

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Metabolismo energético, resistência a insulina e
produção de leite durante o parto de vacas
leiteiras com diferentes concentrações de bPL**

Marina Menoncin Weschenfelder

Pelotas, 2013

MARINA MENONCIN WESCHENFELDER

Metabolismo energético, resistência a insulina e produção de leite durante o periparto de vacas leiteiras com diferentes concentrações de bPL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área do conhecimento: Clínica Veterinária).

Orientador: Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa
Co-orientadores: Dr. Eduardo Schmitt
Prof. Dr. Charles Ferreira Martins

Pelotas, 2013

Dados de catalogação na fonte:
Karin Lorien Menoncin – CRB 10/2147

W511m Weschenfelder, Marina Menoncin

Metabolismo energético, resistência a insulina e produção de leite durante o parto de vacas leiteiras com diferentes concentrações de bPL / Marina Menoncin Weschenfelder. – Pelotas: UFPel, 2013.
40f.

Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Veterinária.. Clínica Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

1. Avaliação metabólica. 2. Resistência à insulina. 3. Bioquímica veterinária: bovinos. 4. Vacas leiteiras. I. Corrêa, Marcio Nunes, orient. II. Título.

CDD: 612.015

Banca examinadora:

Eduardo Schmitt, Dr., EMBRAPA – Rondônia

Francisco Augusto Burkert Del Pino, Dr., Universidade Federal de Pelotas

Mirela Noro, Dra., Universidade de Passo Fundo

Cássio Cassal Brauner, Dr., Universidade Federal de Pelotas (suplente)

Marcio Nunes Corrêa, Dr., Universidade Federal de Pelotas (Orientador)

Agradecimentos

À Deus, pelas bênçãos de cada dia.

Ao meu noivo, Luís Felipe, por me apoiar desde o início deste sonho e mais ainda por viver ele comigo, suportando a distância, a saudade e me recebendo com imenso carinho a cada curto reencontro. Seu amor foi fundamental na construção desta caminhada, te amo profundamente.

Aos meus pais, Vera e Miguel, e ao meu irmão, Leonardo, por entenderem, apoiarem e, acima de tudo, me dividirem com a minha família pelotense, o NUPEEC.

Ao NUPEEC por ter me recebido de braços abertos, se tornou uma família longe da minha família e por ter me proporcionado lições de humildade, humanismo, união e trabalho em grupo, os quais eu nunca teria aprendido sozinha. Além de todo conhecimento técnico-científico e crescimento profissional e acadêmico adquiridos, meu eterno obrigada! Sempre serei parte dessa família, de coração.

Aos meus orientadores, Marcio, Cássio, Augusto e Duda, meu eterno obrigada pela acolhida no grupo sem me conhecer previamente, pela concessão desta oportunidade, mas acima de tudo obrigada por acreditarem em mim, às vezes mais do que eu mesma. Sou imensamente grata!

Meu eterno obrigada às garotas Big Bang, levarei a amizade de vocês para sempre em meu coração. Vocês foram fundamentais em todas as lições aprendidas durante esses dois anos e tenho certeza que a nossa amizade não para por aqui.

E como não poderia deixar de agradecer às minhas irmãs por opção, Débora, Élia, Franciele, Jaqueline, Thaís e Taíza. Meu muito obrigado por entenderem a ausência, por acreditarem no meu sonho e acima de tudo por nunca deixarem nossa amizade morrer independente da localização geográfica de cada uma. Amo vocês como minha família, como minhas irmãs!

Ao CNPq pelo apoio financeiro e ao PPGVet - UFPEL pelo apoio acadêmico.
Muito obrigada!

Resumo

WESCHENFELDER, Marina Menoncin. **Metabolismo energético, resistência a insulina e produção de leite durante o parto de vacas leiteiras com diferentes concentrações de bPL** 2013. 40f.Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O bPL é um peptídeo que atua facilitando a entrada e utilização de nutrientes para o feto, provocando RI gestacional transitória. A hipótese deste trabalho é que vacas com maiores concentrações de bPL e IGF-I durante o pré-parto, apresentam maior balanço energético negativo durante o pós-parto e RI mais intensa para o mesmo período. Este estudo tem por objetivo determinar os efeitos de diferentes concentrações de bPL pré-parto sobre a lipomobilização, resistência à insulina, concentrações de IGF-I e produção de leite durante o pós-parto de vacas leiteiras. Foram utilizadas 20 vacas, multíparas, da raça Holandês, manejadas do dia -21 pré-parto até os 28 dias pós-parto. As vacas foram divididas em 3 grupos de acordo com as concentrações plasmáticas de bPL, onde BAIXO < 2,29 ng/mL (n = 6), MED > 2,3 ng/mL e < 2,5 ng/mL (n = 7) e ALTO > 2,51 ng/mL (n = 7) e foram avaliadas quanto as concentrações de IGF-I e NEFA, bem como produção de leite, ECC e peso, semanalmente. Todos os animais foram submetidos ao TTGSI nos dias -9 e +9 relativos ao parto, e avaliadas quanto à sensibilidade a insulina. Foi observada diferença entre os grupos quanto as concentrações de bPL (P = 0,0001) e IGF-I (P = 0,0002) durante o pré parto e produção de leite até os 46 DEL (P = 0,02). Conclui-se que o bPL não atua na lipólise pós-parto, nem na regulação das concentrações de IGF-I, entretanto, no entanto, apresenta efeito positivo na produção de leite pós-parto.

Palavras-chave: Balanço energético. Competição de receptores. Período de transição. Resistência a insulina. TTGSI.

Abstract

WESCHENFELDER, Marina Menoncin. **Metabolismo energético, resistência a insulina e produção de leite durante o parto de vacas leiteiras com diferentes concentrações de bPL** 2013. 40f.Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The bovine placental lactogen (bPL) acts favoring the entry and utilization of nutrients to the fetus through transient insulin resistance and also can have an indirect control of lipolysis during prepartum via IGFs. The hypothesis of this study was that cows with great bPL and IGF-I concentration during the prepartum, has high NEB during postpartum period and higher insulin resistance to the same period. The aim of this experiment was determine the effects of different bPL concentrations on serum IGF-I and lipid mobilization, insulin resistance and milk yield in dairy cows. Twenty Holstein dairy cows on the third lactation, producing 30.65 ± 8.2 L at 46 DIM and 658.10 ± 89.2 Kg of live weight were used in this study at -21d until 28d related to calving. The IGF-I and NEFA serum concentration were evaluated. The cows were divided in three groups from their bPL concentration (LOW < 2.29ng/mL (n= 6), MED > 2.3 ng/mL e < 2.5 ng/mL (n= 7) e UP > 2.51 ng/mL (n= 7)). The data of BCS, milk yield and body weight were weekly evaluated. All animals were subjected to TTG on -9d and +9d relatives to calving day. Difference was observed on bPL (P = 0.0001) and IGF-I (P = 0.0002) levels between groups on prepartum period. During TTG was observed insulin AUC (t60-150) higher (P = 0.04) in LOW group compared with MED and UP. UP group have higher (P = 0.02) milk yield than MED group. It was concluded that bPL does not have any direct effect on lipolysis during the postpartum period, also it does not have any direct effect on synthesis of IGF-I levels, as well as it has positive effects on milk production and higher insulin sensibility.

Keywords: Energy balance. Insulin resistance. Transition period. TTGSI.

Lista de Figuras

- Figura 1 Produção de leite (litros) durante os primeiros 46 dias pós-parto das vacas dos grupos ALTO, MED e BAIXO ($P = 0,06$).35
- Figura 2 Peso (kg) e Escore de Condição Corporal (ECC) das vacas dos grupos ALTO, MED e BAIXO durante todo o período experimental ($P > 0,05$). ...35
- Figura 3 Concentrações plasmáticas de NEFA (mEq/mL) das vacas dos grupos ALTO, MED e BAIXO durante todo o período experimental ($P > 0,05$). ...36

Lista de Tabelas

Tabela 1	Concentrações plasmáticas de bPL (ng/mL) durante o período pré parto de vacas leiteiras	33
Tabela 2	Concentrações plasmáticas de IGF-I (ng/mL) durante o período pré parto de vacas leiteiras.	33
Tabela 3	Médias e erro padrão para cada parâmetro avaliado durante o TTGSI das vacas dos grupos ALTO, MED e BAIXO durante o teste pré e pós-parto.....	34

Lista de Abreviaturas

ALTO - Grupo Altas concentrações de lactogênio placentário
BAIXO - Grupo Baixo concentrações de lactogênio placentário
BEM - Balanço energético negativo
BHBA - Betahidróxi butirato
DEL - Dias em lactação
ECC - Escore de condição corporal
GH - Hormônio do crescimento, do inglês, *growth hormone*
GHR1A - Receptor 1A para hormônio do crescimento
IGFs - Fator de crescimento semelhante a insulina, do inglês, *insulin-like growth fator*
IGF-IR - Receptor de IGF-I
IMS - Ingestão de matéria seca
MED - Grupo Médio concentrações de lactogênio placentário
NEFA - Ácidos graxos não esterificados, do inglês, *non sterified fatty acids*
PL/ bPL - Lactogênio placentário bovino
PRL - Prolactina
RI - Resistência a insulina
TTGSI - Teste de tolerância a glicose e sensibilidade a insulina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 ARTIGO	15
4 CONCLUSÃO GERAL	37
REFERÊNCIAS	38
ANEXO A: Normas para publicação na revista The Veterinary Journal ... Erro!	
Indicador não definido.	

1 INTRODUÇÃO

Durante o parto, o organismo das vacas leiteiras é exposto a mudanças metabólicas caracterizadas pela excessiva demanda energética provocada pelo final da gestação e início da lactação (INGVARSTEN e ANDERSEN, 2000). Somada a baixa captação de energia por parte da diminuição da ingestão de matéria seca (IMS), o que lhes proporciona a ocorrência do balanço energético negativo (BEN) (DRACKLEY, 1999). O BEN presente no início da lactação é acompanhado da resistência periférica à insulina (RI), principalmente nos tecidos adiposo e músculo esquelético. Neste período, a RI atua como mecanismo poupador de nutrientes dos tecidos, os quais são redirecionados à glândula mamária potencializando a produção de leite (BAUMAN e GRINARI, 2000; MOHAMED et al., 2004). Os tecidos fetais desempenham um papel semelhante ao da glândula mamária, porém, em um processo insulino-independente captando glicose (HAYIRLI, 2006) e melhorando o aporte energético ao crescimento do feto e início da produção de leite (LEE et al., 2012).

O consumo de dietas ricas em energia provoca redução da sensibilidade à insulina, que se caracteriza pela diminuição da entrada de glicose na célula. De acordo com Janovick e Drackley (2010), vacas que recebem dietas pré-parto com grande densidade energética ganham maior condição corporal (ECC) durante o mesmo período e também perdem mais ECC no pós-parto durante mais tempo que vacas alimentadas com dietas menos energéticas. Segundo Roche (2009), embora as reservas proteicas e minerais também sejam utilizadas pelo metabolismo da vaca durante o início da lactação, a mais importante reserva presente no organismo é o tecido adiposo. Durante a adaptação desse processo, hormônios estimulam o tecido adiposo alterando as condições de lipólise e reesterificação dos ácidos graxos mobilizados sob a forma de ácidos graxos não esterificados (NEFA) durante o BEN favorecendo a manutenção do equilíbrio energético (BAUMAN e CURRIE, 1980).

Embora a mobilização de NEFA durante o pós-parto recente seja uma maneira do organismo utilizar suas próprias reservas de energia, Drackley (1999) ressalta que a excessiva mobilização de gordura em direção ao fígado está diretamente relacionada com o aumento da incidência de enfermidades metabólicas durante o parto. Dentre as principais doenças relacionadas a este processo, podemos citar a cetose (GONZALEZ et al., 2011) e a infiltração gordurosa no fígado (BOBE et al., 2004). A redução da IMS é um fator crucial relacionado com a ocorrência de lipidose hepática em vacas leiteiras, pois o BEN, situações de *stress* e alterações hormonais são outros fatores de risco relacionados à ocorrência de fígado gordo (BOBE et al., 2004).

A RI tem sido apontada como fator etiológico associado para o desenvolvimento da diabetes tipo II em humanos e animais. Porém, ao longo dos anos, passou a ser estudada associada a outras patologias como o risco de doença cardiovascular, obesidade e hipertensão em humanos (SINAIKO e CAPRIO, 2012). A RI é um fenômeno metabólico multifatorial caracterizado por acidose metabólica, hiperglicemia, intolerância a glicose, glicosúria, cetonemia, cetonúria, diurese, hipovolemia, transtornos hídricos, depressão do sistema nervoso central e choque (STOLAR e CHILTON, 2003). A manifestação mais comum em ruminantes é o desenvolvimento de quadros clínicos de cetose e lipidose hepática (DRACKLEY et al., 1992). Os fatores que causam resistência em humanos são semelhantes ao que predis põem as vacas leiteiras a este evento metabólico, entre eles, podemos citar gestação avançada, obesidade, hiperinsulinemia, alimentação com alto teor de energia e atuação de outros hormônios (HAYIRLI, 2006), entre eles hormônios associados à prenhez (FENG et al., 2009; FUGLSANG e OVESEN, 2006).

As fêmeas dos mamíferos desenvolvem RI durante a gestação devido ao aumento da necessidade energética durante o parto, destinadas ao crescimento fetal e lactação (HOSSNER et al., 1997). Vacas de leite em especial, as de alta produção, podem ter a RI agravada durante esse período em função do seu mérito genético, o que implica no prolongamento do BEN durante o pós-parto (BUTLER et al., 2003). A intensidade deste evento metabólico no período próximo ao parto possui forte influência na condição metabólica do pós-parto recente e nos

parâmetros reprodutivos (LEE et al., 2012). Bauman e Currie (1980) demonstram que durante o final da gestação, os requerimentos nutricionais de uma vaca prenhe aumentam em 75% quando comparada com uma vaca não prenhe.

Estes mesmos autores acrescentam que, nos primeiros 7 meses de gestação, os tecidos fetais ganham 40% do seu peso final e a distribuição de nutrientes ocorre entre os requerimentos de manutenção da mãe e o aporte ao concepto (BAUMAN e CURRIE, 1980). No entanto, nos últimos 2 meses de gestação, esta competição por nutrientes aumenta e, além de o feto ganhar 60% do seu peso neste período, a glândula mamária necessita nutrientes para produzir o equivalente a 6 kg de leite/dia para garantir o bom desenvolvimento do tecido para a próxima lactação (BAUMAN e CURRIE, 1980).

Bazer (1975) sugere que a distribuição dos nutrientes durante a gestação ocorre em função das concentrações do hormônio lactogênio placentário (PL). Em ensaios *in vitro*, essa distribuição ocorre quando o bPL se liga ao epitélio glandular endometrial, aumentando a densidade das glândulas uterinas e a expressão da proteína do leite (NOEL et al., 2003). Porém, *in vivo*, este mecanismo depende do meio em que o hormônio se encontra e de sua exposição a outros fatores relacionados ao reconhecimento da prenhez (AKERS, 2006).

O PL é um peptídeo da família do hormônio do crescimento (GH) e da prolactina (PRL) (BRELJE et al., 1993). É produzido nas células binucleadas da placenta e tem sido muito investigado devido a sua potencial ação no aumento da produtividade tanto de carne como de leite em vacas (ALVAREZ-OXILEY et al., 2008). O bPL interage tanto com o receptor da PRL (PRL-R), quanto com o do GH (GHR) (GERTLER e DJIANE, 2002). Em um estudo, Soares, 2004, sugere que o bPL possui dupla-ação agonista para PRL-R e GHR, sinalizando vias e sugerindo que ambos possuam o mesmo sistema receptor para PL.

As principais funções do bPL são estimular a síntese de DNA no tecido mamário e regular a distribuição de nutrientes para suprir o crescimento fetal (HOSSNER et al., 1997). O bPL circula no soro materno em concentrações inferiores a 5 ng/mL (HOSSNER et al., 1997), sendo detectáveis a partir dos 40 dias de gestação, porém atinge seu pico apenas no último trimestre, justamente o período

de maior crescimento fetal (HANDWERGER et al., 1994). As concentrações de bPL diminuem ao final da gestação estimuladas pelo cortisol fetal, que inibe a liberação dos grânulos de armazenamento do hormônio por parte das células binucleadas (ALVAREZ-OXILEY et al., 2008).

Hossner et al.,(1997) sugere que o bPL possa atuar no controle da lipólise durante o pré-parto de maneira indireta, via fatores de crescimento semelhantes a insulina (IGFs). O IGF-I é um peptídeo que possui efeito anabólico em vários tecidos, é produzido primariamente no fígado através da estimulação do GH, formando o eixo GH-IGF-I (BUTLER et al., 2003). Piechotta et al., (2012) confirmou a hipótese de que baixas concentrações de IGF-I no soro de vacas durante o final da gestação pode ser preditivo de ocorrências de transtornos metabólicos pós-parto, como cetose, deslocamento de abomaso, além de metrite e mastite.

Segundo Beam e Butler (1998), o balanço energético apresenta correlação positiva com as concentrações de IGF-I no plasma de vacas em lactação, sendo observada concentração de IGF-I maior em vacas com balanço energético positivo (BEP) do que em vacas durante BEN pós-parto. Obese et al., (2008) sugere que a ingestão de nutrientes influencia nos níveis circulantes de IGF-I em vacas leiteiras. Durante o periparto, as concentrações séricas de insulina diminuem gradativamente, e com elas também diminui as concentrações de IGF-I no plasma, conforme observado por Radcliff et al., (2003). Segundo Handwerger et al., (1994), o bPL pode ser um dos responsáveis pelo aumento nas concentrações séricas de IGF-I na mãe durante o final da gestação.

2 OBJETIVOS

Abaixo são descritos os objetivos do trabalho.

2.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos de diferentes concentrações de bPL pré-parto sobre a lipomobilização, resistência à insulina, concentrações de IGF-I e produção de leite durante o pós-parto de vacas leiteiras.

2.2 Objetivos específicos

- a) Correlacionar as concentrações de bPL pré-parto com a produção de leite nos primeiros 45 dias em lactação (DEL)
- b) Verificar a relação entre as concentrações de bPL pré-parto e as concentrações de IGF-I durante o periparto.
- c) Verificar a atuação do bPL como estimulador da lipólise durante o periparto.
- d) Verificar a relação entre RI pré e pós-parto com as concentrações de bPL pré-parto.

3 ARTIGO

**Metabolismo energético, resistência a insulina e produção de leite
durante o parto de vacas leiteiras com diferentes concentrações de bPL**

**M. M. Weschenfelder, A. R. T. Krause, P. Montagner, E. Schwegler, J. J.
Lor^b, C. C. Brauner, A. Schneider, E. Schmitt, F. A. B. Del Pino, V. R. Rabassa,
E. G. Xavier, F. T. da Rosa, C. F. Martins, M. N. Corrêa^{a*}**

Irà ser submetido à revistaThe Veterinary Journal

1 **Artigo Original**

2
3
4 **Metabolismo energético, resistência a insulina e produção de leite durante o parto de vacas**
5 **leiteiras com diferentes concentrações de bPL.**

6
7 M. M. Weschenfelder, A. R. T. Krause, P. Montagner, E. Schwegler, J. J. Lóor^b,

8 C. C. Brauner, A. Schneider, E. Schmitt, F. A. B. Del Pino, V. R. Rabassa, E. G.

9 Xavier, F. T. da Rosa, C. F. Martins, M. N. Corrêa^{a*}

10
11 ^a NUPEEC – Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária. Departamento de
12 Clínicas Veterinárias, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, BR.

13 ^b Mammalian Nutriphysiogenomics Lab, Department of Animal Science, University of
14 Illinois, Urbana, IL.

15
16
17
18
19 * Corresponding author. Tel.: +55 53 32757136.

20 E-mail address: marcio.nunescorrea@gmail.com (M. N. Corrêa).

21 Abstract

22 The bovine placental lactogen (bPL) is a peptide involved in production genes family,
 23 which coordinates most of biological process, including physiological changes
 24 occurring during pregnancy. The bPL acts favoring the entry and utilization of nutrients
 25 to the fetus through transient insulin resistance. During adaptation of this process, some
 26 hormones can perform lipolysis and fatty acid trans esterification, which are mobilized
 27 in the form of NEFA. The bPL can have an indirect control of lipolysis during
 28 prepartum via IGFs. The hypothesis of this study was that cows with great bPL and
 29 IGF-I concentration during the prepartum, has high NEB during postpartum period and
 30 higher insulin resistance to the same period. The aim of this experiment was determine
 31 the effects of different bPL concentrations on serum IGF-I prepartum levels and lipid
 32 mobilization, insulin resistance and milk yield during postpartum period in dairy cows.
 33 Twenty Holstein dairy cows on the third lactation, producing 30.65 ± 8.2 L at 46 DIM
 34 and 658.10 ± 89.2 Kg of live weight were used in this study. The experimental period
 35 began at 21d before the expected calving date until 28d postpartum. The IGF-I and
 36 NEFA serum concentration were evaluated. During this period all cows were milked
 37 twice daily and fed with the same diet. The cows were divided in three groups from
 38 their bPL concentration (LOW < 2.29 ng/mL (n= 6), MED > 2.3 ng/mL and < 2.5
 39 ng/mL (n= 7) and UP > 2.51 ng/mL (n= 7)). The data of BCS, milk yield and body
 40 weight were weekly evaluated. All animals were subjected to TTG on -9d and +9d
 41 relatives to calving day to estimate insulin sensibility. Difference was observed on bPL
 42 ($P = 0.0001$) and IGF-I ($P = 0.0002$) levels between groups on prepartum period. During
 43 TTG was observed insulin AUC (t60-150) higher ($P = 0.04$) in LOW group compared
 44 with MED and UP. UP group have higher ($P = 0.02$) milk yield than MED group, but
 45 both groups were similarly to LOW group ($P = 0.06$). It was concluded that bPL does
 46 not have any direct effect on lipolysis during the postpartum period, also it does not
 47 have any direct effect on synthesis of IGF-I levels, as well as it has positive effects on
 48 milk production and higher insulin sensibility.

50

51 **Keywords:** energy balance, transition period, insulin resistance, TTGSI,

52 **Introdução**

53 Em mamíferos, os nutrientes são utilizados pelos tecidos envolvendo processos
54 de manutenção, crescimento e estabelecimento de reservas corporais incluindo
55 deposição de tecido adiposo e reservas de glicose e de aminoácidos. Dois tecidos em
56 especial utilizam grande porção dos nutrientes maternos, entre eles os tecidos fetais,
57 durante seu desenvolvimento, e a glândula mamária, durante a lactação (Bauman and
58 Currie, 1980). O lactogênio placentário bovino (bPL) é produzido nas células
59 trofoblásticas binucleadas da placenta de ruminantes, atingindo concentrações
60 detectáveis no soro da mãe por volta dos 40 dias de prenhez com seu pico no último
61 trimestre de gestação (Igwebuike, 2006). O bPL atua nas mudanças fisiológicas que
62 ocorrem durante a prenhez, promovendo a formação de corpo lúteo funcional por sua
63 ação luteotrópica (Ben-Jonathan et al., 1996; Byatt et al., 1992), desenvolvimento das
64 glândulas uterinas e mamárias (função mamogênica) (Akers, 2006) e facilitando a
65 entrada e utilização de nutrientes para o feto (função histiotrópica) (Enders e Welsh,
66 1993).

67 Bazer (1975) afirma que a distribuição de nutrientes realizada entre a mãe e o
68 feto, durante a gestação e coordenada pelo bPL, promove resistência periférica à
69 insulina (RI). A RI ocorre quando concentrações normais ou elevadas de insulina
70 produzem uma resposta biológica menor que a esperada. Em humanos, a RI é um
71 fenômeno metabólico multifatorial caracterizado por acidose metabólica, hiperglicemia,
72 intolerância a glicose, glicosúria, cetonemia, cetonúria, diurese, hipovolemia,
73 transtornos hídricos, depressão do sistema nervoso central e choque (Stolar e Chilton,
74 2003). Os fatores que causam RI em humanos são semelhantes ao que predis põem as
75 vacas leiteiras a este evento metabólico, entre eles, podemos citar gestação avançada,
76 obesidade, hiperinsulinemia, alimentação com alto teor de energia e atuação de outros

hormônios (Hayirli, 2006), entre eles hormônios associados à prenhez (Feng et al., 2009; Fuglsang e Ovesen, 2006).

O balanço energético negativo (BEN) presente no periparto é acompanhado da RI, principalmente nos tecidos adiposo e músculo esquelético. Neste período, a RI atua como mecanismo poupador de nutrientes dos tecidos, os quais são redirecionados à glândula mamária potencializando a produção de leite (Bauman e Griinari, 2000; Mohamed et al., 2004). Ao contrário do músculo esquelético e do tecido adiposo, os tecidos fetais realizam um processo insulino-independente para o transporte de glicose (Hayirli, 2006) melhorando o aporte energético ao crescimento do feto e início da produção de leite (Lee et al, 2012). Durante a adaptação desse processo, o tecido adiposo sofre alterações nas taxas de lipólise:lipogênese e passa a mobilizar lipídeos sob a forma de ácidos graxos não esterificados (NEFA) (Bauman e Currie, 1980). Embora a mobilização de NEFA durante o pós-parto recente seja uma interessante maneira de o organismo utilizar suas próprias reservas de energia, Drackley (1999) ressalta que a excessiva mobilização de gordura em direção ao fígado está diretamente relacionada com o aumento da incidência de enfermidades metabólicas durante o periparto.

Hossner (1997) sugere que o bPL possa atuar no controle da lipólise pré-parto através da ação de fatores de crescimento (IGFs). O IGF-I é produzido primariamente no fígado através da estimulação do GH, formando o eixo GH-IGF-I, apresentando efeito anabólico no metabolismo (Butler et al, 2003). Piechotta et al (2012) confirmou a hipótese de que baixas concentrações de IGF-I no soro de vacas durante o final da gestação podem ser preditivos de ocorrências de transtornos metabólicos pós-parto, como cetose, deslocamento de abomaso, além de metrite e mastite. A hipótese deste trabalho é que vacas com maiores concentrações de bPL e IGF-I durante o pré-parto, apresentem maior balanço energético negativo durante o pós-parto e RI mais intensa

para o mesmo período. O objetivo deste estudo foi determinar os efeitos de três diferentes concentrações de bPL sobre as concentrações de IGF-I pré-parto, como também lipomobilização, RI, e produção de leite durante o pós-parto de vacas leiteiras.

Materiais e Métodos

Animais e Desenho Experimental

O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira comercial localizada no sul do Brasil (32°16'S, 52°32'O). A seleção dos animais se deu através do número de lactações, produção média em 305 dias da lactação anterior e histórico negativo de enfermidades em relação ao último ano produtivo de um total de 878 vacas em lactação. Foram utilizadas 20 vacas, multíparas, da raça Holandês, com 3 lactações, produção média de 30,65±8,19 litros de leite aos 46 dias em lactação (DEL) e peso médio de 658,10±89,205 Kg de PV.

O período experimental ocorreu entre os dias dia -21 pré-parto até os 28 dias pós-parto, ordenhados duas vezes ao dia com intervalo de 12 horas e submetidos ao mesmo manejo nutricional. De acordo com as concentrações plasmáticas de lactogênio placentário bovino (bPL), as vacas foram divididas em 3 grupos (ALTO, MED e BAIXO) onde BAIXO < 2,29 ng/mL (N = 6), MED > 2,3 ng/mL e < 2,5 ng/mL (N = 7) e ALTO > 2,51 ng/mL (N = 7).

Pesagem, ECC e Produção de Leite

As vacas foram semanalmente pesadas em plataforma de pesagem (Eziwweigh5 – TRU-TEST®, Farm Tech Group, Ljutomer, Eslovênia) durante os períodos pré e pós-parto. No mesmo momento foi realizada a avaliação do escore de condição corporal (ECC) através de uma escala de 1 a 5, onde 1 = magra e 5 = obesa (Wildman, 1982).

Foram coletados os dados de produção de leite diariamente, gerando-se a média a cada 5 dias, entre os dias 16 e 46 pós-parto através do banco de dados do sistema ALPRO[®] (Tetra Laval Group[®], Sweden).

Amostras de Sangue

Foram coletados aproximadamente 10 mL de sangue por venopunção do complexo arteriovenoso coccígeo através de sistema *vacuntainer* com agulhas 25x8 mm em tubos com acelerador de coágulo. Durante o pré-parto, foram realizadas coletas nos dias -21, -14, -7, -5, -3, -1 e 0 e no pós-parto foram nos dias 3, 6, 9, 14, 21 e 28. As amostras foram centrifugadas a 3000 x g durante 15 minutos para obtenção de soro, o qual foi armazenado em microtubos tipo *eppendorff*, identificados e submetidos a congelamento a -80°C para posterior análise.

As análises de NEFA foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Clínica, do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária da Universidade Federal de Pelotas (NUPEEC – UFPel, Brasil). As concentrações de NEFA (Wako NEFA-HR, Wako Chemicals USA®, Richmond, EUA) foram determinadas durante o pré e o pós-parto através do método colorimétrico e leitor de placa.

As avaliações hormonais foram realizadas no Mammalian NutriPhysioGenomics Laboratory do Departamento de Ciência Animal da Universidade de Illinois (Urbana, IL, USA). As concentrações de bPL foram determinadas durante o período pré-parto através do método ELISA (PL ELISA Kit, Novate In Biosciences, Cambrigde, MA, USA) e as concentrações de IGF-I (IGF-I ELISA Kit, Novate In Biosciences, Cambrigde, MA, USA) foram determinadas durante o pré e o pós-parto de acordo com a distribuição das coletas de sangue.

152 *Teste de Tolerância a Glicose e Sensibilidade a Insulina (TTGSI):*

153 O TTGSI realizado foi adaptado de descrições prévias (Lee et al., 2012) e
154 executado nos dias -9 e +9 relativos ao parto. Procedeu-se com acesso a veia jugular
155 através da utilização de um cateter intravenoso periférico Intracath® (BD, Franklin
156 Lakes, NJ, USA) fixado na pele. O teste teve duração de 150 minutos com 13 coletas
157 distribuídas ao longo deste período, nos momentos -5, 0A, 0B, 15, 30, 45, 60, 65, 70, 75,
158 90, 120, 150 e 180, onde 0B determina o momento logo após infusão de glicose (0,5
159 mg/Kg; Solução de Glicose a 50%, Laboratório Prado, Curitiba, PR, Brasil) e 60
160 determina o momento de infusão da insulina (0,01 mL/Kg; Novolin-N®, Laboratório
161 NOVO NORDISK, Bagsvaerd, Dinamarca). Para evitar a coagulação do cateter,
162 utilizou-se heparina sódica (Hemofol®, Laboratório Cristália, São Paulo, SP, Brasil)
163 diluída em solução de Cloreto de Sódio 0,9% na proporção de 1:250. A cada coleta
164 foram desprezados os primeiros mililitros de sangue devido à heparinização prévia do
165 cateter.

166 Em cada momento do teste foram coletadas amostras de sangue para um tubo
167 contendo acelerador de coágulo e um tubo contendo Fluoreto de Potássio (KF) a 5%
168 para avaliação da glicemia. Todas as amostras foram processadas da mesma forma que
169 no item anterior. As amostras de soro foram acondicionadas em microtubos do tipo
170 *eppendorf* e congeladas a -80°C para posterior avaliação da concentração sérica de
171 insulina. As amostras dos tubos contendo KF foram analisadas momentos após a última
172 coleta do teste através do método colorimétrico para avaliação da glicemia (Glicose
173 PAP Liquiform, Labtest®, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil) em espectrofotômetro
174 (BIOSPECTRO-SP 220®, Curitiba, PR, Brasil).

Os dados da área sob a curva (AUC) da insulina, concentração de insulina estimulada pela resposta à glicose (ISBGR), AUC, *clear rate*, e meia vida da glicose forma analisados segundo as fórmulas de Kerestes et al., (2009).

Análise Estatística

Os resultados estão apresentados por médias $\pm$ erro padrão. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software SAS[®] (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA). Os dados de IGF-I e bPL foram transformados de log(x) para base 10 e normalizados através de regressão não-linear pelo software Prism[®] 5.0 (GraphPad Software Inc., CA, USA). Os dados referentes ao peso, ECC, marcadores bioquímicos e hormonais foi realizada análise de variância no MIXED MODELS utilizando-se o modelo de comparação de grupos, coletas e a interação grupo*coleta. Durante o teste, foram calculados os valores da glicose basal, redução da insulina por estímulo da glicose (ISBGR), área sob a curva até 60 e 150 minutos (GLI. AUC (t0 - 60', GLI. AUC(t60 - 150')), meia vida até 60 e 120' ($T_{1/2}$ ASC60, $T_{1/2}$ ASC120), *clear rate* da glicose, foram calculados conforme trabalho de Kerestes et al. (2009) a partir das seguintes fórmulas: $Gli\ CR = [(glicose\ T5' - glicose\ T60') / (T60' - T5')] \times 100 = \% \text{ min};$
 $T_{1/2} = (0,693 / CR) \times 100 = \text{min};$ RESG (%) = $[(glucose\ t0 - glucose\ t30) / glucose\ t0] \times 100$
 $ASC = \text{trapézio formado entre duas coletas subsequentes (Valor Coleta 1 - Média das duas coletas basais + Valor Coleta 2 - Média das duas coletas basais)} \times \text{Intervalo entre coletas} / 2$.

Para os valores de insulina foram gerados os parâmetros da AUC (t0-60) e AUC (t60 – 150) calculados conforme a glicose. As informações do TTGSI foram avaliadas de acordo com as fórmulas relatadas por Kerestes et al., (2009) nos testes pré e pós parto e submetidos à análise de variância One-Way ANOVA e teste Tuckey. Os

dados de marcadores bioquímicos e hormonais foram submetidos ao teste de Correlação de Pearson para verificar a associação entre as variáveis. Em todos os testes foi considerado nível de significância de $P < 0,05$.

Resultados e Discussão

A distribuição dos animais nos três grupos demonstrou que todos foram diferentes entre si ($P = 0,0001$) de acordo com as concentrações de bPL (ALTO = $2,91 \pm 0,22$ ng/mL; MED = $2,32 \pm 0,11$ ng/mL; BAIXO = $2,03 \pm 0,13$ ng/mL), como também entre dias ($P < 0,0001$) (Tabela 1). A partir da categorização dos grupos, a produção de leite apresentou diferença ($P = 0,026$) entre os grupos MED ($24,9 \pm 0,4$ litros) e ALTO ($28,8 \pm 1,3$ litros), sendo que o grupo BAIXO apresentou uma média intermediária, sendo de $25,5 \pm 0,8$ litros (Figura 1). Nas demais interações entre grupos (MED x BAIXO; BAIXO x ALTO) não foi observada diferença ($P = 0,06$). Como já era esperado, a maior produção de leite no grupo ALTO se deve à função mamogênica e lactogênica do bPL e sua maior afinidade aos receptores de PRL da glândula mamária que aos receptores de GH do fígado. Desta maneira, vacas que apresentam concentrações de bPL maiores, produzem mais leite pela afinidade da proteína de se ligar ao receptor disponível em maior abundância no tecido mamário (Byatt et al., 1992). Segundo Alvarez-Oxiley et al., (2008) essa maior afinidade se deve à homologia entre a estrutura molecular do bPL com a PRL (50%) e o GH (23%). Nas últimas semanas de gestação, o fluxo de nutrientes para a placenta e para o desenvolvimento da glândula mamária, estão ambos sob controle hormonal do conceito e a priorização de nutrientes para a glândula mamária durante este período compromete a condição metabólica da mãe. Sendo assim, maior concentração de bPL influencia positivamente a produção de leite, porém podendo acarretar uma maior predisposição a distúrbios

metabólicos, como o que acontece em pequenos ruminantes em quadros de cetonemia (Bauman and Currie, 1980). No entanto não foi possível detectar diferenças nas produções de leite médias entre os grupos baixo e médio, sendo que estes apresentaram produção similar, demonstrando que as diferenças nos níveis de bPL de ambos não sejam efetivas em proporcionar uma elevação na produção de leite que obedeça a mesma ordem da classificação dos grupos em relação ao bPL.

Concordando com os dados de Hossner et al., (1997), o bPL demonstrou possuir correlação negativa ($r = - 0,23$; $P = 0,03$) com as concentrações de NEFA, sugerindo que o bPL atue de maneira indireta na estimulação da lipólise durante o período de transição, através da saturação dos receptores de insulina via IGFs. Sendo assim, é provável que o bPL atue como um adaptador ao metabolismo da glândula mamária para a próxima lactação, atuando de forma positiva no aumento da produção de leite, porém sem ter influência na lipomobilização pós-parto. Byatt et al., (1992) observou que tanto o GH quanto o bPL estimulam a lipólise durante o periparto de vacas leiteiras e, com isso, incrementam a produção de leite, embora o GH promova a lipólise de maneira mais intensa, quando comparado ao bPL. No mesmo estudo, Byatt et al., (1992) observaram que as diferentes concentrações de bPL administradas às vacas em período de transição, estimularam a IMS em uma relação dose-dependente. Houseknecht et al., (1996) explicam que o primeiro pico de NEFA no pré-parto é estimulado pelas altas concentrações de IGF-I prévias a este período, que saturam os receptores de IGF-I e insulina no tecido adiposo, sensibilizando a célula à mobilização de triacilgliceróis. Houseknecht et al., (1996) relata que o bPL, o GH bovino e a PRL não teriam efeito lipolítico no pós-parto recente em ruminantes.

As concentrações plasmáticas de IGF-I durante o pré-parto apresentaram diferença entre grupos ($P = 0,0002$), entre os dias ($P = 0,0001$) e na interação grupo

coleta ($P < 0,0001$) conforme dados apresentados na Tabela 2. Foi observado que os grupos com menor concentração de bPL, apresentaram maior concentração de IGF-I durante o período pré-parto, sugerindo competitividade pelos receptores de GH por parte do bPL durante o período gestacional (Gootwine, 2004). Dentre as funções do IGF-I na circulação materna, incluem-se crescimento, diferenciação e manutenção da função celular, bem como prevenção contra apoptose em diversos tecidos, inclusive na glândula mamária (Akers, 2006). Sendo assim, pode-se sugerir que quanto menor for a concentração de bPL no soro das vacas, mais GH está ligado aos seus receptores hepáticos sintetizando IGF-I e, como consequência, havendo maior quantidade de IGF-I chegando aos tecidos. Durante o final da gestação, esse IGF-I pode auxiliar no desenvolvimento da glândula mamária, que está sendo preparada para a próxima lactação (Velazquez et al., 2008). No entanto, no pós-parto recente, é observada a diminuição das concentrações de IGF-I pelo desacoplamento do eixo GH-IGF-I, o que traz severas consequências ao metabolismo da vaca no que diz respeito ao intervalo entre o parto e a primeira ovulação, o que diminui o desempenho reprodutivo no período (Butler et al., 2003)

A estimulação do tecido mamário, via bPL ou via IGF-I, promove maior produção de leite no pós-parto, o que acarreta maior demanda de energia por parte da vaca durante o periparto. Segundo Radcliff et al. (2003), durante o pré-parto, a regulação da síntese e liberação de IGF-I se deve principalmente ao acoplamento do GH aos seus receptores hepáticos (GHR1A e GHR2A). No momento do parto, as concentrações de bPL e GH diminuem e a manutenção dos níveis séricos de IGF-I passam a ser mediadas pela ingestão de energia (Obese et al., 2008). A demanda de energia do início da lactação é prejudicada pela queda de ingestão de matéria seca (IMS) e estabelecimento do BEN durante este período. Neste caso, quanto maior a

intensidade do BEN, maior a mobilização de reservas lipídicas e maior a variação de ECC no pós-parto recente. Foi observado neste estudo que o peso (Figura 2), ECC (Figura 2) e NEFA (Figura 3) apresentaram diferença ($P < 0,05$) entre os dias de coleta, porém entre os grupos e na interação grupo*coleta não foi observado ($P > 0,05$) o mesmo efeito. Este resultado é esperado, uma vez que todas as vacas passam por um período de adaptação para o parto com mobilização de suas reservas corporais e consequente, queda da condição corporal. Na última semana pré-parto o primeiro pico de NEFA vem acompanhado do declínio do bPL e do GH, indicando que o metabolismo da vaca está entrando em BEN como mecanismo de adaptação às exigências do início da lactação (Drackley, 1999).

O BEN do pós-parto e as baixas concentrações de IGF-I provocadas pelo aumento da ligação do bPL ao GHR, durante o pré-parto, possuem consequências negativas no que diz respeito ao desempenho reprodutivo das vacas no pós-parto e retorno à ciclicidade. Durante o desenvolvimento mamário, o IGF-I pode atuar no seu receptor (IGF-IR) presente na glândula mamária, estimulando o seu desenvolvimento e, até mesmo aumentando a produção de leite durante a lactação. No pós-parto imediato, ocorre uma queda na IMS, mediada por hormônios estrogênicos que agravam o BEN, promovendo diminuição das concentrações plasmáticas de glicose e insulina e, consequentemente, do IGF-I (Butler et al., 2003). Com o BEN presente neste período, espera-se que os níveis de IGF-I caiam à medida que este se intensifica, independente das concentrações de bPL durante o pré-parto.

No TTGI, foi observada diferença na AUC da insulina exógena (t60 – 150) do teste pós-parto entre os grupos ($P = 0,04$), o que não foi observado no TTG pré-parto (Tabela 3). Tanto no período pré-parto, quanto no pós-parto, não foram observadas diferenças entre *clear rate* da glicose, AUC da insulina endógena, ISBGR e meia vida

da glicose (Tabela 3). Analisando-se os resultados da AUC insulina (t60-150) durante o TTG pós-parto e correlacionando com as concentrações de bPL pré-parto, foi observado que os grupos com menor concentrações de bPL no pré-parto, apresentaram maior AUC da insulina durante o TTG pós-parto. Isto sugere que, quanto maior o tempo que a insulina demora a ser metabolizada menos sensíveis à insulina estão os tecidos periféricos (Kerestes et al, 2009). Esperava-se que quanto maior a concentração de bPL durante o pré-parto, maior fosse a intensidade da RI no pós-parto. No entanto, isso não foi observado nesse estudo, sugerindo que o bPL não tenha relação com o estabelecimento da RI durante o pós-parto e que sua atuação seja mais restrita ao pré-parto. A diminuição da sensibilidade da insulina no tecido adiposo e músculo esquelético, principalmente durante o pós-parto, predispõe a vaca à ocorrência de transtornos metabólicos, principalmente cetose e fígado gordo (Ingvarsen e Andersen, 2000). Da mesma maneira, as baixas concentrações de IGF-I pré-parto estão associadas à ocorrência de transtornos metabólicos no pós-parto (Piechotta, 2012). Sendo assim, pode-se sugerir que as vacas com maior concentração de bPL durante o pré parto, também apresentam menor concentração de IGF-I no mesmo período e esta associação reflete na baixa metabolização da insulina durante o TTGI pós-parto indicando menor resistência a insulina e menor predisposição à ocorrência de transtornos metabólicos neste período.

Nas análises de correlação, foi observada significância ($P = 0,04$) entre NEFA x ECC ($r = 0,47$) e ECC x peso ($r = 0,61$) durante todo o período experimental. Embora não tenha sido observada neste estudo, correlação entre bPL x ECC ($r = 0,006$; $P = 0,95$), alguns autores (Alvarez-Oxiley et al., 2008) sugerem que as concentrações de bPL podem ser alteradas pela ingestão de nutrientes e condição corporal, onde vacas apresentando menor ECC entre os dias 200 e 250 de prenhes, possuem maiores

concentrações de bPL que vacas com moderado ECC no mesmo período. Não foi possível observar esta situação provavelmente devido à homogeneidade das vacas selecionadas para este estudo, estando os ECC iguais ($P > 0,05$) nos grupos ALTO ($2,9 \pm 0,05$), MED ($3,1 \pm 0,03$) e BAIXO ($2,9 \pm 0,05$).

Entre as concentrações de IGF-I pré-parto e a produção de leite pós-parto, não foi observada correlação ($r = -0,50$; $P = 0,06$). Embora os grupos não apresentem diferença estatística quanto aos dados e ECC ($P = 0,74$), NEFA ($P = 0,94$), e peso ($P = 0,21$), a correlação entre essas variáveis nos remete a estudos prévios que associam altas concentrações de NEFA e BHBA com a ocorrência de transtornos do periparto, bem como a grande variação de ECC entre os dias -21 e +21 relativos ao parto (Bauman and Currie, 1980). Os estudos que citam a correlação entre essas variáveis levam em consideração principalmente os diferentes ECC entre as vacas no pré-parto, dado este que em nosso estudo se apresentou de forma homogênea em função da seleção das vacas a serem testadas. Uma vez que as vacas deste experimento não apresentavam diferenças na condição corporal pré-parto, esperava-se que ocorresse menor variação do ECC também no pós-parto, o que resultou em mobilização lipídica semelhante entre os grupos e, consequentes, concentrações de NEFA semelhantes.

Conclusão

Conclui-se que o bPL não atua diretamente na lipólise pós-parto, não agindo diretamente na síntese e manutenção das concentrações de IGF-I no sangue apresentando efeito positivo sobre a produção de leite e maior sensibilidade à insulina. Por outro lado, ainda pode-se sugerir que o bPL atua competindo com os receptores hepáticos de GH presentes no fígado durante a gestação, o que explicaria as concentrações de IGF-I observadas neste estudo.

Conflitos de interesse

Nenhuma das empresas citadas no artigo desempenharam qualquer papel durante a coleta de dados deste estudo, durante a análise e interpretação dos dados ou durante a decisão de submissão do manuscrito para publicação. Nenhum dos autores possui interesse pessoal ou financeiro que possa influenciar o conteúdo do artigo.

Agradecimentos

Agradecemos à CAPES, CNPq, UFPEL e ao Programa de Pós Graduação em Veterinária pelo apoio irrestrito fornecido à nossa equipe durante todo o processo de elaboração, execução e análise deste estudo. Agradecemos também à equipe das Granjas 4 Irmãos S.A. pelo apoio no desenvolvimento deste estudo.

Referências

- Akers R.M. (2006) Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows. *Journal of dairy science* 89:1222-34. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72191-9.
- Alvarez-Oxiley A.V., de Sousa N.M., Beckers J.F. (2008) Native and recombinant bovine placental lactogens. *Reproductive biology* 8:85-106.
- Bauman D.E., Currie W.B. (1980) Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of dairy science* 63:1514-29.
- Bauman D.E., Griinari J.M. (2000) Regulation and nutritional manipulation of milk fat. Low-fat milk syndrome. *Advances in experimental medicine and biology* 480:209-16. DOI: 10.1007/0-306-46832-8_26.
- Bazer F.W. (1975) Uterine protein secretions: Relationship to development of the conceptus. *Journal of animal science* 41:1376-82.

- Ben-Jonathan N., Mershon J.L., Allen D.L., Steinmetz R.W. (1996) Extrapituitary prolactin: distribution, regulation, functions, and clinical aspects. *Endocrine reviews* 17:639-69.
- Butler, S.T., Marr, A.L., Pelton, S.H., Radcliff, R.P. AND Lucy, M.C. (2003) Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. *Journal of Endocrinology*. 176:205-217.
- Byatt J.C., Eppard P.J., Veenhuizen J.J., Sorbet R.H., Buonomo F.C., Curran D.F., Collier R.J. (1992) Serum half-life and in-vivo actions of recombinant bovine placental lactogen in the dairy cow. *The Journal of endocrinology* 132:185-93.
- Drackley J.K. (1999) ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of dairy science* 82:2259-73.
- Enders A.C., Welsh A.O. (1993) Structural interactions of trophoblast and uterus during hemochorial placenta formation. *The Journal of experimental zoology* 266:578-87. DOI: 10.1002/jez.1402660608.
- Feng J., Gu Z., Wu M., Gwazdauskas F.C., Jiang H. (2009) Growth hormone stimulation of serum insulin concentration in cattle: nutritional dependency and potential mechanisms. *Domestic animal endocrinology* 37:84-92. DOI: 10.1016/j.domaniend.2009.03.003.
- Fuglsang J., Ovesen P. (2006) Aspects of placental growth hormone physiology. *Growth hormone & IGF research : official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society* 16:67-85. DOI: 10.1016/j.ghir.2006.03.010.
- Gootwine, E. (2004) Placental hormones and fetal-placental development. *Animal Reproduction Science* 82(83):551-556
- Hayirli A. (2006) The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidoses and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. *Veterinary research communications* 30:749-74. DOI: 10.1007/s11259-006-3320-6.
- Hossner K.L., Holland, M.D., Williams, S.E., Wallace, C.R., Niswender, G.D. and Odde, K.G. (1997) Serum concentrations of insulin-like growth factors and placental lactogen during gestation in cattle. II. Maternal profiles. *Domestic Animal Endocrinology*. 14(5):316-324.
- Houseknecht, K.L., Bauman, D.E., Vernon, R.G., Byatt, J.C. and Collier, R.J. (1996) Insulin-like Growth factors-I and -II, somatotropin, prolactin, and placental lactogen are not acute effectors of lipolysis in ruminants. *Domestic Animal Endocrinology* 13(3):239-249.
- Igwebuike, U.M. (2006) Review Article: Trophoblast cells of ruminant placentas – A minireview. *Animal Reproduction Science*. 93:185-198.

Ingvarsen, K.L and Andersen, J.B. (2000) Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animal. SYMPOSIUM: Dry matter intake of lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 83:1573-1597.

Kerestes, M., Faigl, V., Kulcsár, M., Balogh, O., Földi, J., Fèbel, H., Chilliard, Y., Huszenicza, G. (2009) Periparturient insulin secretion and whole-body insulin responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. *Domestic Animal Endocrinology*. 37:250-261.

Lee H.H., Kida K., Miura R., Inokuma H., Miyamoto A., Kawashima C., Haneda S., Miyake Y., Matsui M. (2012) Slow recovery of blood glucose in the insulin tolerance test during the prepartum transition period negatively impacts the nutritional status and reproductive performance postpartum of dairy cows. *The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science* 74:457-64.

Mohamed T., Oikawa S., Iwasaki Y., Mizunuma Y., Takehana K., Endoh D., Kurosawa T., Sato H. (2004) Metabolic profiles and bile acid extraction rate in the liver of cows with fasting-induced hepatic lipidosis. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine* 51:113-8. DOI: 10.1111/j.1439-0442.2004.00614.x.

Obese, F.Y., Rabiee, A.R., Macmillan, K.L., Egan, A.R., Humphrys, S. and Anderson, G.A. (2008). Variation in plasma concentrations of insulin-like growth factor-I in pasture-fed Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 91:1814-1821.

Piechotta, M., Sander, A.K., Kastelic, J.P., Heppelmann, M., Rudolph, B., Schuberth, H.J., Bollwein, H. and Kaske, M. (2012) Prepartum plasma insulin-like growth factor-I concentrations based on day of insemination are lower in cows developing postpartum disease. *Journal of Dairy Science*. 95:1367-1370.

Radcliff, R.P., McCormack, B.L., Crooker, B.A. and Lucy, M.C. (2003) Plasma hormones and expression of growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 86:3920-3926.

Stolar M.W., Chilton R.J. (2003) Type 2 diabetes, cardiovascular risk, and the link to insulin resistance. *Clinical therapeutics* 25 Suppl B:B4-31.

Velazquez, M.A., Spicer, L.J. and Wathes, D.C. (2008) The role of endocrine insulin-like growth factor-I (IGF-I) in female bovine reproduction. *Domestic Animal Endocrinology* 35:325-342.

Wildman E.E., Jones, G. M., Wagner, P. E. and Boman, R. L. (1982) A Dairy Cow Body Condition Scoring System and Its Relationship to Selected Production Characteristics. *Journal of dairy science* 65:495-501.

478 **Tabela 1** - Concentrações plasmáticas de bPL (ng/mL) durante o período pré parto de vacas leiteiras

		BAIXO		MED		ALTO	
		média±SE		média±SE		média±SE	
-21	2,629	0,158	3,076	0,355	3,215	0,252	
-14	3,050	0,090	3,164	0,320	3,534	0,557	
-7	2,611	0,495	2,858	0,347	3,431	0,681	
-5	1,421	0,312	1,760	0,228	3,651	1,645	
-3	1,926	0,310	1,935	0,161	1,905	0,222	
-1	1,328	0,187	1,837	0,168	2,406	0,494	
0	1,472	0,241	1,923	0,332			
média±SE		2,037 ^a ±0,139		2,325 ^b ±0,116		2,914 ^c ±0,227	

479 Letras diferentes entre colunas representam P < 0,05.

480

481 **Tabela 2** - Concentrações plasmáticas de IGF-I (ng/mL) durante o período pré parto de vacas leiteiras.

Concentrações plasmáticas de IGF-I (ng/mL) durante o período pré parto de vacas leiteiras.						
	ALTO		MED		BAIXO	
	média±SE		média±SE		média±SE	
-21	0,26696 ^c	0,01707	0,5485 ^b	.	1 ^a	0,04775
-14	0,56706 ^a	0,14589	0,444 ^a	0,116	0,244 ^a	0,065
-7	2,68539 ^a	.	0,353 ^b	0,108	0,384 ^b	0,124
0	0,59918 ^a	0,0796	0,626 ^a	0,273	0,695 ^a	0,208
média±SE	0,58099 ^b	0,16851	0,49298 ^c	0,05967	1,02965 ^a	0,55696

482 Letras diferentes entre colunas representam P < 0,05.

483

484 **Tabela 3** - Médias e erro padrão para cada parâmetro avaliado durante o TTGSI das vacas dos grupos ALTO, MED e BAIXO durante o teste pré e pós-parto.

485

Médias e erro padrão para cada parâmetro avaliado durante o TTGSI das vacas dos grupos ALTO, MED e BAIXO durante o teste pré e pós-parto.

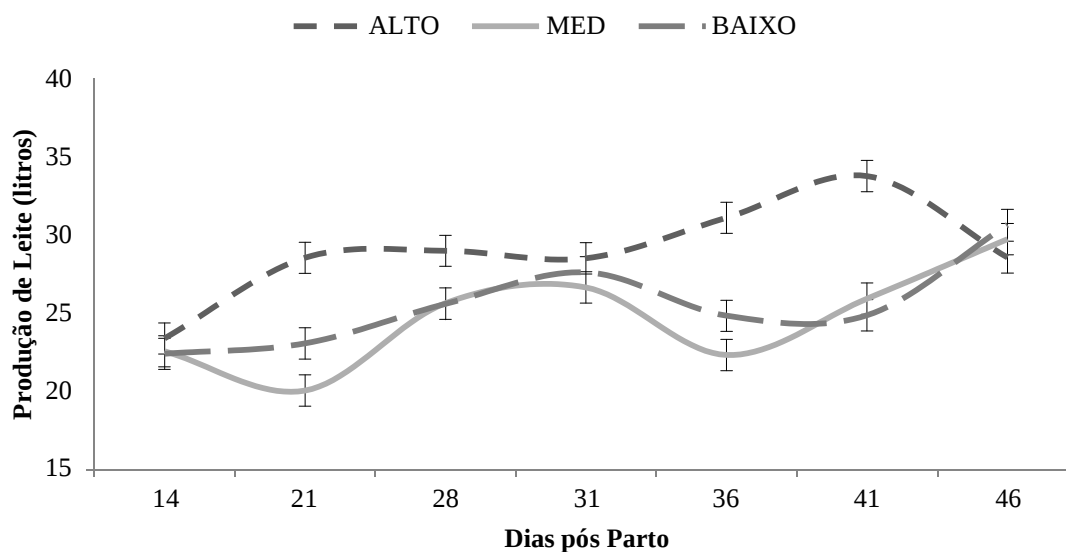
Parâmetro TTGSI	ALTO		MED		BAIXO	
	Pré-parto média±SE	Pós-parto média±SE	Pré-parto média±SE	Pós-parto média±SE	Pré-parto média±SE	Pós-parto média±SE
Clear rate glicose (t0-60)	1,05±0,08	1,24±0,11	0,97±0,15	1,08±0,11	1,00±0,21	1,59±0,21
Clear rate glicose (t60-150)	1,44±0,16	1,67±0,28	1,54±0,24	1,66±0,16	1,47±0,2	1,94±0,37
Meia-vida da Glicose (t0-60)	68,04±5,40	60,59±8,86	79±11,28	66,9±6,4	91,28±24,96	48,97±8,6
Meia-vida da Glicose (t60-150)	52,51±6,52	58,52±19,61	52,08±9,4	44,17±5,31	51,23±6,23	45,09±10,72
AUC glicose (t0-60)	10636,43±1077,4	9642,5±1124,1	13094,33±1447,63	8823,4±860,09	12290,8±1255	7259,5±844,57
AUC glicose (t60-150)	10636,43±1077,4	9642,57±1124,17	13094,33±1447,63	8823,4±860,09	12290,8±1255	7259,5±844,57
AUC insulina (t0-60)	5406,4±2664,4	4819,43±1320,36	2692,3±1101,4	31094,17±3408,88	8670,8±1107,71	4533,1±1622,71
AUC insulina (t60-150)	10899,1±1688,8	18453,5±2040,1 ^c	8714±1361	8823,4±860,09 ^c	8670,8±1107,71	25077,83±4104,34 ^a
ISBGR	34,66±3,32	38,13±5,5	36,24±4,69	38,9±3,14	35,15±3,78	42,46±6,37

486 Letras diferentes entre colunas representam $P < 0,05$.

487 AUC = área sob a curva

488 ISBGR = redução da insulina por estímulo da glicose

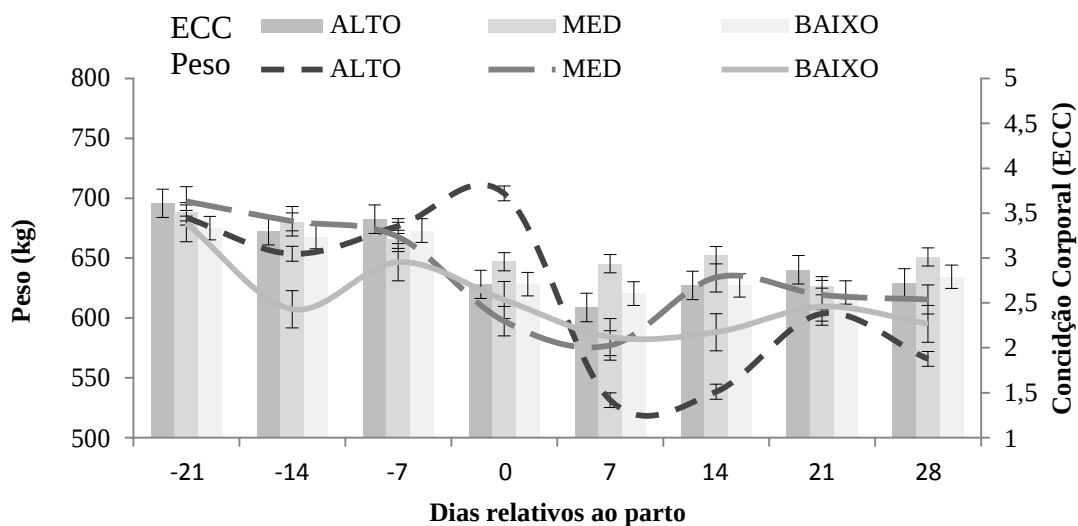
489 **Figuras**



490

491 **Figura 1** - Produção de leite (litros) durante os primeiros 46 dias pós-parto das vacas dos grupos ALTO, MED e BAIXO ($P = 0,06$).

493



494

495 **Figura 2** - Peso (kg) e Escore de Condição Corporal (ECC) das vacas dos grupos ALTO, MED e BAIXO durante todo o período experimental ($P > 0,05$).

497

498

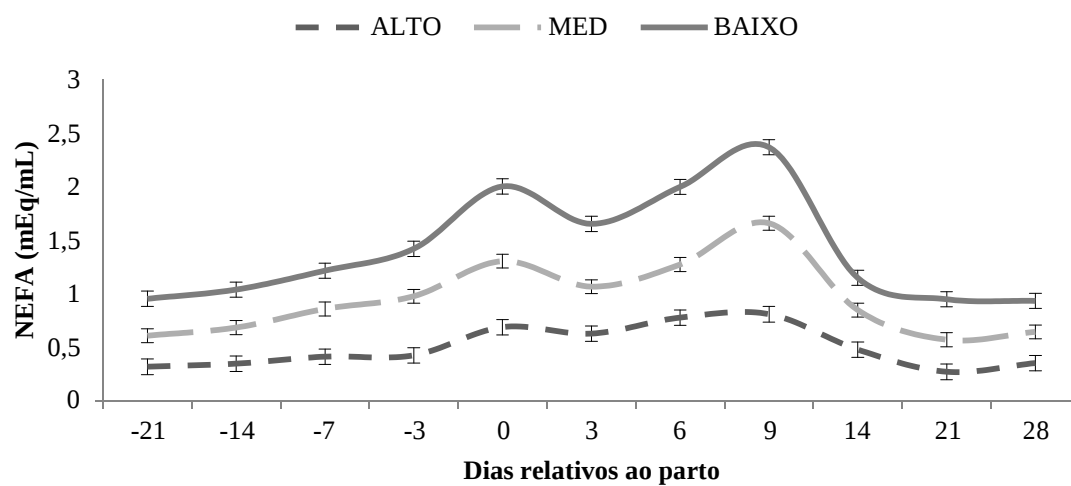


Figura 3 - Concentrações plasmáticas de NEFA (mEq/mL) das vacas dos grupos ALTO, MED e BAIXO durante todo o período experimental ($P > 0,05$).

4 CONCLUSÃO GERAL

Conclui-se que o bPL pré parto não atua diretamente na lipólise pós parto do período de transição, bem como não atua diretamente na síntese e manutenção das concentrações de IGF-I no sangue. Por outro lado, ainda pode-se sugerir que o bPL atua competindo com os receptores hepáticos de GH presentes no fígado durante a gestação e que, vacas com maior concentração de bPL pré-parto produziram mais leite durante o pós-parto e são mais sensíveis à insulina.

REFERÊNCIAS

AKERS, R.M. Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows. **Journal of dairy science** v. 89, n.4, p.1222-1234, apr. 2006.

ALVAREZ-OXILEY A.V.; SOUSA N.M.D.; BECKERS J.F. Native and recombinant bovine placental lactogens. **Reproductive biology**, v. 8, n.2, p.85-106, july 2008.

BAUMAN D.E.; CURRIE W.B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p.1514-1529, 1980.

BAUMAN D.E.; GRIINARI J.M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat. Low-fat milk syndrome. **Advances in experimental medicine and biology**. v.480, p. 209-216, 2000.

BAZER F.W. Uterine protein secretions: Relationship to development of the conceptus. **Journal of animal science**, v.41, p. 1376-1382, 1975.

BEAM, S.W.; BUTLER, W.R. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. **Biology Reproduction**, v.56, p. 133-142, 1998.

BOBE G.; YOUNG J.W.; BEITZ D.C. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of dairy science**, v.87, p. 3105-3124, 2004.

BRELJE T.C.; SCHARP D.W.; LACY P.E.; OGREN L.; TALAMANTES F.; ROBERTSON M.; FRIESEN H.G.; SORENSON R.L. Effect of homologous placental lactogens, prolactins, and growth hormones on islet B-cell division and insulin secretion in rat, mouse, and human islets: implication for placental lactogen regulation of islet function during pregnancy. **Endocrinology**, v.132, p. 879-887, 1993.

BUTLER, S.T.; MARR, A.L.; PELTON, S.H.; RADCLIFF, R.P.; LUCY, M.C. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. **Journal of Endocrinology**, v.176, p. 205-217, 2003.

DRACKLEY J.K. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of dairy science**, v. 82, n.11, p. 2259-2273, nov.1999.

FENG J., GU Z.; WU M.; GWAZDAUSKAS F.C.; JIANG H. Growth hormone stimulation of serum insulin concentration in cattle: nutritional dependency and potential mechanisms. **Domestic animal endocrinology**, v. 37, n.2, p.84-92, aug. 2009.

FUGLSANG J., OVESEN P. Aspects of placental growth hormone physiology. **Growth hormone & IGF research**, v.16, n.2, p.67-85, apr.2006.

GONZALEZ F.D.; MUINO R.; PEREIRA V.; CAMPOS R.; BENEDITO J.L. Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function during early lactation in high-yielding dairy cows. **Journal of veterinary science**, v.12, n.3, p.251-255, 2011.

HANDWERGER, S.; RICHARDS, R.G.; MYERS, S.E. Novel Regulation of the synthesis and release of human placental lactogen by high density lipoproteins – A Review. **Trophoblast Research**, v.8, p. 339-354,1994.

HAYIRLI A. The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. **Veterinary research communications**, v.30, p.749-774, 2006.

HOSSNER K.L.; HOLLAND, M.D.; WILLIAMS, S.E.; WALLACE, C.R.; NISWENDER, G.D; ODDE, K.G. Serum concentrations of insulin-like growth factors and placental lactogen during gestation in cattle. II. Maternal profiles. **Domestic Animal Endocrinology**, v.14, n.5, p.316-324, 1997.

JANOVICK, N.A.; DRACKLEY, J.K.. Prepartum dietary management of energy intake affects postpartum intake and lactation performance by primiparous and multiparous Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n.7, p.3086-3102, july 2010.

LEE H.H., KIDA K., MIURA R., INOKUMA H., MIYAMOTO A., KAWASHIMA C., HANEDA S., MIYAKE Y., MATSUI M. Slow recovery of blood glucose in the insulin tolerance test during the prepartum transition period negatively impacts the nutritional status and reproductive performance postpartum of dairy cows. **The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science**, v.74, n.4, p.457-64, 2012.

MOHAMED T.; OIKAWA S.; IWASAKI Y.; MIZUNUMA Y.; TAKEHANA K.; ENDOH D.; KUROSAWA T.; SATO H. Metabolic profiles and bile acid extraction rate in the liver of cows with fasting-induced hepatic lipidosis. **Journal of veterinary medicine**. v.51, n.3, p.113-118, apr. 2004.

NOEL S.; HERMAN A.; JOHNSON G.A.; GRAY C.A.; STEWART M.D.; BAZER F.W.; GERTLER A.; SPENCER T.E. Ovine placental lactogen specifically binds to endometrial glands of the ovine uterus. **Biology of reproduction**, v.68, n.3, p.772-80, mar. 2003.

OBESE, F.Y.; RABIEE, A.R.; MACMILLA, K.L.; EGAN, A.R.; HUMPHRYS, S.; ANDERSON, G.A. Variation in plasma concentrations of insulin-like growth factor-I in pasture-fed Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n.5, p.1814-1821, may 2008.

PIECHOTTA, M.; SANDER, A.K.; KASTELIC, J.P.; HEPPELMANN, M.; RUDOLPH, B.; SCHUBERTH, H.J.; BOLLWEIN, H.; KASKE, M. Prepartum plasma insulin-like growth factor-I concentrations based on day of insemination are lower in cows developing postpartum disease. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n.3, p. 1367-1370, mar. 2012.

RADCLIFF, R.P.; MCCORMACK, B.L.; CROOKER, B.A.; LUCY, M.C. Plasma hormones and expression of growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.12, p.3920-3926, dec. 2003.

ROCHE, J.R.; FRIGGENS, N.C.; KAY, J.K.; FISHER, M.W.; STAFFORD, K.J.; BERRY, D.P. Invited Review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health and welfare. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.12, p.5769-5801, dec. 2009.

SINAIKO A.R.; CAPRIO S. Insulin resistance. **The Journal of pediatrics**. v.161, n. 1, p.11-15, july 2012.

STOLAR M.W.; CHILTON R.J. Type 2 diabetes, cardiovascular risk, and the link to insulin resistance. **Clinical therapeutics**, v.25, suppl B, p.B4-B31, 2003.

