutrition* 105 (10): 1471-79.
- Nelson, D, John Boyle, y Cox.M. 2005. «Lehninger Principles of Biochemistry.» *Biochemistry and Molecular Biology Education* 33 (1): 74-75. doi:10.1002/bmb.2005.494033010419.
- Oksbjerg, N., F. Gondret, y M. Vestergaard. 2004. «Basic principles of muscle development and growth in meat-producing mammals as affected by the insulin-like growth factor (IGF) system.» *Domestic Animal Endocrinology* 27 (3 SPEC. ISS.): 219-40. doi:10.1016/j.domaniend.2004.06.007.
- Oksbjerg, Niels, Poul Henckel, y Tim Rolph. 1994. «Effects of Salbutamol, a β 2-Adrenergic Agonist, on Muscles of Growing Pigs Fed Different Levels of Dietary Protein: I. Muscle Fibre Properties and Muscle Protein Accretion.» *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A — Animal Science* 44 (1): 12-19. doi:10.1080/09064709409410176.
- Pan, Zengxiang, Junlei Zhang, Jinbi Zhang, Bo Zhou, Jie Chen, Zhihua Jiang, y Honglin Liu. 2012. «Expression Profiles of the Insulin-like Growth Factor System Components in Liver Tissue during Embryonic and Postnatal Growth of Erhualian and Yorkshire Reciprocal Cross F1 Pigs.» *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 25 (7): 903-12. doi:10.5713/ajas.2011.11385.
- Paredes, S.P., C. Kalbe, A.J.M. Jansman, M.W.A. Verstegen, H.M.J. Van Hees, D. Lösel, W.J.J. Gerrits, y C. Rehfeldt. 2013. «Predicted High-Performing Piglets Exhibit More and Larger Skeletal Muscle Fibers.» *Journal of Animal Science* 91 (12): 5589-98. doi:10.2527/jas2013-6908.
- Rehfeldt, C., y G. Kuhn. 2006. «Consequences of birth weight for postnatal growth performance

and carcass quality in pigs as related to myogenesis.» *Journal of animal science* 84 Suppl.

Renaville, R., M. Hammadi, y D. Portetelle. 2002. «Role of the somatotropic axis in the mammalian metabolism.» *Domestic animal endocrinology* 23 (1-2): 351-60.

R: *The R Project for Statistical Computing*. 2015. Accedido agosto 22. <https://www.r-project.org/>.

Schnoebelen-Combes, S., I. Louveau, M.-C. Postel-Vinay, y M. Bonneau. 1996. «Ontogeny of GH Receptor and GH-Binding Protein in the Pig.» *Journal of Endocrinology* 148 (2): 249-55. doi:10.1677/joe.0.1480249.

Schoknecht, P. A., S. Ebner, A. Skottner, D. G. Burrin, T. A. Davis, K. Ellis, y W. G. Pond. 1997. «Exogenous Insulin-Like Growth Factor-I Increases Weight Gain in Intrauterine Growth-Retarded Neonatal Pigs.» *Pediatric Research* 42 (2): 201-7. doi:10.1203/00006450-199708000-00012.

Simmen, F.A., L. Badinga, M.L. Green, I. Kwak, S. Song, y R.C.M. Simmen. 1998. «The Porcine Insulin-like Growth Factor System: At the Interface of Nutrition, Growth and Reproduction.» *Journal of Nutrition* 128 (2 SUPPL.): 315S - 320S.

Snyder, D. K., D. R. Clemmons, y L. E. Underwood. 1989. «Dietary Carbohydrate Content Determines Responsiveness to Growth Hormone in Energy-Restricted Humans.» *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 69 (4): 745-52. doi:10.1210/jcem-69-4-745.

Straus, D. S. 1994. «Nutritional regulation of hormones and growth factors that control mammalian growth.» *FASEB Journal* 8 (1): 6-12.

Taylor, J. A., D. N. Salter, W. H. Close, y G. H. Laswai. 1992. «Serum concentrations of insulin-like growth factor 1 and cholesterol in relation to protein and fat deposition in growing pigs.» *ResearchGate* 55 (02): 257-64. doi:10.1017/S0003356100037533.

The Danish Pig Research Center. 2015. «Annual Report 2014.» Accedido agosto 11. http://vsp.lf.dk/~media/Files/PDF%20-%20Aarsberetning%20VSP%20English/%C3%85rsberetning%202014_UK.pdf.

Thissen, J. -P, J. -M Ketelslegers, y L. E. Underwood. 1994. «Nutritional regulation of the insulin-like growth factors.» *Endocrine reviews* 15 (1): 80-101.

Thissen, J.-P., L.E. Underwood, y J.-M. Ketelslegers. 1999. «Regulation of Insulin-like Growth Factor-I in Starvation and Injury.» *Nutrition Reviews* 57 (6): 167-76.

Van Barneveld, R.J., y F.R. Dunshea. 2011. «Colostrum Protein Isolate Increases Gut and Whole Body Growth and Plasma IGF-I in Neonatal Pigs.» *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 24 (5): 670-77. doi:10.5713/ajas.2011.90490.

Varley, Mike A. 1995. *The Neonatal Pig: Development and Survival*. CAB International.

Whang, K. Y., S. W. Kim, S. M. Donovan, F. K. McKeith, y R. A. Easter. 2003. «Effects of Protein Deprivation on Subsequent Growth Performance, Gain of Body Components, and Protein

Requirements in Growing Pigs.» *Journal of Animal Science* 81 (3): 705-16.
doi:/2003.813705x.

Wickham, H. 2009. *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer New York.
<http://had.co.nz/ggplot2/book>.

Wikipedia contributors. 2015. «Metabolismo de los carbohidratos.» *Wikipedia, la enciclopedia libre*.
https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Metabolismo_de_los_carbohidratos&oldid=83820372.

Zabielski, R., M.M. Godlewski, y P. Guilloteau. 2008. «Control of Development of Gastrointestinal System in Neonates.» *Journal of Physiology and Pharmacology* 59 (SUPPL.1): 35-54.

Zabielski, R., D. Laubitz, J. Woliński, y P. Guilloteau. 2005. «Nutritional and Hormonal Control of Gut Epithelium Remodeling in Neonatal Piglets.» *Journal of Animal and Feed Sciences* 14 (SUPPL. 1): 99-112.

5 Ensayo en lechones post-destete

5.1 Introducción

La intensificación de la producción porcina y la globalización de los mercados han generado una presión sobre el coste de producción de carne de cerdo que ha llevado a los productores de cerdo a nivel mundial a reducir la edad del destete de los cerdos para así incrementar el ritmo reproductivo de las cerdas y conseguir mayor número de lechones producidos por cerda y año. En Europa, la legislación a favor del bienestar de los animales ha fijado un mínimo de 28 días de vida en la edad de destete de los lechones a pesar de que ésta puede disminuir hasta 21 días de vida con prescripción facultativa (DOC 18_02_2009, Directiva del Consejo Europeo 2008/120/EC).

Uno de los problemas que se presentan con edades tempranas en el destete de cerdos es la baja actividad enzimática para la digestión de nutrientes como los carbohidratos complejos suministrados por la dieta así como la baja digestibilidad de la proteína suministrada por las materias primas si las comparamos con la digestibilidad de la leche de la cerda (Lindemann et al., 1986). Además el intestino del lechón destetado a edades tempranas es inmaduro inmunológicamente (McLamb et al., 2013b) y a partir de este momento va a estar expuesto a nuevos inmunógenos que provienen de la dieta, de sus congéneres y del nuevo lugar de destete.

Una consecuencia del destete temprano es la reducción en el consumo de pienso en el postdestete (Lallès et al., 2004; Dong et al., 2007; Lallès et al., 2007) que reduce el crecimiento y el desarrollo de los lechones posteriormente. Estas negativas consecuencias hacen que la búsqueda de ingredientes de alta digestibilidad y que estimulen el consumo de los lechones tras su destete sea una prioridad para la industria porcina.

Otros factores estresantes como el cambio nutricional, factores psicológicos y ambientales en el momento del destete contribuyen a modificaciones posteriores en el desarrollo del lechón (Pluske et al., 2000; Louveau et al., 2002). Dentro de estas modificaciones, las hormonales, como las concentraciones de IGF-I están condicionadas por factores externos como la nutrición, la estación del año y el sexo (Hossner et al., 1997; Matteriet al., 2000; Smith et al., 2002).

El status nutricional tiene una gran influencia en la expresión y secreción de una variedad de hormonas relacionadas con el crecimiento, incluyendo la hormona del crecimiento (GH), el factor de crecimiento similar a la insulina tipos I y II (IGF-I e IGF-II), las hormonas tiroideas y algunos glucocorticoides (Simmen et al., 1998; Carroll et al., 1998; Straus, 1994). Mientras que la importancia de la ontogenia del control endocrino del crecimiento está reconocida (Lee et al.,

1993), existe poca información acerca de los efectos que las diferentes prácticas de manejo asociadas a cambios nutricionales puedan tener sobre el mismo.

Existen algunos estudios donde se confirma que las concentraciones plasmáticas de IGF-I están positivamente correlacionadas con el crecimiento tanto en animales de laboratorio como en animales de producción pero desafortunadamente esta circunstancia no se cumple siempre (Bunter et al., 2005). Estudios llevados a cabo por Brameld (Brameld et al., 1996) demostraron que la expresión de IGF-I mRNA en hígado en cerdos es edad dependiente a partir de los 20 días de edad. Sin embargo la expresión de este mismo gen en el músculo longísimus fue variable en todas las edades.

En ratas adultas (Hossner et al., 1997) describieron que los incrementos de crecimiento debidos a la administración de GH no incrementaron el nivel de IGF-I circulante aunque las concentraciones hepáticas y renales de IGF-I estaban incrementadas. La infusión en cerdos de IGF-I suprime los niveles de GH en plasma mientras que la de un análogo de IGF-I suprime tanto los niveles de GH como los de IGF-I (Dunaiski et al., 1997).

El plasma animal secado mediante la técnica del sprayado (SDAP por sus siglas en inglés, Spray Dried Animal Plasma) principalmente de origen porcino (SDPP por sus siglas en inglés, Spray Dried Porcine Plasma) es usado habitualmente como uno de los principales ingredientes en dietas de lechones destetados para mejorar su ingesta diaria y como medio de reducir las diarreas postdestete.

Van Dijk (Van Dijk et al., 2001) realizó un resumen de 15 estudios publicados concluyendo que alimentar lechones tras el destete y durante al menos 2 semanas con dietas que contengan al menos 6% de SDAP, incrementa la ganancia media diaria y el consumo y mejora el índice de conversión pienso/peso vivo, si es introducido en la dieta por encima del 6%.

El metaanálisis realizado por Remus (Remus et al., 2013a) con 23 estudios en los que no estaba incluido ninguno relacionado con problemas patológicos, mostró que SDAP es una fuente de proteína que mejora el consumo de lechones tras el destete.

SDAP es una proteína de alto precio y deben realizarse evaluaciones económicas antes de tomar la decisión de introducir SDAP en la dieta dado que dependiendo de las instalaciones, desafío del sistema inmunitario y edad de los animales, los resultados de alimentar lechones con SDAP pueden variar (Torrallardona et al., 2002).

El concentrado de proteína de patata es un coproducto de la industria del almidón que se obtiene por termocoagulación de la proteína del rezumado tras la extracción del almidón, separación y secado hasta alcanzar valores de proteína bruta del 75-80% (de Blas et al., 2003). Este concentrado tiene cantidades variables de solanina, un alcaloide que da sabor amargo y disminuye su palatabilidad y que en caso de altas ingestas da lugar a síntomas parecidos a una gastroenteritis. El tratamiento de este concentrado con levaduras (Gélinas et al., 2007) o mediante otros procesos (Aziz et al., 2002) intenta reducir los efectos negativos e incrementar su digestibilidad.

5.2 Objetivo

La hipótesis de trabajo fue que la proteína de patata fermentada tiene un alto valor biológico y que por lo tanto puede ser una alternativa al uso de otras proteínas en las dietas altamente digestibles y con funciones biológicas. Además se sugiere la posibilidad de que se incrementen los niveles de IGF-I circulante con lo que el status metabólico del lechón sea mayor y se consigan mejores resultados productivos.

El objetivo del estudio fue evaluar si la adición en la dieta de lechones de un concentrado de proteína de patata fermentada (PPF) tras su destete podía reemplazar el uso de SDAP y si las modificaciones estaban relacionadas con los niveles plasmáticos de IGF-I.

5.3 Material y métodos.

Se realizaron 2 experimentos con lechones destetados de forma consecutiva en la misma granja utilizando siempre la misma sala de destete. Los estudios se realizaron en una granja destinada a la cría de lechones tras su destete y su posterior envío a unidades de engorde (conocido en la producción de cerdos como sitio 2) con un manejo todo-dentro/todo-fuera por lotes la cual cumple los requisitos establecidos por la legislación sobre bienestar animal (Real Decreto 1135/2002).

La granja es una unidad de destete con 8 salas idénticas de 40 corrales cada una con dos pasillos de distribución y corrales a ambos lados de tal forma que cada una de las 4 líneas de corrales contiene 10 corrales (ver figura 1).

Cada corral tiene 3 m de ancho por 3,5 m de largo y las paredes de los mismo son de estructura metálica con un material plástico que evita que los lechones de corrales adyacentes tengan ningún contacto. El suelo de los corrales consiste en un emparrillado total de plástico (slat de plástico).

La alimentación se realizó a través de una tolva única por corral de distribución *ad libitum* del pienso y el agua se suministró a través de dos bebedores tipo cazoleta por corral situado a 50 cm de la tolva de pienso. Las tolvas fueron revisadas y ajustadas a diario para asegurar su correcto funcionamiento y los bebedores se limpiaron a diario.

La climatización de cada una de las naves se realiza de forma automática a través de un ordenador de tal forma que el día de entrada de los lechones al destete hay 28°C de temperatura disminuyendo ésta de forma gradual 1°C cada semana. La climatización automática se encarga de la ventilación de cada una de las naves de tal forma que la temperatura no oscile $\pm 2^\circ\text{C}$ a lo largo del día. La calefacción se realiza a través de quemadores que suministran aire caliente que se distribuye a lo largo de toda la sala.

Los lechones (machos castrados y hembras) eran un cruce comercial con 25% de raza Large White, 25% de raza Landrace y 50% de raza Duroc.

La edad de los lechones al inicio de cada estudio fue de 21 ± 3 días. Todos provenían de la misma granja de origen de reproductoras.

5.3.1 Estudio 1.

El día 1 de estudio se incluyeron 200 lechones (ver Tabla 29).

Tabla 29. Número de lechones por tratamiento en el estudio 1.

	NC	Plas	PPF133	PPF267	PPF400
Número de lechones al inicio	40	40	40	40	40
Número de corrales	5	5	5	5	5

CN, fue el grupo control negativo, sin plasma animal en la composición del pienso prestarter ni PPF; Plas fue el grupo control positivo, con 4% de plasma animal en el pienso prestarter; PPF133 con 0,133% de PPF en el pienso prestarter; PPF267 con 0,267% de PPF en el pienso prestarter y PPF400 con 0,4% de PPF en el pienso prestarter.

Los lechones fueron colocados a una densidad mucho más baja de lo habitual para que el espacio no fuera un factor limitante del consumo ni del crecimiento siendo en este estudio la densidad de 2,1 m² por lechón.

La distribución de los corrales y de los tratamientos se muestra en la Figura 9.

Figura 9: Distribución de los grupos de tratamiento en los corrales en el estudio 1.

Corral: 10 Tratamiento: PPF400 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,41	PASILLO	Corral: 11 Tratamiento: PPF113 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 7,55	Corral: 30 Tratamiento: PPF113 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,86	PASILLO	Corral: 31 Tratamiento: NC Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 7,45
Corral: 9 Tratamiento: NC Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,96		Corral: 12 Tratamiento: NC Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,84	Corral: 29 Tratamiento: PPF400 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,30		Corral: 32 Tratamiento: PPF267 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,54
Corral: 8 Tratamiento: Plas Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 7,06		Corral: 13 Tratamiento: PPF267 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,21	Corral: 28 Tratamiento: Plas Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 5,68		Corral: 33 Tratamiento: NC Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,84
Corral: 7 Tratamiento: PPF400 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,91		Corral: 14 Tratamiento: PPF400 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 5,21	Corral: 27 Tratamiento: PPF267 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,50		Corral: 34 Tratamiento: Plas Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,57
Corral: 6 Tratamiento: Plas Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,09		Corral: 15 Tratamiento: PPF267 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 7,30	Corral: 26 Tratamiento: PPF267 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,57		Corral: 35 Tratamiento: PPF267 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 5,74
Corral: 5 Tratamiento: PPF400 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,81		Corral: 16 Tratamiento: Plas Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,57	Corral: 25 Tratamiento: PPF400 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,99		Corral: 36 Tratamiento: PPF113 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,34
Corral: 4 Tratamiento: Plas Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 7,60		Corral: 17 Tratamiento: PPF400 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 5,59	Corral: 24 Tratamiento: PPF113 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 5,35		Corral: 37 Tratamiento: Plas Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,35
Corral: 3 Tratamiento: PPF400 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,08		Corral: 18 Tratamiento: NC Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 7,19	Corral: 23 Tratamiento: PPF113 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,65		Corral: 38 Tratamiento: NC Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,56
Corral: 2 Tratamiento: NC Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,72		Corral: 19 Tratamiento: NC Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 7,11	Corral: 22 Tratamiento: PPF113 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 7,09		Corral: 39 Tratamiento: Plas Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 7,29
Corral: 1 Tratamiento: PPF267 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,21		Corral: 20 Tratamiento: PPF113 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 6,97	Corral: 21 Tratamiento: PPF113 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 7,18		Corral: 40 Tratamiento: PPF267 Nº animales: 5 Peso medio (D-1): 7,08

Mediante una rutina de aleatorización que incluyó la edad, el peso al destete y el sexo, cada uno de los lechones fue asignado a uno de los siguientes grupos de tratamiento de tal forma que los tratamientos fueran homogéneos respecto a esos factores:

- Grupo 1 (CN), fue el grupo control negativo, sin plasma animal en la composición del pienso prestarter ni PPF.
- Grupo 2 (Plas), fue el grupo control positivo, con la adición de 4% de plasma animal en el

pienso prestarter.

- Grupo 3 (PPF133), que tenía 0,133% de PPF en el pienso prestarter.
- Grupo 4 (PPF267), que tenía 0,267% de PPF en el pienso prestarter.
- Grupo 5 (PPF400), que tenía 0,400% de PPF en el pienso prestarter.

El tratamiento experimental consistió en dos fases de alimentación. La primera de 12 días de duración, donde los lechones fueron alimentados con las dietas experimentales correspondientes a su grupo de tratamiento y una segunda fase de 28 días de duración donde todos los lechones fueron alimentados con la misma dieta (ver tablas 30 y 31), con el fin de evaluar si las posibles diferencias obtenidas en la primera fase se mantuvieron posteriormente (efecto *carry-over*).

Los ingredientes de los diferentes piensos se muestran en la tabla 30 y los nutrientes aportados en la tabla 31. Los piensos suministrados en la primera fase fueron isoenergéticos e isoproteicos siguiendo las recomendaciones Fedna 2003 (de Blas, Mateos, y Rebollar 2003) manteniendo las mismas relaciones de aminoácidos en todas las dietas. Por razones de composición del plasma, el pienso prestarter del grupo “Plas” tuvo una concentración de Na y Cl diferente a los demás.

Tabla 30: Composición de las dietas (kg/tn) del estudio 1.

	Prestarter					Starter
	CN	Plas	PPF133	PPF267	PPF400	
Maíz	250,0	298,0	250,0	250,0	250,0	347,0
Haba de soja extrusionada	200,0	186,0	200,0	200,0	200,0	180,0
Trigo blando 10,2% pb	200,0	295,0	200,9	202,0	203,0	150,0
Cebada 10% pb	100,0		100,0	100,0	100,0	115,0
Suero dulce	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	
Proteína de soja	64,0		61,0	58,8	56,4	
Pescado 70/9/13	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	12,0
Manteca	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Sulfato sódico	7,0	2,4	7,0	7,0	7,0	2,8
Fosfato monocálcico	7,0	7,9	7,2	7,0	7,0	11,6
Vits, minerales y enzimas	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Cloruro sódico	3,4	2,0	3,1	3,4	3,5	2,0
Triptofano al 10% Premix	3,1	3,7	3,2	3,2	3,3	1,7
Carbonato cálcio	2,9	2,0	2,9	2,8	2,7	4,4
Premezcla Metionina 50%	2,9	2,6	2,9	2,9	2,9	2,8
L-Lisina HCL	2,7	2,8	2,7	2,7	2,7	3,1
Premezcla Treonina 50 %	2,4	2,1	2,4	2,4	2,4	2,6
Plasma 70% pb		40,0				
Proteína de patata especial			1,3	2,7	4,0	
Harina de soja 44% pb						150,0

Tabla 31: Nutrientes de las dietas experimentales del estudio 1.

	Prestarter					Starter
	CN	Plas	PPF133	PPF267	PPF400	
Humedad %	10,61	11,01	10,62	10,63	10,63	11,97
Cenizas %	6,04	5,59	6,02	6,00	5,99	5,25
Proteina Bruta %	20,38	19,46	20,36	20,34	20,31	19,85
Extracto Etereo %	6,89	6,64	6,88	6,88	6,88	6,57
Fibra Bruta %	3,03	2,62	3,03	3,02	3,02	3,72
FND %	8,21	7,79	8,23	8,24	8,26	10,34
FAD %	3,38	3,20	3,38	3,39	3,40	4,51
Almidon %	34,57	36,89	34,60	34,62	34,65	37,28
Azucares %	9,38	9,19	9,37	9,36	9,36	3,13
C18:2 %	2,76	2,67	2,76	2,76	2,76	2,79
Calcio %	0,69	0,66	0,69	0,68	0,68	0,70
Fosforo %	0,63	0,60	0,63	0,63	0,62	0,65
Pdisp. %	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,38
Na %	0,40	0,45	0,40	0,40	0,40	0,19
Cl %	0,52	0,59	0,52	0,52	0,52	0,25
Mg %	0,13	0,14	0,13	0,13	0,13	0,15
K %	0,92	0,77	0,92	0,91	0,91	0,85
EN_Porcino Kcal/kg	2550	2550	2550	2550	2550	2509
LYS %	1,34	1,34	1,34	1,34	1,34	1,28
MET %	0,48	0,46	0,48	0,48	0,49	0,45
M+C %	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,77
THR %	0,90	0,91	0,90	0,90	0,90	0,86
TRP %	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,25
VAL %	0,95	0,96	0,96	0,96	0,96	0,92
LYS_DIS %	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,15
MET_DIS %	0,45	0,42	0,45	0,45	0,45	0,41
M+C_DIS %	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72	0,68
THR_DIS %	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,75
TRP_DIS %	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,22
VAL_DIS %	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,79
Lactosa %	7,03	7,03	7,03	7,03	7,03	

Los lechones fueron pesados por corral los días 1, 4, 8, 12 y 40 del estudio. El pienso fue añadido cada día a los corrales del estudio de forma manual y se contabilizó el consumo el día 12 y el día 40 del estudio.

El día 4 del estudio se obtuvo una muestra de sangre mediante punción de la vena yugular mediante Vacutainer™ (Becton Dickinson and Company, NJ, USA) de un lechón por corral que previamente había sido elegido aleatoriamente para el análisis de IGF-I. Tras el sangrado, las muestras se refrigeraron hasta su llegada al laboratorio de procesamiento donde fueron centrifugadas a 2.500 rpm durante 10 minutos para la obtención de plasma. De cada muestra de plasma se obtuvieron dos alícuotas de 300 microlitros aproximadamente en tubos Eppendorf para el análisis de IGF-I. Las muestras de plasma se guardaron en congelación a -20°C hasta su envío al laboratorio.

La determinación de IGF-I se realizó siguiendo el mismo procedimiento que en el estudio de los lechones lactantes.

La unidad experimental fue el corral excepto para el valor de IGF-I que fue el lechón.

Los pesos de los lechones a día 4, 8, 12 y 40, los niveles de IGF-I del día 4 del estudio, de la ganancia media diaria, el consumo medio diario y el índice de conversión pienso en kg/peso de lechón en kg en las dos fases del estudio (días 1 a 12 y 13 a 40) y de forma global fueron analizados usando un análisis de varianza mediante el modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \text{GROUP}_i + e_{ijk}$$

donde Y_{ij} fue la variable analizada del corral j , del grupo de tratamiento i (GROUP_i), siendo e_{ij} el error experimental.

Los pesos de los lechones a día 4, 8, 12 y 40, los datos de la ganancia media diaria, el consumo medio diario y el índice de conversión pienso en kg/peso de lechón en kg en las dos fases del estudio (días 1 a 12 y 13 a 40) y de forma global fueron posteriormente analizados usando un análisis de varianza mediante el modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{GROUP}_i + \text{PESO4}_j + \text{PESO4}_j * \text{GROUP}_i + e_{ijk}$$

donde Y_{ijk} fue la variable analizada del corral k , del grupo de tratamiento i ($GROUP_i$), con el peso a día 4 j ($PESO_{4j}$) como covariable dentro de tratamiento, siendo e_{ij} el error experimental.

Los test usados fueron de dos colas con un error α del 5 % y se verificaron las condiciones de aplicación de los diferentes tests estadísticos.

5.3.2 Estudio 2.

El día 1 del estudio se incluyeron 1036 lechones (ver Tabla 32).

Tabla 32: Número de lechones por tratamiento en el estudio 2.

	NC	PPF063	PPF125	PPF250	PPF375	Plas
Número de lechones al inicio	173	171	173	172	173	174
Número de corrales	6	6	6	6	6	6

CN, grupo control negativo, sin plasma animal en la composición del pienso prestarter ni PPF; PPF063, con 0,063% de PPF en el pienso; PPF125, con 0,125% de PPF en el pienso; PPF250, con 0,25% de PPF en el pienso; PPF375, con 0,375% de PPF en el pienso y PC, grupo control positivo con 3,5% de plasma en el pienso.

Los lechones fueron colocados a una densidad de 0,36 m² por lechón aproximadamente.

La distribución de los corrales y de los tratamientos se muestra en la Figura 10.

Mediante una rutina de aleatorización que incluyó la edad, el peso al destete y el sexo, cada uno lechón fue asignado a uno de los siguientes grupos de tratamiento de tal forma que los tratamientos fueran homogéneos respecto a esos factores:

- Grupo 1 (CN), fue el grupo control negativo, sin plasma animal en la composición del pienso prestarter ni PPF.
- Grupo 2 (PPF063), con 0,063% de PPF en el pienso.
- Grupo 3 (PPF125), con 0,125% de PPF en el pienso.
- Grupo 4 (PPF250), con 0,25% de PPF en el pienso.
- Grupo 5 (PPF375), con 0,375% de PPF en el pienso.
- Grupo 6 (PC), grupo control positivo con 3,5% de plasma en el pienso.

El tratamiento experimental consistió en dos fases de alimentación de 11 días cada una, donde los

lechones fueron alimentados con las dietas experimentales correspondientes a su grupo de tratamiento.

Figura 10: Distribución de los grupos de tratamiento en los corrales.

Corral: Vacío Tratamiento: Nº animales: Peso medio (D-1):	PASILLO	Corral: Vacío Tratamiento: Nº animales: Peso medio (D-1):	Corral: Vacío Tratamiento: Nº animales: Peso medio (D-1):	PASILLO	Corral: Vacío Tratamiento: Nº animales: Peso medio (D-1):
Corral: 9 Tratamiento: PPF250 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,65		Corral: 10 Tratamiento: PPF063 Nº animales: 28 Peso medio (D-1): 6,21	Corral: 27 Tratamiento: PPF250 Nº animales: 28 Peso medio (D-1): 6,35		Corral: 28 Tratamiento: PPF125 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,41
Corral: 8 Tratamiento: Plas Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,56		Corral: 11 Tratamiento: PPF125 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,55	Corral: 26 Tratamiento: PPF125 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,67		Corral: 29 Tratamiento: Plas Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,49
Corral: 7 Tratamiento: PPF063 Nº animales: 28 Peso medio (D-1): 5,06		Corral: 12 Tratamiento: PPF063 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,40	Corral: 25 Tratamiento: NC Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,29		Corral: 30 Tratamiento: PPF375 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,59
Corral: 6 Tratamiento: Plas Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,56		Corral: 13 Tratamiento: PPF250 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,52	Corral: 24 Tratamiento: Plas Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,49		Corral: 31 Tratamiento: PPF375 Nº animales: 28 Peso medio (D-1): 6,45
Corral: 5 Tratamiento: PPF375 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,64		Corral: 14 Tratamiento: PPF063 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,35	Corral: 23 Tratamiento: PPF250 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,55		Corral: 32 Tratamiento: PPF063 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,39
Corral: 4 Tratamiento: PPF375 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,46		Corral: 15 Tratamiento: PPF250 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,65	Corral: 22 Tratamiento: PPF375 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,45		Corral: 33 Tratamiento: Plas Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,66
Corral: 3 Tratamiento: PPF063 Nº animales: 28 Peso medio (D-1): 6,67		Corral: 16 Tratamiento: PPF375 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,45	Corral: 21 Tratamiento: NC Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,28		Corral: 34 Tratamiento: NC Nº animales: 28 Peso medio (D-1): 6,37
Corral: 2 Tratamiento: NC Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,48		Corral: 17 Tratamiento: PPF125 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,65	Corral: 20 Tratamiento: PPF125 Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,42		Corral: 35 Tratamiento: Plas Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,53
Corral: 1 Tratamiento: NC Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,58		Corral: 18 Tratamiento: NC Nº animales: 29 Peso medio (D-1): 6,59	Corral: 19 Tratamiento: PPF250 Nº animales: 28 Peso medio (D-1): 6,41		Corral: 36 Tratamiento: PPF125 Nº animales: 28 Peso medio (D-1): 6,30

Los ingredientes de los diferentes piensos se muestran en la Tabla 33 y los nutrientes aportados en la Tabla 34. Los piensos suministrados fueron isoenergéticos e isoproteicos siguiendo las recomendaciones Fedna 2003 (de Blas, Mateos, y Rebollar 2003) manteniendo las mismas relaciones de aminoácidos en todas las dietas. Por razones de composición del plasma, los pienso

del grupo “Plas” tuvieron una concentración de Na y Cl diferente a los demás.

Tabla 33: Composición de las dietas (kg/tn) del estudio 2.

	CN	PPF063	PPF125	PPF250	PPF375	PC
Maíz	250,0	250,0	250,0	250,0	250,0	250,0
Haba de soja extrusionada	200,0	200,0	200,0	200,0	200,0	200,0
Trigo blando 10,2% pb	199,8	200,9	201,9	203,0	200,4	300,0
Cebada 10% pb	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	33,3
Suero dulce	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Proteína de soja	63,7	61,4	59,1	56,8	62,6	0,2
Pescado 70/9/13	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0
Manteca	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,9
Sulfato sódico	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	2,9
Fosfato monocalcico	7,0	7,0	7,1	7,1	7,0	7,7
Vits, minerales y enzimas	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Cloruro sódico	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	2,0
Triptofano al 10% Premix	3,1	3,1	3,2	3,3	3,1	3,6
Carbonato calcio	3,0	2,9	2,8	2,8	2,9	2,0
Premezcla Metionina 50%	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,6
L-Lisina HCL	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7
Premezcla Treonina 50 %	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,2
Proteína de patata especial		1,3	2,5	3,8	0,6	
Plasma 70% pb						35,0

Tabla 34: Nutrientes de las dietas experimentales del estudio 2.

	CN	PPF063	PPF125	PPF250	PPF375	PC
Humedad %	10,61	10,62	10,62	10,63	10,62	10,85
Cenizas %	6,04	6,02	6,01	5,99	6,03	5,63
Proteína Bruta %	20,38	20,36	20,34	20,32	20,37	19,64
Extracto Etereo %	6,89	6,88	6,88	6,88	6,89	6,88
Fibra Bruta %	3,03	3,03	3,02	3,02	3,03	2,76
FND %	8,21	8,23	8,24	8,26	8,22	8,18
FAD %	3,38	3,38	3,39	3,39	3,38	3,35
Almidon %	34,57	34,60	34,62	34,64	34,58	35,89
Azucares %	9,38	9,37	9,36	9,36	9,37	9,24
C18:2 %	2,76	2,76	2,76	2,76	2,76	2,76
Calcio %	0,69	0,69	0,68	0,68	0,69	0,66
Fosforo %	0,63	0,63	0,63	0,62	0,63	0,60
Pdisp. %	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Na %	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,43
Cl %	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,56
Mg %	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,14
K %	0,92	0,92	0,91	0,91	0,92	0,79
EN_Porcino Kcal/kg	2550	2550	2550	2550	2550	2550
LYS %	1,34	1,34	1,34	1,34	1,34	1,35
MET %	0,48	0,48	0,48	0,49	0,48	0,46
M+C %	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
THR %	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,91
TRP %	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
VAL %	0,95	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
LYS_DIS %	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22
MET_DIS %	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,42
M+C_DIS %	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72
THR_DIS %	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
TRP_DIS %	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
VAL_DIS %	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Lactosa %	7,03	7,03	7,03	7,03	7,03	7,03

Los lechones fueron pesados por corral los días 1, 11 y 22 del estudio. El pienso fue añadido cada día a los corrales del estudio de forma manual y se contabilizó el consumo el día 11 y el día 22 del estudio.

El corral fue la unidad experimental. Los pesos de los lechones a día 1, 11 y 22 del estudio, de la ganancia media diaria, el consumo medio diario y el índice de conversión pienso en kg/peso de lechón en kg en las dos fases del estudio (días 1 a 11 y 12 a 22) y de forma global fueron analizados usando un análisis de varianza mediante el modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \text{GROUP}_i + e_{ijk}$$

donde Y_{ij} fue la variable analizada del corral j , del grupo de tratamiento i (GROUP_i), siendo e_{ij} el error experimental.

Los test usados fueron de dos colas con un error α del 5 % y se verificaron las condiciones de aplicación de los diferentes tests estadísticos.

5.4 Resultados

5.4.1 Estudio 1.

Los pesos de los lechones en los días 1, 4, 8, 12 y 40 se muestran en la Tabla 35.

Tabla 35: Peso vivo de los lechones, kg/lechón.

	CN	Plas	PPF133	PPF267	PPF400
Peso día 1, kg	6,68±0,206	6,63±0,206	6,77±0,206	6,61±0,206	6,60±0,206
Peso día 4, kg	7,14±0,216	7,33±0,216	7,25±0,216	7,19±0,216	6,59±0,216
Peso día 8, kg	7,65±0,168ab	8,25±0,168b	7,42±0,168a	7,99±0,168ab	7,49±0,168a
Peso día 12, kg	8,57±0,223	8,77±0,223	8,43±0,223	8,41±0,223	8,29±0,223
Peso día 40, kg	24,85±0,486	25,72±0,486	25,89±0,486	25,39±0,486	24,56±0,486

Medias con letras diferentes en la misma fila muestran diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los lechones cuya dieta contenía Plasma (Grupo 2: Plas) fueron más pesados al día 8 del estudio que los lechones cuya dieta contenía PPF al 0,133% (Grupo 3: PPF133) de forma estadísticamente significativa (8,25±0,168 kg vs. 7,42±0,168 kg). Los lechones de los grupos PPF133, PPF267 y PPF400 pesaron igual que los lechones del grupo CN. Los lechones de los grupos PPF267, PPF400 y Plas pesaron igual que los lechones del grupo CN.

Los datos de la ganancia media diaria de los lechones se muestran en la Tabla 36.

Tabla 36: Ganancia media diaria (GMD) en g/d en los diferentes días del estudio.

	CN	Plas	PPF133	PPF267	PPF400
GMD 1 a 12, g/d	158±23	178±23	139±23	150±23	141±23
GMD 13 a 40, g/d	582±16	606±16	624±16	606±16	581±16
GMD 1 a 40, g/d	454±12	477±12	478±12	470±12	449±12

No se observaron diferencias significativas en ningún grupo de tratamiento.

Los datos del consumo medio diario de los lechones se muestran en la Tabla 37.

Tabla 37: Consumo medio diario (CMD) en g/d en los diferentes días del estudio.

	CN	Plas	PPF133	PPF267	PPF400
CMD 1 a 12, g/d	205±0,73a	249±0,73c	221±0,73b	219±0,73b	205±0,73a
CMD 13 a 40, g/d	760±2,38a	772±2,38b	793±2,38c	788±2,38c	777±2,38b
CMD 1 a 40, g/d	597±2,40a	613±2,40b	628±2,40c	614±2,40b	606±2,40ab

Medias con letras diferentes en la misma fila muestran diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los lechones cuya dieta contenía Plasma (grupo Plas) consumieron más pienso entre los días 1 y 12 del estudio que el resto. Los lechones cuya dieta contenía PPF al 0,133% y al 0,267% consumieron más pienso que los lechones del grupo control y que los lechones del grupo cuya dieta contenía PPF al 0,4% pero menos que el grupo Plas.

Durante el periodo del estudio entre los días 13 y 40, donde todos los lechones consumieron la misma dieta, los lechones que tuvieron el mayor consumo fueron los lechones de los grupos cuya dieta contenía PPF al 0,133% y al 0,267%. Los lechones que consumieron Plasma tuvieron un consumo igual al grupo que consumió Plasma al 0,4% y los lechones del grupo control fueron los que tuvieron un menor consumo.

En el global del estudio, los lechones del grupo cuya dieta contenía PPF al 0,133% fueron los que más pienso consumieron. Los lechones del grupo Plasma consumieron igual que los lechones de los grupos con PPF al 0,267% y al 0,4%, siendo este consumo menor a los del grupo PPF al 0,133%. Los lechones del grupo control fueron los que menos pienso consumieron.

Los datos del índice de conversión kg de pienso consumido/kg de carne producidos se muestran en la Tabla 38.

Tabla 38: Índice de conversión (IC) en kg pienso/kg carne en los diferentes días del estudio.

	CN	Plas	PPF133	PPF267	PPF400
IC 1 a 12, g/d	1,51±0,49	1,51±0,49	2,40±0,49	1,93±0,49	1,98±0,49
IC 13 a 40, g/d	1,32±0,04	1,28±0,04	1,28±0,04	1,30±0,04	1,34±0,04
IC 1 a 40, g/d	1,33±0,04	1,29±0,04	1,32±0,04	1,31±0,04	1,35±0,04

No hubo ninguna diferencia entre los grupos de estudio en ninguna fase del estudio en cuanto al

índice de conversión. El hecho de que el índice de conversión durante la primera fase fuera mayor que durante la segunda refleja el errático consumo de pienso durante la primera semana post destete.

Los datos de los niveles de IGF-I en el día 4 del estudio se muestran en la Tabla 39.

Tabla 39: Niveles de IGF-I (ng/mL) el día 4 del estudio.

	CN	Plas	PPF133	PPF267	PPF400
IGF-I a día 4/lechón	62,938±4,786b	84,344±4,786c	32,428±4,786a	57,855±4,786b	50,096±4,786ab

Medias con letras diferentes en la misma fila muestran diferencias significativas ($p < 0,05$).

En la Figura 11, Figura 12 y Figura 13 se muestran los datos de IGF-I a día 4 relacionados con el peso a día 4, con el peso a destete y con la ganancia media diaria no estando correlacionado el valor de IGF-I a día 4 ni con el peso a día 4 (0,197; $p=0,223$), ni con el peso a destete (-0,017; $p=0,919$) ni con la ganancia media diaria entre los días 1 a 4 (0,184; $p=0,257$).

Figura 11: Peso a destete e IGF-I por tratamiento

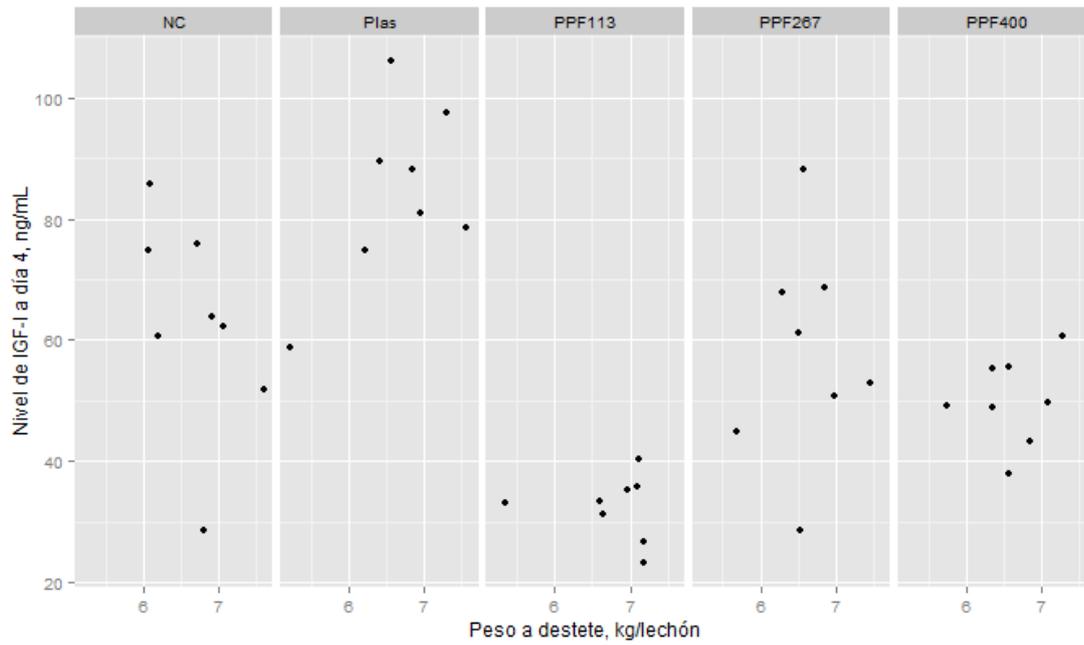


Figura 12. Peso a día 4 e IGF-I.

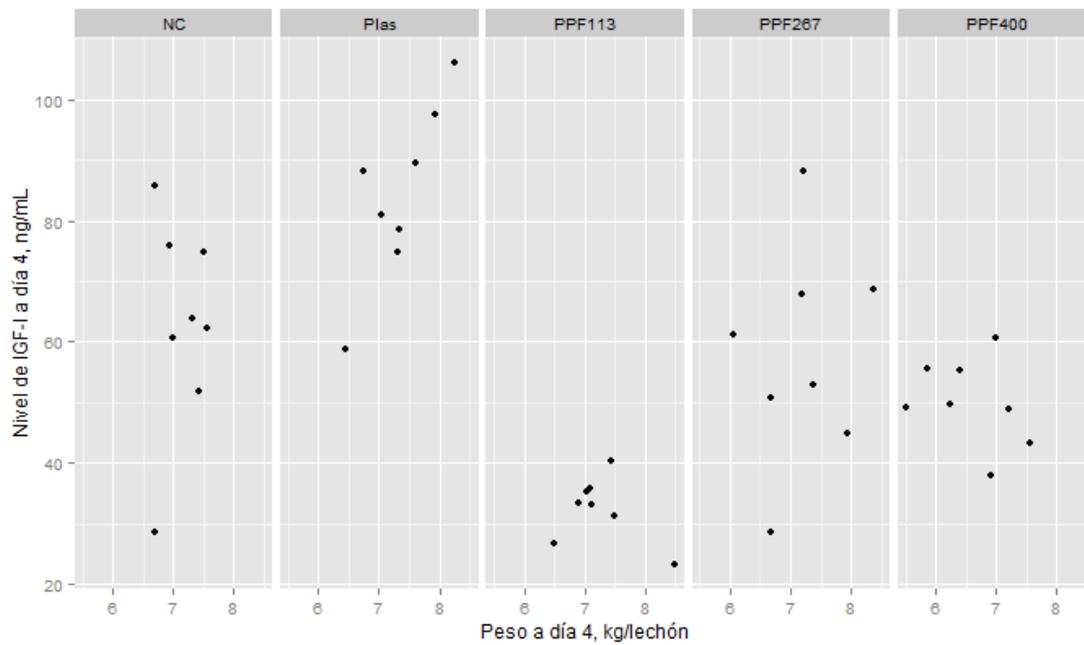
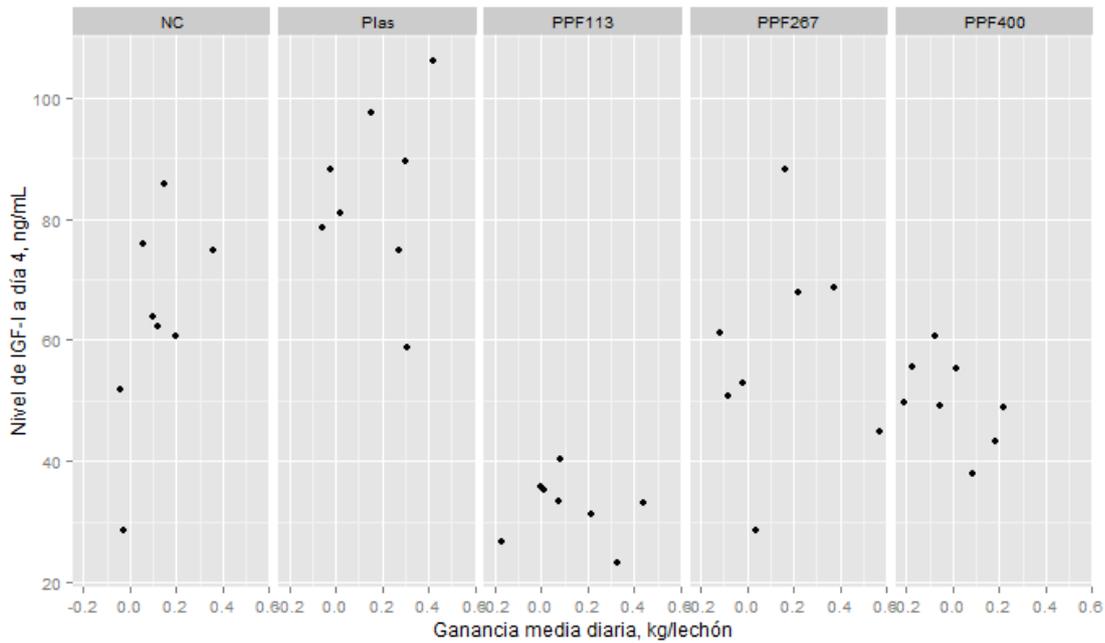


Figura 13. Ganancia media diaria entre los días 1 y 4 e IGF-I.



5.4.2 Estudio 2.

Los pesos de los lechones en los días 1, 11 y 22 se muestran en la Tabla 40.

Tabla 40. Pesos de los lechones en las diferentes fases del estudio 2.

	CN	PPF063	PPF125	PPF250	PPF375	PC
Peso día 1, kg	6,43±0,05	6,42±0,05	6,50±0,05	6,52±0,05	6,51±0,05	6,54±0,05
Peso día 11, kg	7,83±0,06b	8,20±0,06ab	8,32±0,06ab	8,37±0,06ab	8,40±0,06ab	8,45±0,06a
Peso día 22, kg	11,06±0,08b	11,51±0,08ab	11,75±0,08ab	11,88±0,08a	12,01±0,08a	11,76±0,08ab

Medias con letras diferentes en la misma fila muestran diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los lechones con dietas experimentales y la dieta control positivo que contenía Plasma fueron más pesado tanto el día 11 del estudio ($p=0,04$) como el día 22 de forma estadísticamente significativa ($p=0,008$). No hubo diferencias de peso entre los grupos experimentales ni con el control positivo.

Los datos de la ganancia media diaria de los lechones se muestran en la Tabla 41.

Tabla 41. Ganancia media diaria (GMD) en g/d en los diferentes días del estudio 2.

	CN	PPF063	PPF125	PPF250	PPF375	PC
GMD día 1 a 11, g/d	127±2,31b	162±2,31a	166±2,31a	169±2,31a	172±2,31a	174±2,31a
GMD día 11 a 22, g/d	293±3,81	300±3,81§	312±3,81§	319±3,81§	328±3,81§	300±3,81§
GMD día 1 a 22, g/d	210±2,18b	231±2,18a	239±2,18a	244±2,18a	250±2,18a	237±2,18a

Medias con letras diferentes en la misma fila muestran diferencias significativas ($p < 0,05$). § muestra tendencia estadística ($p < 0,1$).

Durante la primera fase del estudio los lechones de todos los grupos experimentales crecieron más que los lechones del grupo control negativo de forma estadísticamente significativa ($p < 0,0001$). En la segunda fase del estudio no se observaron diferencias en el crecimiento de los lechones aunque los grupos experimentales mostraron una tendencia estadística a crecer más ($p = 0,0964$). Globalmente los lechones de todos los grupos experimentales crecieron más que los lechones del grupo control negativo de forma estadísticamente significativa ($p < 0,0001$) excepto el grupo del control positivo (con plasma) que mostró el mismo crecimiento que el grupo del control negativo.

Los datos de consumo medio diario de los lechones se muestran en la Tabla 42.

Tabla 42: Consumo medio diario (CMD) en g/d en los diferentes días del estudio 2.

	CN	PPF063	PPF125	PPF250	PPF375	PC
CMD día 1 a 11, g/d	172±2,79b	198±2,79a	200±2,79a	183±2,79ab	201±2,79a	204±2,79a
CMD día 11 a 22, g/d	417±5,74b	421±5,74b	437±5,74b	444±5,74ab	464±5,74a	375±5,74c
CMD día 1 a 22, g/d	293±3,97b	310±3,97ab	321±3,97ab	317±3,97ab	334±3,97a	294±3,97b

Medias con letras diferentes en la misma fila muestran diferencias significativas ($p < 0,05$). § muestra tendencia estadística ($p < 0,1$).

En la primera fase del estudio, los lechones de todos los grupos experimentales consumieron más pienso de forma estadísticamente significativa ($p = 0,003$). En la segunda fase del estudio los grupos PPF250 y PPF375 fueron los que más pienso consumieron teniendo un consumo intermedio los grupos CN, PPF063, PPF125 y PPF250, siendo el grupo PC el que tuvo el menor consumo de pienso ($p < 0,0001$). Globalmente los grupos con PPF fueron los que tuvieron un mayor consumo de pienso, teniendo el grupo del control negativo (CN) y el grupo del control positivo con plasma (PC) un menor consumo ($p = 0,01$).

Los datos del índice de conversión kg de pienso consumido/kg de carne producidos se muestran en la Tabla 43.

Tabla 43: Índice de conversión (IC) en kg pienso/kg carne en los diferentes días del estudio 2.

	CN	PPF063	PPF125	PPF250	PPF375	PC
IC día 1 a 11, g/d	1,35±0,02a	1,22±0,02ab	1,21±0,02ab	1,09±0,02b	1,17±0,02ab	1,17±0,02ab
IC día 11 a 22, g/d	1,42±0,02a	1,40±0,02a	1,40±0,02a	1,39±0,02a	1,41±0,02a	1,25±0,02b
IC día 1 a 22, g/d	1,40±0,02a	1,34±0,02ab	1,34±0,02ab	1,30±0,02ab	1,34±0,02ab	1,24±0,02b

Medias con letras diferentes en la misma fila muestran diferencias significativas ($p < 0,05$). § muestra tendencia estadística ($p < 0,1$).

En la primera fase los lechones de los grupos experimentales fueron más eficientes que los lechones del grupo control negativo (CN) ($p = 0,0037$). En la segunda fase los lechones más eficientes fueron los del grupo control positivo (PC, Plasma), teniendo la misma eficiencia los lechones de los grupos cuya dieta contenía PPF y los del control CN ($p = 0,0089$). Globalmente los lechones de todos los grupos experimentales fueron más eficientes que los lechones del grupo control negativo (CN) ($p = 0,0173$).

A lo largo del estudio no hubo ningún problema patológico. Los grupos PPF063 y PPF250 no tuvieron ningún lechón muerto. Los grupos CN, PPF125 y PPF250 tuvieron 1 lechón muerto cada uno y el grupo PC tuvo 3 lechones muertos.

5.5 Discusión.

Dos estudios se llevaron a cabo con el fin de estudiar si la PPF podía reemplazar al SDAP en las dietas postdestete de los lechones y si su actuación podía estar ligada a un incremento en el nivel de IGF-I en plasma en lechones destetados. El primero de los estudios se llevó a cabo como un estudio exploratorio donde la PPF se incorporó a las dietas en sustitución del SDAP. En el segundo, el objetivo fue conocer el punto óptimo de incorporación de PPF con respecto a la incorporación de SDAP.

En ninguno de los estudios con las dietas ensayadas durante la primera fase de cada estudio (días 1 a 11 postdestete) los lechones alcanzaron una ganancia media diaria de 250 g/d, siendo este umbral la ganancia media de los lechones días antes del destete. Las dietas que contenían SDAP fueron las que tuvieron mejores resultados (178 y 173 g/d para los estudios 1 y 2). Esas ganancias medias diarias en esta fase son consecuencia directa del consumo indicado por el índice de conversión de la

cantidad de pienso consumido relativo a la cantidad de peso ganado. En ambos estudios el consumo medio diario fue inferior a 250 g/d siendo los más elevados de nuevo en las dietas que contenían SDAP (249 y 203 g/d para los estudios 1 y 2).

Las cerdas, actualmente, son capaces de producir de 10 a 12 kg de leche al día (Pluske et al., 1998; Ngo, et al., 2012) alcanzando el pico de producción láctea entorno al día 21 de lactación. Con estas producciones lácteas los lechones tienen un crecimiento de 180 a 240 g al día entre el nacimiento y el destete a 24 días de promedio. El consumo de pienso por parte de los lechones durante la lactación es reducido siendo éste aproximadamente de 250 g/d por camada a los 21 días de lactación (Sulabo et al., 2010).

Tras el destete los lechones sufren habitualmente un síndrome conocido como síndrome del postdestete (Lallès et al., 2004; Lallès et al., 2007b; Verdonk et al., 2007; Montagne et al., 2007; Reis de Souza et al., 2010; Wijtten et al., 2011; Campbell et al., 2013; Heo et al., 2013; Pluske 2013). Este síndrome está causado por:

- el cambio en la dieta que pasa de una dieta líquida a una sólida,
- la inmadurez del sistema digestivo,
- cambios sociales y del medio ambiente donde vive el lechón y
- la inmadurez del sistema inmune.

Estos factores tienen como resultado un incremento del estrés (Moeser, et al., 2007a; Moeser, et al., 2007b; McLamb et al., 2013) y una marcada anorexia (Dong et al., 2007) que dan lugar a cambios en la microbiota intestinal, con un incremento de las poblaciones bacterianas y un cambio en la proporción de bacterias de diferentes familias y cambios en la morfología intestinal viéndose afectada la arquitectura de la mucosa intestinal (Pieper et al., 2008).

No se registraron en ninguno de los dos estudios los consumos de pienso anteriores al día 12 y 11 respectivamente, pero la anorexia queda reflejada en el estudio 1 donde los lechones fueron pesados los días 4, 8 y 12 (Tabla 35). Si calculamos las ganancias medias diarias de la misma forma que se calcularon las de la Tabla 36 podemos observar una marcada anorexia en todos los grupos. Esto queda reflejado en la Tabla 44.

Tabla 44: Ganancia media diaria (g/d) en los diferentes periodos de la fase 1 en el estudio 1.

	CN	Plas	PPF133	PPF267	PPF400
GMD 1 a 4, g/d	115±65	175±65	122±65	144±65	-1±65
GMD 4 a 8, g/d	127±60	229±60	41±60	201±60	225±60
GMD 8 a 12, g/d	231±69	130±69	253±69	105±69	198±69
GMD 1 a 12, g/d	158±23	178±23	139±23	150±23	141±23

A pesar de no encontrar diferencias entre ningún grupo en ningún periodo ($p=0,388$; $0,159$; $0,502$ y $0,767$ para los 4 periodos de la Tabla 44 respectivamente), el grupo de lechones que consumió plasma, creció más numéricamente que el resto de los lechones en el periodo de los primeros 4 días postdestete confirmando lo que Remus (Remus et al., 2013) encontraron en su metaanálisis aunque sin tener diferencias estadísticas probablemente por el reducido número de unidades experimentales.

Los resultados de los estudios 1 y 2 concuerdan con los resultados de los estudios revisados en el trabajo de Remus et al., (2013). Los autores de este estudio realizaron un metaanálisis donde revisaron 23 estudios llevados a cabo entre 1994 y 2010. Los 23 estudios fueron elegidos debido a que tuvieron como objetivo solamente la investigación de los resultados productivos de los lechones obviando todos aquellos estudios en los que factores patológicos pudieran interferir. El consumo medio diario en el postdestete encontrado fue de 256 a 263 g/d muy cercanos a los observados en estos estudios.

Uno de los problemas de ambos estudios debido a las fases iniciales del estudio del PPF fue que los lechones fueron pesados en su conjunto y no de forma individual donde se hubieran podido establecer sus ganancias diarias a dependiendo de su peso de destete. Se ha realizado en ambos estudios el análisis estadístico de las variables estudiadas covariando con el peso a destete y no se ha apreciado ninguna mejora sobre el modelo estadístico propuesto, por lo que se ha tenido en cuenta el principio de parsimonia y se muestran los resultados sin covariable. Los lechones fueron asignados a cada corral de tal forma que el peso del corral, edad al destete y sexo fueran homogéneos entre ellos y no hubiera diferencias al aleatorizar los tratamientos.

El estrés que ocasiona al destete causa efectos negativos en la barrera intestinal debido a la reducción de la resistencia eléctrica transepitelial y al incremento de la permeabilidad intestinal en el yeyuno y en el colon y esto es debido al incremento en la expresión tanto en yeyuno como en colon del receptor 1 del factor de liberación de corticotrofina (corticotrophin-releasing factor receptor 1, CRF) (Moesser, et al., 2007b) que es un neurotransmisor relacionado con la respuesta al

estrés. Moeser en 2007, demostró que el sistema nervioso entérico se activa a través del CRF y de los mastocitos, ligando así la respuesta inmune con el estrés y el sistema digestivo.

La inflamación transitoria del intestino del lechón tras el destete ha sido documentada (McCracken et al., 1999; Pié et al., 2004). En particular respuestas tempranas fueron caracterizadas por el aumento de citoquinas inflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF- α)

tras el destete que refleja la activación de varios tipos celulares en los tejidos de la mucosa intestinal. Poco se conoce sobre las HSP (heat shock protein, proteínas del choque térmico) en lechones destetados, aparte de la observación de que su perfil varía a lo largo de la vida del lechón tras el destete. Las HSP juegan un papel central en la protección de células y tejidos sometidos a estrés (David, et al., 2002)

La inmadurez del sistema digestivo del lechón al destete se debe por una parte a la falta de producción de enzimas necesarias para digerir los componentes de la nueva dieta y por otra parte a la atrofia de las vellosidades e hipertrofia de las criptas de Lieberkün que generan una disminución del peso del intestino del orden del 20 al 30% (McCracken et al., 1999; Lallès et al., 2004). La alteración de las vellosidades intestinales hace que se pierdan enterocitos maduros ricos en enzimas digestivas que trae como consecuencia una disminución en la actividad de las enzimas producidas por los enterocitos.

La principal consecuencia de estos cambios es una marcada anorexia durante los primeros 3 a 5 días postdestete, seguido de una fase de sobrealimentación a partir del día 5 a 7 postdestete. Habitualmente los lechones superan esta fase pero en ocasiones ocurren infecciones oportunistas, mala absorción, como consecuencia de la alta ingesta de pienso posterior a la fase de anorexia y una mala digestión debido a la inmadurez del sistema digestivo. Estos desórdenes causan a menudo diarrea, que se conoce como diarrea del postdestete. Es debido a esta diarrea por la que la mayoría de los piensos en el periodo inmediato tras el destete llevan en su composición antibióticos como la colistina y óxido de zinc que entre otras acciones modifica la flora intestinal previniendo la diarrea (Pieper et al., 2012; Davin et al., 2013; Liu et al., 2014; Gefeller et al., 2015).

El retraso en el inicio de la ingesta de pienso por parte de los lechones una vez destetados compromete el desarrollo y la integridad de la mucosa intestinal (Pluske, et al., 1997). Por lo tanto conseguir que los lechones desde el momento del destete consuman una gran cantidad de pienso es uno de los principales objetivos en esta fase de la producción. El incremento de la palatabilidad y de

la digestibilidad de los piensos usados tras el destete lleva a la búsqueda de materias primas que aumenten ambos factores (Solà-Oriol, et al., 2009; Solà-Oriol, et al., 2011).

Pero también un factor a menudo olvidado cuando se trata de incrementar el consumo de pienso de los lechones en el postdestete es el proceso de aprendizaje de los lechones de los hábitos alimenticios. Los cerdos son animales muy sociales desde muy corta edad (Figuerola et al., 2013) y aunque hay pocos estudios que demuestran cómo los lechones son capaces de aprender el hábito de comer un producto extraño para ellos como es el pienso (Nicol et al., 1994; Held et al., 2000) Morgan (Morgan et al., 2001) y Figuerola (Figuerola, J. 2012; Figuerola et al., 2013) han demostrado que los lechones son capaces de aprender a comer antes si un congénere perteneciente a la misma camada o al menos conocido con anterioridad lo hace.

Este fenómeno de la anorexia postdestete, conocido como neofobia alimentaria, no es exclusivo de la especie porcina y parece estar muy relacionado con las especies omnívoras que deben consumir una amplia variedad de alimentos para su supervivencia (Figuerola, J. 2012; Figuerola et al., 2013). Esta neofobia puede verse reducida a través de un proceso de aprendizaje que conlleve experiencias positivas para el lechón (Oostindjer et al., 2011).

En ambos estudios el IC fue similar a los observados en el metaanálisis de Remus (Remus et al., 2013), significando únicamente que las dietas usadas fueron reflejo de las dietas que actualmente usa la industria porcina y es refrendada por organismos como Fedna.

La hormona del crecimiento es el mayor regulador del crecimiento postnatal en los mamíferos siendo segregada de forma pulsátil en la pituitaria anterior y está regulada primariamente por GHRH y por la somatostatina. La mayoría de los efectos anabólicos de GH son mediados por IGF-I que es sintetizada y segregada después de que GH se una a receptores específicos.

Dado que el crecimiento de los lechones tras el destete es errático debido a su bajo consumo de pienso tras el destete, el conocimiento del funcionamiento de GH y de IGF-I en lechones podría ayudar en la mejora de su crecimiento. Saleri et al., (2001) estudiaron los niveles de GH y de IGF-I en lechones con pesos normales y lechones con poco crecimiento encontrando que los niveles basales de GH no diferían entre ambos grupos de lechones. Los niveles basales de IGF-I fueron de $101,8 \pm 9,8$ ng/mL en lechones con peso normal y de $39,5 \pm 4,0$ ng/mL en lechones con crecimiento bajo. Posteriormente, Morise et al., (2011) no encontraron tampoco diferencias cuando estudiaban si existían diferencias hormonales entre lechones nacidos con peso normal o bajo al nacimiento (30%

inferior) y alimentados con lactancia artificial a partir del día 7 de vida con dietas normales (como la leche de la cerda) o altas (50% mayor) en proteína situándose los valores de IGF-I en estos animales a los 70 días de vida entre 60 y 120 ng/mL. Wei et al., en 2013 al estudiar los efectos de una dieta enriquecida en DHA en el crecimiento de cerdos de engorde encontraron diferencias en la expresión en el músculo de IGF-I pero no encontraron diferencias en los niveles circulantes en plasma de IGF-I. Estos autores concluyen su trabajo indicando que el incremento en la expresión muscular de IGF-I en la dieta con DHA estuvo asociado a un incremento en la expresión de mRNA y una mayor síntesis proteica pero que éste no se relacionaba con un incremento en el nivel de IGF-I en plasma. Giachetto et al., en 2004 en un estudio con broilers ya encontraron de que a pesar de las diferencias encontradas en cuanto al crecimiento, los niveles de IGF-I no eran diferentes encontrando diferencias sólo en cuanto a la edad.

En el estudio 1, donde se determinaron los niveles de IGF-I a los 4 días postdestete con el fin de conocer si éstos diferían dependiendo del grupo de estudio, se obtuvieron resultados similares en cuanto al nivel de IGF-I que en el trabajo de Saleri et al., Los niveles de IGF-I resultaron entre $32,4 \pm 4,8$ ng/mL en el grupo PPF133 y $84,3 \pm 4,8$ ng/mL para el grupo Plas no estando correlacionado el valor de IGF-I a día 4 ni con el peso a día 4 ($0,197$; $p=0,223$), ni con el peso a destete ($-0,017$; $p=0,919$) ni con la ganancia media diaria entre los días 1 a 4 ($0,184$; $p=0,257$) (ver Figura 11, Figura 12 y Figura 13).

No se realizaron análisis de IGF-I posteriores al día 4 para conocer su evolución a lo largo del tiempo y sobre todo para conocer si con una mayor ingesta en cuanto al tiempo de PPF, los valores de IGF-I podían variar.

5.6 Conclusiones e implicaciones

Bajo las condiciones de estos estudios, PPF puede llegar a reemplazar a SDAP en las dietas post destete de los lechones. El nivel de IGF-I a los cuatro días post destete es mayor en los lechones que consumieron SDAP que en el resto pero sin tener implicaciones en los parámetros productivos.

Deben realizarse más estudios con otros ingredientes proteicos para conocer si PPF puede mejorar los parámetros productivos en lechones destetados que consuman dietas donde no se incorpora SDAP.

Probablemente el estudio de IGF-I no sea el más adecuado para validar las diferencias de los índices productivos cuando se intenta incorporar PPF en la dieta de lechones destetados dada su alta

variabilidad y alto coste.

5.7 Bibliografía.

Aziz, N.H., y G.I. Mohsen. 2002. «Bioconversion of Acid- and Gamma-Ray-Treated Sweet Potato Residue to Microbial Protein by Mixed Cultures.» *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 29 (5): 264-67. doi:10.1038/sj.jim.7000297.

Brameld, John M., Jane L. Atkinson, John C. Saunders, Jennifer M. Pell, Peter J. Buttery, y R. Stewart Gilmour. 1996. «Effects of growth hormone administration and dietary protein intake on insulin-like growth factor I and growth hormone receptor mRNA expression in porcine liver, skeletal muscle, and adipose tissue.» *Journal of Animal Science-Menasha-* 74: 1832-41.

Bunter, K. L., S. Hermesch, B. G. Luxford, H. -U Graser, y R. E. Crump. 2005. «Insulin-like growth factor-I measured in juvenile pigs is genetically correlated with economically important performance traits.» *Australian Journal of Experimental Agriculture* 45 (7-8): 783-92.

Campbell, J.M., J.D. Crenshaw, y J. Polo. 2013. «The Biological Stress of Early Weaned Piglets.» *Journal of Animal Science and Biotechnology* 4 (1). doi:10.1186/2049-1891-4-19.

Carroll, J. A., T. L. Veum, y R. L. Matteri. 1998. «Endocrine responses to weaning and changes in post-weaning diet in the young pig.» *Domestic animal endocrinology* 15 (3): 182-94.

David, J.C., J.F. Grongnet, y J.P. Lalles. 2002. «Weaning Affects the Expression of Heat Shock Proteins in Different Regions of the Gastrointestinal Tract of Piglets.» *Journal of Nutrition* 132 (9): 2551-61.

Davin, R., E.g. Manzanilla, K.c. Klasing, y J.f. Pérez. 2013. «Effect of Weaning and in-Feed High Doses of Zinc Oxide on Zinc Levels in Different Body Compartments of Piglets.» *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 97 (mayo): 6-12. doi:10.1111/jpn.12046.

de Blas, Carlos de Blas, Gonzalo González Mateos, y Pilar García Rebollar. 2003. *Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos*. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

DOC. 18_02_2009. «Directiva 2008/120/ CE del Consejo.»

Dong, G.Z.a, y J.R.a b Pluske. 2007. «The low feed intake in newly-weaned pigs: Problems and possible solutions.» *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 20 (3): 440-52.

Dunaiski, V., F.R. Dunshea, P.E. Walton, y C. Goddard. 1997. «Long [R3] Insulin-like Growth Factor-I Reduces Growth, Plasma Growth Hormone, IGF Binding Protein-3 and Endogenous IGF-I Concentrations in Pigs.» *Journal of Endocrinology* 155 (3): 559-65.

Figuerola, J. 2012. «Learning Strategies to Increase Piglets Feed Intake after Weaning.» Barcelona: UAB.

Figuerola, Jaime, David Solà-Oriol, Xavier Manteca, y José Francisco Pérez. 2013. «Social learning of feeding behaviour in pigs: Effects of neophobia and familiarity with the demonstrator conspecific.» *Applied Animal Behaviour Science* 148 (1-2): 120-27. doi:10.1016/j.applanim.2013.06.002.

Gefeller, E.M., H. Martens, J.R. Aschenbach, S. Klingspor, S. Twardziok, P. Wrede, R. Pieper, y U. Lodemann. 2015. «Effects of Age and Zinc Supplementation on Transport Properties in the Jejunum of Piglets.» *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 99 (3): 542-52. doi:10.1111/jpn.12232.

Gélinas, P., y J. Barrette. 2007. «Protein Enrichment of Potato Processing Waste through Yeast Fermentation.» *Bioresource Technology* 98 (5): 1138-43. doi:10.1016/j.biortech.2006.04.021.

Giachetto, P.F., E.C. Riedel, J.E. Gabriel, M.I. Tiraboschi Ferro, S.M. Zingaretti Di Mauro, M. Macari, y J.A. Ferro. 2004. «Hepatic mRNA Expression and Plasma Levels of Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) in Broiler Chickens Selected for Different Growth Rates.» *Genetics and Molecular Biology* 27 (1): 39-44.

Held, S., M. Mendl, C. Devereux, y R.W. Byrne. 2000. «Social tactics of pigs in a competitive foraging task: The “informed forager” paradigm.» *Animal Behaviour* 59 (3): 569-76. doi:10.1006/anbe.1999.1322.

Heo, J.M., F.O. Opapeju, J.R. Pluske, J.C. Kim, D.J. Hampson, y C.M. Nyachoti. 2013. «Gastrointestinal health and function in weaned pigs: A review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds.» *Journal of Animal Physiology*

and Animal Nutrition 97 (2): 207-37.

Hossner, K. L., R. H. McCusker, y M. V. Dodson. 1997. «Insulin-like growth factors and their binding proteins in domestic animals.» *Animal Science* 64 (1): 1-15.

Lallès, J.-P., P. Bosi, H. Smidt, y C.R. Stokes. 2007a. «Nutritional Management of Gut Health in Pigs around Weaning.» *Proceedings of the Nutrition Society* 66 (2): 260-68. doi:10.1017/S0029665107005484.

Lallès, J.-P., G. Boudry, C. Favier, N. Le Floc'h, I. Luron, L. Montagne, I.P. Oswald, S. Pié, C. Piel, y B. Sève. 2004. «Gut Function and Dysfunction in Young Pigs: Physiology.» *Animal Research* 53 (4): 301-16. doi:10.1051/animres:2004018.

Lee, C. Y., C. S. Chung, y F. A. Simmen. 1993. «Ontogeny of the porcine insulin-like growth factor system.» *Molecular and cellular endocrinology* 93 (1): 71-80.

Lindemann, M.D., S.G. Cornelius, S.M. el Kandelgy, R.L. Moser, y J.E. Pettigrew. 1986. «Effect of Age, Weaning and Diet on Digestive Enzyme Levels in the Piglet.» *Journal of Animal Science* 62 (5): 1298-1307.

Liu, Ping, Robert Pieper, Juliane Rieger, Wilfried Vahjen, Roger Davin, Johanna Plendl, Wilfried Meyer, y Jürgen Zentek. 2014. «Effect of Dietary Zinc Oxide on Morphological Characteristics, Mucin Composition and Gene Expression in the Colon of Weaned Piglets.» *PLoS ONE* 9 (3): e91091. doi:10.1371/journal.pone.0091091.

Louveau, I., y J. Le Dividich. 2002. «GH and IGF-I binding in adipose tissue, liver, and skeletal muscle in response to milk intake level in piglets.» *General and comparative endocrinology* 126 (3): 310-17.

Louveau, I., H. Quesnel, y A. Prunier. 2000. «GH and IGF-I binding sites in adipose tissue, liver, skeletal muscle and ovaries of feed-restricted gilts.» *Reproduction Nutrition Development* 40 (6): 571-78.

Matteri, R.L.a, C.J.a Dyer, K.J.b Touchette, J.A.a Carroll, y G.L.b Allee. 2000. «Effects of weaning on somatotrophic gene expression and circulating levels of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and IGF-2 in pigs.» *Domestic Animal Endocrinology* 19 (4): 247-59.

- McCracken, B.A.b, M.E.d Spurlock, M.A.d Roos, F.A.c Zuckermann, y H.R.a Gaskins. 1999. «Weaning Anorexia May Contribute to Local Inflammation in the Piglet Small Intestine.» *Journal of Nutrition* 129 (3): 613-19.
- McLamb, Brittney L., Amelia J. Gibson, Elizabeth L. Overman, Chad Stahl, y Adam J. Moeser. 2013a. «Early Weaning Stress in Pigs Impairs Innate Mucosal Immune Responses to Enterotoxigenic E. Coli Challenge and Exacerbates Intestinal Injury and Clinical Disease.» *PloS One* 8 (4): e59838. doi:10.1371/journal.pone.0059838.
- Moeser, A.J., C.V. Klok, K.A. Ryan, J.G. Wooten, D. Little, V.L. Cook, y A.T. Blikslager. 2007. «Stress Signaling Pathways Activated by Weaning Mediate Intestinal Dysfunction in the Pig.» *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 292 (1): G173-81. doi:10.1152/ajpgi.00197.2006.
- Moeser, A.J., K.A. Ryan, P.K. Nighot, y A.T. Blikslager. 2007. «Gastrointestinal Dysfunction Induced by Early Weaning Is Attenuated by Delayed Weaning and Mast Cell Blockade in Pigs.» *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 293 (2): G413-21. doi:10.1152/ajpgi.00304.2006.
- Montagne, L., G. Boundry, C. Favier, I. Le Huerou-Luron, J.-P. Lallès, y B. Sève. 2007. «Main Intestinal Markers Associated with the Changes in Gut Architecture and Function in Piglets after Weaning.» *British Journal of Nutrition* 97 (1): 45-57. doi:10.1017/S000711450720580X.
- Morgan, C.A., A.B. Lawrence, J. Chirnside, y L.A. Deans. 2001. «Can information about solid food be transmitted from one piglet to another?» *Animal Science* 73 (3): 471-78.
- Morise, A., B. Sève, K. MacÉ, C. Magliola, I. Le Hurou-Luron, y I. Louveau. 2011. «Growth, body composition and hormonal status of growing pigs exhibiting a normal or small weight at birth and exposed to a neonatal diet enriched in proteins.» *British Journal of Nutrition* 105 (10): 1471-79.
- Ngo, T.T., J.Y, N. Quiniou, y Heugebaert, S. 2012. «Influence du rang de portée et du nombre de porcelets allaités sur la production laitière des truies.» *Journées de la Recherche Porcine*.
- Nicol, C.J., y S.J. Pope. 1994. «Social learning in sibling pigs.» *Applied Animal Behaviour Science* 40 (1): 31-43. doi:10.1016/0168-1591(94)90085-X.
- Oostindjer, M., J.E. Bolhuis, M. Mendl, S. Held, H. van den Brand, y B. Kemp. 2011. «Learning

how to eat like a pig: Effectiveness of mechanisms for vertical social learning in piglets.» *Animal Behaviour* 82 (3): 503-11. doi:10.1016/j.anbehav.2011.05.031.

Pieper, R., P. Janczyk, A. Zeyner, H. Smidt, V. Guiard, y W.B. Souffrant. 2008. «Ecophysiology of the Developing Total Bacterial and Lactobacillus Communities in the Terminal Small Intestine of Weaning Piglets.» *Microbial Ecology* 56 (3): 474-83. doi:10.1007/s00248-008-9366-y.

Pieper, R., W. Vahjen, K. Neumann, A. G. Van Kessel, y J. Zentek. 2012. «Dose-dependent effects of dietary zinc oxide on bacterial communities and metabolic profiles in the ileum of weaned pigs.» *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 96 (5): 825-33. doi:10.1111/j.1439-0396.2011.01231.x.

Pié, S., J. P. Lallès, F. Blazy, J. Laffitte, B. Sève, y I. P. Oswald. 2004. «Weaning Is Associated with an Upregulation of Expression of Inflammatory Cytokines in the Intestine of Piglets.» *Journal of Nutrition* 134 (3): 641-47.

Pluske, J.R. 2013. «Feed- and feed additives-related aspects of gut health and development in weanling pigs.» *Journal of Animal Science and Biotechnology* 4 (1). doi:10.1186/2049-1891-4-1.

Pluske, J.R., D.J. Hampson, y I.H. Williams. 1997. «Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: A review.» *Livestock Production Science* 51 (1-3): 215-36.

Pluske, J.R., Williams, I.H., y Aherne, F.X. 1995. «Nutrition of the neonatal pig.» En *The Neonatal Pig: Development and Survival*, 187-235. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.

Pluske, J. R., I. H. Williams, L. J. Zak, E. J. Clowes, A. C. Cegielski, y F. X. Aherne. 1998. «Feeding Lactating Primiparous Sows to Establish Three Divergent Metabolic States: III. Milk Production and Pig Growth.» *Journal of Animal Science* 76 (4): 1165-71.

Reis de Souza, Tércia Cesária Reis, Gerardo Mariscal Landín, y Konisgmar Escobar García. 2010. «Algunos factores fisiológicos y nutricionales que afectan la incidencia de diarreas posdestete en lechones Some physiological and nutritional factors affecting the incidence of post-weaning diarrhea.» *Veterinary México* 41: 4.

Remus, A., I. Andretta, M. Kipper, C.R. Lehnen, C.C. Klein, P.A. Lovatto, y L. Hauschild. 2013a. «A Meta-Analytical Study about the Relation of Blood Plasma Addition in Diets for Piglets in the Post-Weaning and Productive Performance Variables.» *Livestock Science* 155 (2-3): 294-300.

doi:10.1016/j.livsci.2013.04.020.

Saleri, R., M. Baratta, G.L. Mainardi, R. Renaville, A. Giustina, F. Quintavalla, y C. Tamanini. 2001. «IGF-I, IGFBP-2 and -3 but not GH concentrations are different in normal and poor growing piglets.» *Reproduction Nutrition Development* 41 (2): 163-72.

Simmen, F. A., L. Badinga, M. L. Green, I. Kwak, S. Song, y R. C. M. Simmen. 1998. «The porcine insulin-like growth factor system: At the interface of nutrition, growth and reproduction.» *Journal of Nutrition* 128 (2 SUPPL.): 315S - 320S.

Smith, P.J., Spurrell, E.L., Coakley, J., Hinds, C.J., Ross, R.J.M., Krainer, A.R., Chew, S.L. 2002. «An exonic splicing enhancer in human IGF-I Pre-mRNA mediates recognition of alternative exon 5 by the serine-arginine protein splicing factor-2/alternative splicing factor.» *Endocrinology* 143 (1): 146-54.

Solà-Oriol, D., E. Roura, y D. Torrallardona. 2009. «Feed Preference in Pigs: Effect of Cereal Sources at Different Inclusion Rates.» *Journal of Animal Science* 87 (2): 562-70. doi:10.2527/jas.2008-0949.

Straus, D. S. 1994. «Nutritional regulation of hormones and growth factors that control mammalian growth.» *FASEB Journal* 8 (1): 6-12.

Sulabo, R C, J Y Jacela, M D Tokach, S S Dritz, R D Goodband, J M DeRouchey, y J L Nelssen. 2010. «Effects of Lactation Feed Intake and Creep Feeding on Sow and Piglet Performance.» *Journal of Animal Science* 88 (9): 3145-53. doi:10.2527/jas.2009-2131.

Torrallardona, D., R. Conde, E. Esteve-García, y J. Brufau. 2002. «Use of Spray Dried Animal Plasma as an Alternative to Antimicrobial Medication in Weanling Pigs.» *Animal Feed Science and Technology* 99 (1-4): 119-29. doi:10.1016/S0377-8401(02)00072-X.

Van Dijk, A.J., H. Everts, M.J.A. Nabuurs, R.J.C.F. Margry, y A.C. Beynen. 2001. «Growth Performance of Weanling Pigs Fed Spray-Dried Animal Plasma: A Review.» *Livestock Production Science* 68 (2-3): 263-74. doi:10.1016/S0301-6226(00)00229-3.

Verdonk, J.M.A.J., E.M.A.M. Bruininx, J. van der Meulen, y M.W.A. Verstegen. 2007. «Post-Weaning Feed Intake Level Modulates Gut Morphology but Not Gut Permeability in Weaned Piglets.» *Livestock Science* 108 (1-3): 146-49. doi:10.1016/j.livsci.2007.01.093.

Wei, H.-K., Y. Zhou, S. Jiang, Y.-X. Tao, H. Sun, J. Peng, y S. Jiang. 2013. «Feeding a DHA-Enriched Diet Increases Skeletal Muscle Protein Synthesis in Growing Pigs: Association with Increased Skeletal Muscle Insulin Action and Local mRNA Expression of Insulin-like Growth Factor 1.» *British Journal of Nutrition* 110 (4): 671-80. doi:10.1017/S0007114512005740.

Wijtten, P.J.A., J.V.D. Meulen, y M.W.A. Verstegen. 2011. «Intestinal Barrier Function and Absorption in Pigs after Weaning: A Review.» *British Journal of Nutrition* 105 (7): 967-81. doi:10.1017/S0007114510005660.

6 Discusión general

En 1997 Schils Limited, una compañía holandesa dedicada al engorde de terneros conoció que unos investigadores franceses estudiaban las propiedades del género *Taxus* al cual pertenece el tejo. Éstos estaban investigando el tejo en la búsqueda de una vacunación efectiva contra el cáncer dadas sus propiedades.

El tejo común o tejo negro es una conífera de 20 m de altura del género *taxus* originaria de Europa occidental, central y meridional, noroeste de África, norte de Irán y del sudeste asiático. Toda la planta es venenosa excepto el arilo (cobertura carnosa de ciertas semillas) que recubre el fruto. Sus hojas contienen dos compuestos químicos, la bacatina y el 10-deacetilbacatina que mediante reacciones de semisíntesis dan lugar al paclitaxel o taxol, un potente agente anticanceroso («*Taxus baccata*» 2015).

Entre otras propiedades, el tejo tiene un efecto claramente inhibidor del crecimiento celular. Estos investigadores consideraron que también sería posible encontrar el efecto contrario, es decir, encontrar extractos vegetales que estimularan el crecimiento celular (Janssen et al., 1993). Tras estas preliminares investigaciones encontraron un producto extraído mediante fermentación de la proteína de patata que en terneros de cebo tenía un interesante efecto: los terneros tenían mejor ingesta diaria y mostraban mejor digestibilidad. Su hipótesis de trabajo fue que este extracto incrementaba la producción de IGF-I a nivel hepático y que este nivel de IGF-I tenía un efecto positivo en otras funciones del sistema digestivo (Janssens, 2007).

Tras una serie de ensayos en cerdos con el extracto de proteína de patata fermentada (PPF) los resultados productivos de los cerdos y cerdas mejoraban (Forier, 2007, comunicación personal; Boerenbond et al., 2007).

El objetivo global de esta serie de estudios fue conocer si la administración oral de un producto obtenido de la fermentación de la proteína de patata incrementaba los resultados productivos en diferentes fases del ciclo de producción porcina y si este incremento era debido a un incremento de IGF-I a nivel plasmático.

Con este objetivo en mente y en unas fases muy iniciales de investigación se propuso realizar 3 estudios casi simultáneos en el tiempo en producción porcina: uno en cerdas para estudiar si la administración de PPF podía mejorar el número de lechones nacidos y disminuir el número de días no productivos tras el destete de las cerdas cuando este producto se aplicaba en la dieta de cerdas unos días antes del destete y unos después (hasta la cubrición) que conforma el primer estudio, un

segundo estudio en lechones tras el nacimiento en el que el objetivo fue estudiar si la aplicación oral de PPF a los lechones neonatos incrementaba su supervivencia o su peso durante la fase de lactancia y un tercer estudio donde se estudió si la incorporación en la dieta de lechones destetados de PPF mejoraba sus resultados productivos en la fase postdestete.

IGF-I es un potente mitógeno que estimula la proliferación celular y la síntesis proteica. Los elevados niveles de IGF-I que se alcanzan tras la administración de hormona del crecimiento se cree que son los responsables del aumento de la deposición proteica y de que las tasas de deposición proteica son proporcionales a los niveles de IGF-I (Pursel et al., 2004).

Los niveles de IGF-I en los tejidos están también controlados por GH. La familia IGF se sintetiza también en las fisas o cartílagos de crecimiento de los huesos largos (Siebler et al., 2001), ovario (Foster et al., 1995; Le Roith 2001) y riñón (Le Roith 2003) por lo que IGF-I tiene una actuación pleiotrópica, a nivel paracrino, endocrino y autocrino (Annunziata et al., 2011). En el útero son los estrógenos los que regulan su síntesis (Foster et al., 1995; Le Roith 2001) y por lo tanto la expresión de IGF-I es independiente de GH. Los niveles de IGF-I durante el desarrollo fetal son inferiores a los postnatales (Daughaday et al., 1989) que son GH-dependientes por lo que la acción de IGF-I en el feto es autocrina y paracrina.

IGF-I está también relacionada con la inmunidad. Las citoquinas proinflamatorias actúan a menudo como señales de retroalimentación negativa de diferentes hormonas y de factores de crecimiento con IGF-I. O'Connor et al., (2008) demostraron que tanto TNF- α como la interleuquina IL-1 β inducen un estado de resistencia de IGF-I con lo que el crecimiento y otras funciones de los animales quedarán disminuidas en el caso de que el sistema inmune tenga alguna reacción. Pastorelli et al., (2012) hicieron un metaanálisis donde se pueden apreciar los niveles de afectación sobre el crecimiento e ingesta que los cerdos sufren cuando se activa el sistema inmune durante enfermedades respiratorias, digestivas o parasitarias. Spurlock (1997) hizo una revisión extensa de estas regulaciones.

IGF está activada durante el desarrollo fetal con efectos promotores del crecimiento especialmente en el hueso, glándula mamaria, próstata y tejido muscular. También está implicada en la renovación de tejidos en la etapa post-natal principalmente en el tejido muscular y en la glándula mamaria, participando de forma muy activa como factor de supervivencia en el tejido nervioso ejerciendo un papel neuroprotector en condiciones patológicas (Humbert et al., 2002; Carro et al., 2002). El sistema IGF juega un papel muy importante en la plasticidad neuronal y en funciones cognitivas

(Aleman et al., 1999; Llorens-Martín et al., 2009).

Con estas funciones de IGF-I, con los resultados previos obtenidos con el estudio de sustancias como el taxol y los resultados previos obtenidos con el uso de la proteína de patata fermentada, fue cómo se idearon los 3 estudios que se realizaron en el marco de esta tesis doctoral.

La rentabilidad de la producción porcina depende del número de lechones destetados por cerda y año siendo esta variable un factor compuesto del número de lechones destetados por cerda en cada destete por el número de partos que esa cerda tiene a lo largo del año. Por lo tanto si se quiere mejorar puede hacerse por ambas vías y el estudio en las cerdas se planteó con ese doble objetivo, reducir el número de días no productivos para obtener más partos por cerda y año e incrementar bien el número de lechones nacidos totales.

En el primer objetivo, reducir el número de días no productivos, se utilizaron los estudios previos realizados con la glucosa como un suplemento nutricional (Coffey et al., 1987; Foxcroft 1992; Quesnel et al., 1998, 2005, 2009; van den Brand et al., 2000, 2001, 2006, 2009) que dado a las cerdas en los momentos previos y posteriores al destete lograban disminuir el intervalo entre el destete y el celo efectivo y también lograban en algún caso incrementar el número de lechones nacidos totales sobre todo en cerdas primíparas evitando el síndrome del segundo parto (Richert et al., 1997; Touchette et al., 1998; Yang et al., 2000; Schenkel et al., 2010). La hipótesis de trabajo fue que PPF a través del incremento de IGF-I podría estimular la recuperación del balance nutricional y por lo tanto su función podría interaccionar con la de la glucosa. Pero no se han podido demostrar ningún efecto. No existió diferencia en los niveles de IGF-I ni a día 1 cuando todavía no se había iniciado el tratamiento, verificando que la aleatorización que se hizo de las cerdas era correcta, ni posterior al tratamiento, que era el efecto buscado. Un efecto que se reveló al analizar los resultados fue el diferente nivel de IGF-I que tenían las cerdas multíparas que habían sido nodrizas durante la lactación previa al estudio. Estas cerdas tuvieron un mayor nivel de IGF-I que vino a corroborar que la práctica bien del nodrizaje obtiene al menos un beneficio que es la recuperación nutricional de la cerda. Sin embargo esta recuperación no se vió plasmada en una disminución de los días no productivos o en un aumento de lechones. Las razones para la falta de efecto productivo pueden ser i) PPF no estimula la producción de IGF-I o ii) la dosificación usada no fue correcta. Tampoco la suplementación de glucosa tuvo ningún efecto bien en el nivel de IGF-I o en los datos productivos, circunstancia que ya estudiaron van den Brand et al., (2009), Park et al., (2010) y Wientjes et al., (2013) donde sólo lograban mejoras en las cerdas que en el parto anterior habían obtenido unos resultados inferiores en cuanto a prolificidad.

La falta de respuesta en este estudio en cuanto a la reducción del número de días no productivos (a la postre incremento en la fertilidad) pudo ser debida también a las características de la granja donde se realizó el estudio y a su alta productividad. Esta granja tenía un estándar sanitario muy alto y la calidad tanto de las instalaciones como del personal así como de la alimentación, eran muy altas. Su fertilidad alcanza constantemente valores superiores al 90% semanal y su prolificidad está en valores medios superando los 14 lechones nacidos por parto, lo que hace muy difícil el poder incrementar esas productividades. Se eligió precisamente esta granja dado que la mejora de niveles inferiores tanto de fertilidad como de prolificidad puede lograrse incrementando la calidad del manejo, o incrementando la calidad de las instalaciones o con una correcta aplicación de las dietas.

A pesar de que el tamaño muestral que se eligió en principio fue correcto, el efecto del nodrizaje, además de la pérdida de animales por razones de manejo de la granja, hizo que éste se viera mermado, pero dados los valores de probabilidad hallados la realización de estudios con más cerdas no fuera viable, dado el alto tamaño muestral necesario.

Sólo destetando el máximo número de los lechones nacidos se puede incrementar el segundo factor de la ecuación que maximiza la productividad. Es por ello, que en el segundo estudio se usó la hipótesis de trabajo de que PPF podía aumentar los niveles de IGF-I y por tanto aumentar la supervivencia de los lechones nacidos vivos y aumentar también su peso a destete.

La mortalidad de los lechones durante los primeros 5 días de vida se sitúa alrededor del 16% en muchas granjas industrializadas siendo uno de los factores que más atención está teniendo por parte de la industria (Årsberetning, 2014). Una de las principales causas de mortalidad de los lechones neonatos nacidos de cerdas hiperprolíficas es el bajo peso al nacimiento (Varley, 1995; Rehfeldt et al., 2006; Morise et al., 2008; Morise et al., 2009; D’Inca et al., 2011). También la irregularidad del peso dentro de las camadas (Morise et al., 2008), propicia que haya una gran competencia intracamada por parte de los lechones y que los lechones de menor peso tengan ingestas menores de calostro y leche.

Bajos pesos al nacimiento están relacionados con bajas reservas de energía en el lechón recién nacido. Estos lechones no son capaces de ingerir suficiente calostro y leche materna tras el nacimiento (Van Barneveld et al., 2011). Este hecho disminuye la supervivencia del lechón recién nacido ya que no es capaz de mantener la temperatura corporal (Kammersgaard et al., 2011) cayendo en un estado de hipotermia, hambre y muerte (Louveau et al., 2000; Gondret et al., 2005, Kammersgaard et al., 2011).

El eje GH/IGF-I tiene un papel crucial para que la alimentación ayude al desarrollo postnatal (Simmen et al., 1998). El eje GH/IGF-I no está maduro en los lechones como demostraron Harrell et al., (1999) donde no encontraron respuestas de incrementos de IGF-I cuando a los lechones se les suministraba GH exógena hasta el día 37 de vida. El status nutricional tiene una gran influencia en la expresión y secreción de una variedad de hormonas relacionadas con el crecimiento, incluyendo la GH, IGF-I e IGF-II, las hormonas tiroides y algunos glucocorticoides (Straus 1994; Booth et al., 2002; Renaville et al., 2002). El hambre y la desnutrición que sufren los lechones nacidos con bajo peso y que compiten por las mamas con sus congéneres de más peso, disminuyen el nivel de GH en plasma, disminuyen el nivel de IGF-I en plasma y alteran las cantidades de las proteínas ligantes de IGF-I (Straus 1994; Thissen et al., 1994). La disminución de GH debida a una disminución de la ingesta hace que las concentraciones de IGF-I también disminuyan (Thissen et al., 1999).

En la composición corporal del lechón lactante, la grasa es uno de los mayores componentes (Mitchell et al., 2012) y el tejido graso es capaz de producir IGF-I (Miner, 2004). Por lo tanto, parece posible que las variaciones en los niveles de IGF-I en los lechones lactantes sean debidas a las relaciones entre cantidad de músculo y grasa en el cuerpo confirmando la sugerencia de Harrell et al., (1999) de que probablemente la mayor parte de la IGF-I en lechones lactantes no provenga del hígado.

El estudio con lechones lactantes se llevó a cabo en una granja diferente a la que se usó para el estudio con cerdas lactantes. En esta granja, a pesar de que la prolificidad era alta, no era tan elevada como en la anterior. Se aleatorizaron los lechones de tal forma que en cada camada estuvieran todos los tratamientos presentes para eliminar ese efecto. Dado el buen peso al nacimiento medio de esa granja, su problema principal estaba en los lechones pequeños, los que nacieron con menos de 1,2 kg. No se encontraron diferencias en el nivel de IGF-I en ninguno de los días del estudio entre los tratamientos. Cuando se analizaron los niveles de IGF-I teniendo en cuenta los grupos de peso, se encontraron diferencias entre los lechones grandes ($\geq 1,2$ kg) y los pequeños ($< 1,2$ kg) en el día 7 de estudio confirmando que los animales de más peso tienen mayor nivel de IGF-I (Luxford 1998; Bunter et al., 2005). Sin embargo en el momento del destete esta diferencia no se apreció siendo incluso mayor el nivel de IGF-I de los lechones pequeños que el de los grandes numéricamente.

La mortalidad fue mayor en los animales pequeños que en los grandes debido a que ésta fue mayor en el intervalo entre los tres primeros días de vida (Varley 1995; Burrin et al., 1997; Pedersen et al., 2006; Rehfeldt et al., 2006; Morise et al., 2009; D'Inca et al., 2011; Pedersen et al., 2011;

«Årsberetning 2014), pero no a nivel global.

No se ha podido comprobar que la suplementación con PPF o glicerol en las primeras 24 horas de vida incremente el nivel de IGF-I, mejore la supervivencia o incremente el peso a destete. Se desconoce si la dosis no fue la óptima o si una sola dosis es insuficiente para lograr estos efectos y deberán realizarse más investigaciones en el futuro para determinar ambos puntos.

Con lechones destetados se realizaron dos estudios: el primero comparando el uso de SDAP frente a PPF y el segundo comparando diferentes niveles de PPF frente a SDAP. Ambos estudios se realizaron con lechones provenientes de la granja utilizada en el estudio de los lechones lactantes. En ambos estudios la hipótesis de trabajo fue que el suministro de PPF en la dieta podía reemplazar al plasma animal (SDAP) en la primera dieta postdestete y si las modificaciones estaban relacionadas con los niveles plasmáticos de IGF-I.

No se han podido demostrar diferencias entre los resultados productivos entre SDAP y PPF. Los niveles de IGF-I analizados únicamente en el primer estudio fueron superiores en el grupo de lechones que consumía SDAP.

Factores relacionados con el manejo de los lechones, la edad, y el bajo peso al destete junto con la baja digestibilidad de la proteína suministrada por las materias primas si las comparamos con la digestibilidad de la leche de la cerda (Lindemann et al., 1986) hacen que durante la primera semana postdestete muchos lechones pierdan peso o lo ganen en cantidades inferiores a las que venían haciéndolo justo antes del mismo (Pluske, et al., 1997; Pluske et al., 2000; Louveau et al., 2002; Lallès et al., 2004; Dong et al., 2007; Lallès et al., 2007).

Además el alto precio de las materias proteicas usadas en la fabricación de estas dietas así como circunstancias comerciales y regulatorias, hacen que la incesante la búsqueda de materias primas alternativas al uso de plasma animal.

Existen algunos estudios donde se confirma que las concentraciones plasmáticas de IGF-I están positivamente correlacionadas con el crecimiento tanto en animales de laboratorio como en animales de producción pero desafortunadamente esta circunstancia no se cumple siempre (Bunter et al., 2005). Estudios llevados a cabo por Brameld et al., (1996) demostraron que la expresión de IGF-I mRNA en hígado en cerdos es edad dependiente a partir de los 20 días de edad. Sin embargo la expresión de este mismo gen en el músculo longísimus fue variable en todas las edades.

Dado que el crecimiento de los lechones tras el destete es errático, el conocimiento del funcionamiento de GH y de IGF-I en lechones podría ayudar en la mejora de su crecimiento. Saleri et al., (2001) estudiaron los niveles de GH y de IGF-I en lechones con pesos normales y lechones con poco crecimiento encontrando que los niveles basales de GH no diferían entre ambos grupos de lechones. Morise et al., (2011) no encontraron diferencias en los niveles de IGF-I cuando estudiaban si existían diferencias hormonales entre lechones nacidos con peso normal o bajo al nacimiento (30% inferior) y alimentados con lactancia artificial a partir del día 7 de vida con dietas normales (como la leche de la cerda) o altas (50% mayor) en proteína. Wei et al., en 2013 al estudiar los efectos de una dieta enriquecida en DHA en el crecimiento de cerdos de engorde encontraron diferencias en la expresión en el músculo de IGF-I pero no encontraron diferencias en los niveles circulantes en plasma de IGF-I.

La inmadurez del intestino del lechón debido a su edad en el momento del destete causa una falta de secreción de enzimas capaces de digerir el nuevo alimento en el que entran a formar parte carbohidratos diferentes a la lactosa y fibras que el lechón no es capaz de digerir siendo este efecto retroalimentado por la atrofia de las vellosidades e hipertrofia de las criptas de Lieberkühn que generan una disminución del peso del intestino del orden del 20 al 30% (McCracken et al., 1999; Lallès et al., 2004). La alteración de las vellosidades intestinales hace que se pierdan enterocitos maduros ricos en enzimas digestivas que trae como consecuencia una disminución en la actividad de las enzimas producidas por los enterocitos.

Además en muchas ocasiones el lechón no ha consumido pienso o lo ha consumido en muy pequeña cantidad antes del destete y no sabe comer (Nicol et al., 1994; Held et al., 2000; Morgan et al., 2001; Figueroa, 2012; Figueroa et al., 2013) sufriendo el síndrome postdestete que se caracteriza por un falta de ingestión de alimento durante los 5 primeros días postdestete seguido por una etapa de alto consumo que le causa a menudo diarrea y en ocasiones la muerte.

La falta de resultados positivos en el primer estudio influyó en que no se realizasen más análisis de IGF-I en los lechones del segundo estudio dado el coste de este análisis. Probablemente si con futuros estudios substituyendo bien SDAP o bien otras materias primas proteicas de alto valor biológico así como de alto coste se logra demostrar el beneficio potencial del uso de PPF puedan llevarse a cabo más estudios y análisis que esclarezcan el modo de acción de PPF.

6.1 Bibliografía

- Booth, Ronald A, Cathy Cummings, Mario Tiberi, y X Johné Liu. 2002. «GIPC participates in G protein signaling downstream of insulin-like growth factor 1 receptor.» *The Journal of Biological Chemistry* 277 (8): 6719-25. doi:10.1074/jbc.M108033200.
- Brameld, John M., Jane L. Atkinson, John C. Saunders, Jennifer M. Pell, Peter J. Buttery, y R. Stewart Gilmour. 1996. «Effects of growth hormone administration and dietary protein intake on insulin-like growth factor I and growth hormone receptor mRNA expression in porcine liver, skeletal muscle, and adipose tissue.» *Journal of Animal Science-Menasha-* 74: 1832-41.
- Bunter, K. L., S. Hermesch, B. G. Luxford, H. -U Graser, y R. E. Crump. 2005. «Insulin-like growth factor-I measured in juvenile pigs is genetically correlated with economically important performance traits.» *Australian Journal of Experimental Agriculture* 45 (7-8): 783-92.
- Burrin, D.G., T.A. Davis, M.L. Fiorotto, y P.J. Reeds. 1997. «Role of Milk-Borne vs Endogenous Insulin-Like Growth Factor I in Neonatal Growth.» *Journal of Animal Science* 75 (10): 2739-43.
- Coffey, M T, J A Yates, y G E Combs. 1987. «Effects of Feeding Sows Fat or Fructose during Late Gestation and Lactation.» *Journal of Animal Science* 65 (5): 1249-56.
- D’Inca, R., C. Gras-Le Guen, L. Che, P.T. Sangild, y I. Le Huërou-Luron. 2011. «Intrauterine Growth Restriction Delays Feeding-Induced Gut Adaptation in Term Newborn Pigs.» *Neonatology* 99 (3): 208-16. doi:10.1159/000314919.
- Dong, G.Z.a, y J.R.a b Pluske. 2007. «The low feed intake in newly-weaned pigs: Problems and possible solutions.» *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 20 (3): 440-52.
- Figuroa, J. 2012. «Learning Strategies to Increase Piglets Feed Intake after Weaning.» Barcelona: UAB.
- Figuroa, Jaime, David Solà-Oriol, Xavier Manteca, y José Francisco Pérez. 2013. «Social learning of feeding behaviour in pigs: Effects of neophobia and familiarity with the demonstrator conspecific.» *Applied Animal Behaviour Science* 148 (1–2): 120-27. doi:10.1016/j.applanim.2013.06.002.
- Foxcroft, G. R. 1992. «Nutritional and lactational regulation of fertility in sows.» *Journal of reproduction and fertility.Supplement* 45: 113-25.
- Gondret, F., L. Lefaucheur, I. Louveau, B. Lebret, X. Pichodo, y Y. Le Cozler. 2005. «Influence of piglet birth weight on postnatal growth performance, tissue lipogenic capacity and muscle histological traits at market weight.» *Livestock Production Science* 93 (2): 137-46.
- Harrell, R. J., M. J. Thomas, R. D. Boyd, S. M. Czerwinski, N. C. Steele, y D. E. Bauman. 1999. «Ontogenic maturation of the somatotropin/insulin-like growth factor Axis.» *Journal of animal science* 77 (11): 2934-41.

- Held, S., M. Mendl, C. Devereux, y R.W. Byrne. 2000. «Social tactics of pigs in a competitive foraging task: The “informed forager” paradigm». *Animal Behaviour* 59 (3): 569-76. doi:10.1006/anbe.1999.1322.
- Janssen, O., A. Scheffler, y D. Kabelitz. 1993. «In Vitro Effects of Mistletoe Extracts and Mistletoe Lectins. Cytotoxicity towards Tumor Cells due to the Induction of Programmed Cell Death (apoptosis).» *Arzneimittel-Forschung* 43 (11): 1221-27.
- Janssens, J. 2007. «Fermented protein for better liver funcion.» Varkens.
- Kammersgaard, T. S., L. J. Pedersen, y E. Jorgensen. 2011. «Hypothermia in Neonatal Piglets: Interactions and Causes of Individual Differences.» *Journal of Animal Science* 89 (7): 2073-85. doi:10.2527/jas.2010-3022.
- Lallès, J.-P., P. Bosi, H. Smidt, y C.R. Stokes. 2007. «Nutritional Management of Gut Health in Pigs around Weaning.» *Proceedings of the Nutrition Society* 66 (2): 260-68. doi:10.1017/S0029665107005484.
- Lallès, J.-P., G. Boudry, C. Favier, N. Le Floc’h, I. Luron, L. Montagne, I.P. Oswald, S. Pié, C. Piel, y B. Sève. 2004. «Gut Function and Dysfunction in Young Pigs: Physiology.» *Animal Research* 53 (4): 301-16. doi:10.1051/animres:2004018.
- Lindemann, M.D., S.G. Cornelius, S.M. el Kandelgy, R.L. Moser, y J.E. Pettigrew. 1986. «Effect of Age, Weaning and Diet on Digestive Enzyme Levels in the Piglet.» *Journal of Animal Science* 62 (5): 1298-1307.
- Louveau, I., M.J. Dauncey, y J. Le Dividich. 2000. «Regulation of Development by Nutrition and by the Somatotrophic and Thyroid Axes in the Neonatal Pig.» *Livestock Production Science* 66 (2): 121-31. doi:10.1016/S0301-6226(00)00219-0.
- Luxford B.G., K. L. Bunter. 1998. «Use of IGF-1 as a selection criteria in pig breeding.»
- McCracken, B.A.b, M.E.d Spurlock, M.A.d Roos, F.A.c Zuckermann, y H.R.a Gaskins. 1999. «Weaning Anorexia May Contribute to Local Inflammation in the Piglet Small Intestine.» *Journal of Nutrition* 129 (3): 613-19.
- Miner, J. L. 2004. «The Adipocyte as an Endocrine Cell.» *Journal of Animal Science* 82 (3): 935-41.
- Mitchell, Alva D., Timothy G. Ramsay, Thomas J. Caperna, y Armin M. Scholz. 2012. «Body composition of piglets exhibiting different growth rates.» *Archives of Animal Breeding* 55 (4): 356-63.
- Morgan, C.A., A.B. Lawrence, J. Chirnside, y L.A. Deans. 2001. «Can information about solid food be transmitted from one piglet to another?» *Animal Science* 73 (3): 471-78.
- Morise, A., I. Louveau, y I. Le Huërou-Luron. 2008. «Growth and development of adipose tissue and gut and related endocrine status during early growth in the pig: Impact of low birth weight.» *Animal* 2 (1): 73-83.

- Morise, A., B. Sève, K. Macé, C. Magliola, I. Le Huërou-Luron, y I. Louveau. 2009. «Impact of intrauterine growth retardation and early protein intake on growth, adipose tissue, and the insulin-like growth factor system in piglets.» *Pediatric research* 65 (1): 45-50.
- Morise, A., B. Sève, K. MacÉ, C. Magliola, I. Le Hurou-Luron, y I. Louveau. 2011. «Growth, body composition and hormonal status of growing pigs exhibiting a normal or small weight at birth and exposed to a neonatal diet enriched in proteins.» *British Journal of Nutrition* 105 (10): 1471-79.
- Nicol, C.J., y S.J. Pope. 1994. «Social learning in sibling pigs.» *Applied Animal Behaviour Science* 40 (1): 31-43. doi:10.1016/0168-1591(94)90085-X.
- O'Connor, J. C., R. H. McCusker, K. Strle, R. W. Johnson, R. Dantzer, y K. W. Kelley. 2008. «Regulation of IGF-I function by proinflammatory cytokines: At the interface of immunology and endocrinology.» *Cellular immunology* 252 (1-2): 91-110.
- Park, M.S., Y.X. Yang, P.L. Shinde, J.Y. Choi, J.K. Jo, J.S. Kim, J.D. Lohakare, et al., 2010. «Effects of dietary glucose inclusion on reproductive performance, milk compositions and blood profiles in lactating sows.» *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 94 (5): 677-84.
- Pastorelli, H., J. van Milgen, P. Lovatto, y L. Montagne. 2012. «Meta-Analysis of Feed Intake and Growth Responses of Growing Pigs after a Sanitary Challenge.» *Animal* 6 (06): 952-61. doi:10.1017/S175173111100228X.
- Pedersen, L.J., P. Berg, G. Jørgensen, y I.L. Andersen. 2011. «Neonatal Piglet Traits of Importance for Survival in Crates and Indoor Pens.» *Journal of Animal Science* 89 (4): 1207-18. doi:10.2527/jas.2010-3248.
- Pedersen, L.J., E. Jørgensen, T. Heiskanen, y B.I. Damm. 2006. «Early piglet mortality in loose-housed sows related to sow and piglet behaviour and to the progress of parturition.» *Applied Animal Behaviour Science* 96 (3-4): 215-32.
- Pluske, J.R., D.J. Hampson, y I.H. Williams. 1997. «Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: A review.» *Livestock Production Science* 51 (1-3): 215-36.
- Pursel, V. G., A. D. Mitchell, G. Bee, T. H. Elsasser, J. P. McMurtry, R. J. Wall, M. E. Coleman, y R. J. Schwartz. 2004. «Growth and Tissue Accretion Rates of Swine Expressing an Insulin-like Growth Factor I Transgene.» *Animal Biotechnology* 15 (1): 33-45. doi:10.1081/ABIO-120029812.
- Quesnel, H. 2005. «Metabolic status and reproduction in the lactating sow.» *Productions Animales* 18 (4): 277-86.
- Quesnel, H. 2009. «Nutritional and Lactational Effects on Follicular Development in the Pig.» *Society of Reproduction and Fertility Supplement* 66: 121-34.
- Quesnel, H., A. Pasquier, A. -M Mounier, I. Louveau, y A. Prunier. 1998. «Influence of feed restriction in primiparous lactating sows on body condition and metabolic parameters.»

Reproduction Nutrition Development 38 (3): 261-74.

- Rehfeldt, C., y G. Kuhn. 2006. «Consequences of birth weight for postnatal growth performance and carcass quality in pigs as related to myogenesis.» *Journal of animal science* 84 Suppl.
- Renaville, R., M. Hammadi, y D. Portetelle. 2002. «Role of the somatotropic axis in the mammalian metabolism.» *Domestic animal endocrinology* 23 (1-2): 351-60.
- Richert, B T, M D Tokach, R D Goodband, J L Nelssen, R G Campbell, y S Kershaw. 1997. «The Effect of Dietary Lysine and Valine Fed during Lactation on Sow and Litter Performance.» *Journal of Animal Science* 75 (7): 1853-60.
- Saleri, R., M. Baratta, G.L. Mainardi, R. Renaville, A. Giustina, F. Quintavalla, y C. Tamanini. 2001. «IGF-I, IGFBP-2 and -3 but not GH concentrations are different in normal and poor growing piglets.» *Reproduction Nutrition Development* 41 (2): 163-72.
- Schenkel, A.C., M.L. Bernardi, F.P. Bortolozzo, y Ivo Wentz. 2010. «Body Reserve Mobilization during Lactation in First Parity Sows and Its Effect on Second Litter Size.» *Livestock Science* 132 (1-3): 165-72. doi:10.1016/j.livsci.2010.06.002.
- Simmen, F. A., L. Badinga, M. L. Green, I. Kwak, S. Song, y R. C. M. Simmen. 1998. «The porcine insulin-like growth factor system: At the interface of nutrition, growth and reproduction.» *Journal of Nutrition* 128 (2 SUPPL.): 315S - 320S.
- Spurlock, M.E. 1997. «Regulation of Metabolism and Growth during Immune Challenge: An Overview of Cytokine Function.» *Journal of Animal Science* 75 (7): 1773-83.
- Straus, D. S. 1994. «Nutritional regulation of hormones and growth factors that control mammalian growth.» *FASEB Journal* 8 (1): 6-12.
- «Taxus baccata.» 2015. *Wikipedia, la enciclopedia libre*. https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Taxus_baccata&oldid=81426260.
- The Danish Pig Research Center. 2015. «Annual Report 2014.» Accedido agosto 11. http://vsp.lf.dk/~media/Files/PDF%20-%20Aarsberetning%20VSP%20English/%C3%85rsberetning%202014_UK.pdf.
- Thissen, J. -P, J. -M Ketelslegers, y L. E. Underwood. 1994. «Nutritional regulation of the insulin-like growth factors.» *Endocrine reviews* 15 (1): 80-101.
- Thissen, J.-P., L.E. Underwood, y J.-M. Ketelslegers. 1999. «Regulation of Insulin-like Growth Factor-I in Starvation and Injury.» *Nutrition Reviews* 57 (6): 167-76.
- Touchette, K.J.a, G.L.a Allee, M.D.a c Newcomb, y R.D.b Boyd. 1998. «The Lysine Requirement of Lactating Primiparous Sows.» *Journal of Animal Science* 76 (4): 1091-97.
- Van Barneveld, R.J., y F.R. Dunshea. 2011. «Colostrum Protein Isolate Increases Gut and Whole Body Growth and Plasma IGF-I in Neonatal Pigs.» *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 24 (5): 670-77. doi:10.5713/ajas.2011.90490.

- Van den Brand, H., S. J. Dieleman, N. M. Soede, y B. Kemp. 2000. «Dietary Energy Source at Two Feeding Levels during Lactation of Primiparous Sows: I. Effects on Glucose, Insulin, and Luteinizing Hormone and on Follicle Development, Weaning-to-Estrus Interval, and Ovulation Rate.» *Journal of Animal Science* 78 (2): 396-404.
- Van Den Brand, H., P. Langendijk, N.M. Soede, y B. Kemp. 2001. «Effects of Postweaning Dietary Energy Source on Reproductive Traits in Primiparous Sows.» *Journal of Animal Science* 79 (2): 420-26.
- Van Den Brand, H., N.M. Soede, y B. Kemp. 2006. «Supplementation of Dextrose to the Diet during the Weaning to Estrus Interval Affects Subsequent Variation in within-Litter Piglet Birth Weight.» *Animal Reproduction Science* 91 (3-4): 353-58. doi:10.1016/j.anireprosci.2005.04.009.
- Van den Brand, H., L. C. M. van Enckevort, E. M. van der Hoeven, y B. Kemp. 2009. «Effects of Dextrose plus Lactose in the Sows Diet on Subsequent Reproductive Performance and within Litter Birth Weight Variation.» *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene* 44 (6): 884-88. doi:10.1111/j.1439-0531.2008.01106.x.
- Varley, Mike A. 1995. *The Neonatal Pig: Development and Survival*. CAB International.
- Wei, H.-K., Y. Zhou, S. Jiang, Y.-X. Tao, H. Sun, J. Peng, y S. Jiang. 2013. «Feeding a DHA-Enriched Diet Increases Skeletal Muscle Protein Synthesis in Growing Pigs: Association with Increased Skeletal Muscle Insulin Action and Local mRNA Expression of Insulin-like Growth Factor 1.» *British Journal of Nutrition* 110 (4): 671-80. doi:10.1017/S0007114512005740.
- Wientjes, J.G.M., N.M. Soede, B.F.A. Laurensen, R.E. Koopmanschap, H. Van Den Brand, y B. Kemp. 2013. «Insulin-Stimulating Diets during the Weaning-to-Estrus Interval Do Not Improve Fetal and Placental Development and Uniformity in High-Prolific Multiparous Sows.» *Animal* 7 (8): 1307-16. doi:10.1017/S1751731113000566.
- Yang, H, J E Pettigrew, L J Johnston, G C Shurson, y R D Walker. 2000. «Lactational and Subsequent Reproductive Responses of Lactating Sows to Dietary Lysine (protein) Concentration.» *Journal of Animal Science* 78 (2): 348-57.

7 Conclusiones

Bajo las condiciones de los estudios realizados para la elaboración de esta tesis las conclusiones son:

1. No se ha podido demostrar que la suplementación de las cerdas multíparas con proteína de patata fermentada con glucosa o sin glucosa, incrementa los niveles de IGF-I de las cerdas, ni se ven reducidos los días no productivos o aumentada la productividad expresada como el número de lechones nacidos totales en el parto subsiguiente.
2. Las cerdas nodrizas tienen un nivel superior de IGF-I como consecuencia de un balance energético positivo cuando son amamantadas por lechones de menor peso que el que tenía su prole.
3. El suministro de un suplemento alimenticio de proteína de patata fermentada antes de las 24 h de vida del lechón o bien de glicerol, no modifica el nivel de IGF-I de los lechones a lo largo de la lactancia de los mismos. Ni el peso ni la ganancia diaria ni la mortalidad, sobre todo en los lechones pequeños, se han visto modificadas. Esta falta de respuesta puede ser debida a que i) la cantidad de proteína suministrada no fue suficiente para realizar la modificación de los niveles de IGF-I, ii) la proteína de patata fermentada no modifica de la producción de IGF-I ó iii) los mecanismos involucrados en la producción de IGF-I no fueron capaces a tan temprana edad de verse modificados nutricionalmente.
4. Se ha confirmado la alta variabilidad del nivel de IGF-I en lechones tanto al nacimiento como antes de su destete y que los niveles de IGF-I son edad y peso dependientes en esta fase de vida del lechón.
5. El momento en que se estudian los niveles de IGF-I en los lechones es importante dado que estos niveles están afectados tanto por la ontología de los lechones como por el estado fisiológico de los mismos. El conocimiento del comportamiento de IGF-I en la producción porcina es importante debido a que sus concentraciones están relacionadas con animales más magros y más eficientes en la producción.
6. Las técnicas de análisis de IGF-I deben ser mejoradas y optimizadas para permitir a la

industria análisis más rápidos, menos variables, más eficientes y menos costosos económicamente.

7. La proteína de patata fermentada puede llegar a reemplazar al plasma animal en las dietas post destete de los lechones. El nivel de IGF-I a los cuatro días post destete es mayor en los lechones que consumieron plasma animal que en el resto pero sin tener implicaciones en los parámetros productivos subsiguientes.
8. Probablemente el estudio de IGF-I no sea el más adecuado para validar las diferencias de los índices productivos cuando se intenta incorporar proteína fermentada en la dieta de lechones destetados dada su alta variabilidad y alto coste.