

INDUÇÃO DA LACTAÇÃO EM VACAS: MARCADORES DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA E PERFIL HORMONAL

HENRIQUE SCHNEIDER PESTANO^{1,2}; CRISTINA SANGOI HAAS², FERNANDO CAETANO OLIVEIRA², MONIKE QUIRINO SANTOS², SERGIO FARIAS VARGAS JÚNIOR²; BERNARDO GARZIERA GASPERIN^{2,3}

¹Universidade Federal de Pelotas – henrique_pestano@hotmail.com

²ReproPel – Faculdade de Veterinária - UFPel

³Universidade Federal de Pelotas – bggasperin@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A indução artificial da lactação em bovinos nos permite recriar um modelo para o estudo da lactogênese e galactopoiese e é uma alternativa para evitar o descarte precoce de animais de alto mérito genético com problemas reprodutivos (Freitas *et al.*, 2010). Transtornos reprodutivos causam aumento no intervalo entre partos, menor produção de leite, abate de fêmeas em idade produtiva e aumento dos custos operacionais, reduzindo a lucratividade da atividade e aumentando a reposição de animais. Alternativamente à reposição por novilhas, existe a possibilidade de induzir a lactação em fêmeas existentes na propriedade (Magliaro *et al.*, 2004). A técnica consiste em mimetizar os níveis hormonais do período final da gestação, fazendo com que as fêmeas iniciem a secreção de leite sem que tenham concebido. Portanto, a indução da lactação pode ser útil em casos que ao final de uma lactação, fêmeas de alto mérito produtivo não se encontram gestante (Freitas *et al.*, 2010). Os protocolos disponíveis atualmente no Brasil envolvem a administração de estradiol e progesterona por cerca de sete dias seguida de aplicação de estradiol isoladamente por mais sete dias, possibilitando uma resposta em cerca de 80-90% dos animais e uma produção de 65-80% do volume produzido em uma lactação natural (Freitas *et al.*, 2010).

Este estudo teve por objetivo determinar o grau de desconforto provocado pelo protocolo hormonal e pelo longo período de estro apresentado pelos animais, através da mensuração da paraoxonase (PON1), uma proteína de fase aguda negativa. Além disso, objetivou-se acompanhar a resposta inflamatória no local das aplicações dos hormônios e alterações na temperatura dos membros através da termográfica e também traçar o perfil endócrino dos animais submetidos ao protocolo através de dosagens seriadas de progesterona e estradiol.

2. METODOLOGIA

Todos os procedimentos foram avaliados e aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA-UFPel) – processo 23110.010524/2014-71. Foram utilizadas 11 vacas da raça Jersey, divididas em dois grupos. Todos os animais foram previamente sincronizados com duas aplicações de prostaglandina (150 µg- Cloprostenol – i.m.) para que não possuísem corpos lúteos funcionais no início do estudo. As vacas do grupo controle (n=6) receberam apenas um implante vaginal contendo 1g de progesterona e permaneceram nas mesmas condições do grupo induzido (grupo IND; n=5). O protocolo de indução iniciou com a administração diária de progesterona (i.m.; 0,25 mg/kg) durante sete dias (dias 0 a 6) e de estradiol (i.m.; 0,1mg/kg) durante 14 dias (dias 0 a 13). Além disso, as vacas

receberam três aplicações de dexametasona (i.m.; 0,05mg/kg; dias 19 a 21) e uma aplicação de prostaglandina F2 α (i.m.; 150 μ g; dia 17). Para que ocorresse a liberação de prolactina endógena, as vacas tiveram os úberes massageados duas vezes ao dia durante 5 minutos (dias 13 a 19). Foram coletadas amostras de sangue de todos os animais nos dias 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14. Para determinação dos níveis de proteínas de fase aguda negativa, avaliou-se a atividade da PON1 por espectrofotometria (Browne *et al.*, 2007). A termográfica do posterior (local das aplicações) foi realizada utilizando um termógrafo FLIR E25. Cada termograma gerado foi analisado pelo software de análise da FLIR® (FLIR QuickReport™ PC software). O efeito dos tratamentos sobre os níveis de PON1 e sobre a temperatura no local das injeções foi analisado utilizando modelo para dados repetidos (MIXED models, SAS Institut Inc., Cary, NC). Em todas as análises o nível de significância utilizado foi de 5%. Para determinação dos níveis séricos de progesterona (n=4 animais/grupo) e estradiol (somente grupo IND; n=4) foi utilizada a técnica de eletroquimioluminescência (Bossaert *et al.*, 2008), sendo apenas apresentadas as médias e erro padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as fêmeas tratadas responderam positivamente ao protocolo, sendo observado o desenvolvimento da glândula mamária, embora a produção de leite não tenha sido avaliada. Todos os animais do grupo IND apresentaram estro no D9 (dois dias após o término da administração de progesterona), com a duração de aproximadamente 12 dias. A manifestação de estro constante dificulta o manejo e pode predispor a lesões e fraturas nos animais (Chakriyarat *et al.*, 1978), representando uma grande desvantagem do protocolo utilizado.

Até o momento não há dados de literatura mensurando o grau de desconforto proporcionado pela indução da lactação com foco no bem-estar animal. Uma forma de avaliar o possível desconforto causado pela a indução é a termográfica, uma vez que oscilações na temperatura corporal estão associadas a inúmeras lesões, doenças ou mesmo alterações comportamentais (Stewart *et al.*, 2008). No entanto, no presente estudo não se verificou diferença de temperatura no local da administração dos hormônios, sugerindo que não tenha ocorrido uma resposta inflamatória exacerbada nos locais onde eram realizadas as injeções. De fato, não foram observadas reações significativas como abscessos ou aumento de volume nos membros posteriores.

Quanto ao nível de PON1, não foi observada diferença entre os grupos controle e IND, somente um efeito do momento da avaliação. A PON é uma proteína de fase aguda negativa, sendo que ocorre uma redução de seus níveis após uma lesão (Schneider *et al.*, 2013). Esperava-se uma queda apenas no grupo IND, já que os animais eram submetidos a injeções i.m. diárias de grandes volumes de hormônios. Embora não existam marcadores específicos e fidedignos de estresse e dor (Ceciliani *et al.*, 2012), as concentrações circulantes de proteínas de fase aguda estão relacionadas com a gravidade do distúrbio e extensão do dano tecidual em animais (Murata *et al.*, 2004).

Em relação aos níveis séricos de estradiol, foram observados níveis compatíveis com os previamente descritos por Erb *et al.* (1976). Porém, os poucos estudos que realizaram dosagens hormonais utilizaram estradiol 17 β , produto não disponível comercialmente no Brasil. Portanto, o presente estudo foi o primeiro a determinar o perfil endócrino de vacas induzidas utilizando benzoato de estradiol. No

D0 as fêmeas apresentavam $51,9 \pm 16$ pg/ml e após o início do tratamento foram observados $2523,9 \pm 114,5$ pg/ml de estradiol, nível equivalente aos relatados em um estudo anterior, onde foram observados níveis entre 1500 e 2000 pg/ml (Erb *et al.*, 1976). Em relação à progesterona, uma das vacas do grupo controle foi excluída do estudo por apresentar mais de 10 ng/ml de progesterona no D0, indicando a presença de corpo lúteo funcional. Todas as demais vacas apresentaram níveis inferiores a 1 ng/ml, evidenciando a ausência de atividade luteal. Durante o período de aplicação (D2 e D4) as vacas induzidas apresentaram níveis entre $9,5 \pm 2$ e 10 ± 3 ng/ml, retornando aos níveis basais no D12 (quatro dias após o término das injeções i.m.). As fêmeas do grupo controle, que receberam um dispositivo vaginal contendo 1g de progesterona, apresentaram níveis entre $4,6 \pm 0,1$ e $6,5 \pm 0,65$ ng/ml entre D2 e D4. Portanto os resultados sugerem que as aplicações i.m. podem ser substituídas pela utilização de dispositivos intravaginais (Macmillan *et al.*, 1991) e/ou pela presença de CLs funcionais ao longo do protocolo, o que pode ser facilmente obtido se as vacas forem sincronizadas e iniciarem o protocolo no dia 6 após a ovulação.

4. CONCLUSÕES

As observações do presente estudo indicam que as injeções hormonais repetidas não alteram a atividade de PON1 e que o principal ponto a ser melhorado no protocolo utilizado é o longo período de estro apresentado pelas vacas, o que compromete o bem-estar dos animais. Com os valores de progesterona encontrados, pode-se sugerir que é possível a utilização de dispositivos intravaginais impregnados com progesterona associados à CLs funcionais para indução de lactação em vacas, uma vez que possibilitariam níveis séricos próximos aos obtidos através de injeções intramusculares. Formas alternativas de administração de estradiol e mais estudos para minimizar o desconforto proporcionado pelo longo período de estro ainda são necessários.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOSSAERT, P. *et al.* Interrelations between glucose-induced insulin response, metabolic indicators, and time of first ovulation in high-yielding dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 9, p. 3363-3371, 2008.

BROWNE, R. W. *et al.* Accuracy and Biological Variation of Human Serum Paraoxonase 1 Activity and Polymorphism (Q192R) by Kinetic Enzyme Assay. **Clinical Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 310-317, February 1, 2007 2007.

CECILIANI, F. *et al.* Acute phase proteins in ruminants. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 14, p. 4207-4231, 7/19/ 2012.

CHAKRIYARAT, S. *et al.* Induction of lactation: Lactational, physiological, and hormonal responses in the bovine. **Journal of dairy science**, v. 61, n. 12, p. 1715-1724, 1978.

ERB, R. et al. Hormone induced lactation in the cow. IV. Relationships between lactational performance and hormone concentrations in blood plasma. **Journal of dairy science**, v. 59, n. 8, p. 1420-1428, 1976.

FREITAS, P. R. C. et al. Artificial induction of lactation in cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia** v. 39, n. 10, p. 2268-2272, 2010.

MACMILLAN, K. et al. Plasma progesterone concentrations in heifers and cows treated with a new intravaginal device. **Animal Reproduction Science**, v. 26, n. 1, p. 25-40, 1991.

MAGLIARO, A. et al. Induced lactation in nonpregnant cows: Profitability and response to bovine somatotropin. **Journal of dairy science**, v. 87, n. 10, p. 3290-3297, 2004.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, v. 168, n. 1, p. 28-40, 7// 2004.

SCHNEIDER, A.; CORRÊA, M.; BUTLER, W. Short communication: Acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. **Research in veterinary science**, v. 95, n. 1, p. 269-271, 2013.

STEWART, M. et al. Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local anaesthetic. **Physiology & Behavior**, v. 93, n. 4–5, p. 789-797, 3/18/ 2008.