

XVIII

CIC

XI ENPOS
I MOSTRA CIENTÍFICA



Evoluir sem extinguir:
por uma ciência do devir



AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IGF-I E B-HIDROXIBUTIRATO E EXPRESSÃO DE GHR, GHR 1A E IGF-I EM VACAS DE CORTE PÓS-PARTO

Hax, Lucas Teixeira¹, NETO, José Wilson da Silva¹, PEREIRA, Rubens Alves², SCHNEIDER, Augusto³, PFEIFER, Luiz Francisco Machado⁴, DEL PINO, Francisco Augusto Burkert⁵; BIANCHI, Ivan⁶; CORRÊA, Marcio Nunes⁷.

¹ *Graduando em Medicina Veterinária – UFPel*

² *Farmacêutico Industrial, Mestrando em Biotecnologia - UFPel;*

³ *Médico Veterinário, Doutorando em Biotecnologia - UFPel*

⁴ *Médico Veterinário, M.C., Doutor em Zootecnia - UFPel;*

⁵ *M.C, Dr. Professor Adjunto –, Departamento de Bioquímica – UFPel*

⁶ *M.C, Dr. Professor Adjunto – Departamento de Patologia Animal - UFPel*

⁷ *M.C. Dr. Professor Adjunto – Departamento de Clínicas Veterinária - UFPel*

Universidade Federal de Pelotas

Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)

Campus Universitário – 96010 900 - Pelotas/RS - www.ufpel.edu.br/nupeec

E-mail: nupeec@gmail.com - 0XX (53) 3275 7188

1. INTRODUÇÃO

Nos sistemas de pecuária de cria o período pós-parto representa um importante momento para o sucesso da atividade. Para alcançar uma alta eficiência biológica, a categoria de vacas de cria deve ter 85 dias de intervalo entre o parto e a concepção. Para tanto, o período de anestro pós-parto deve ser reduzido para que a fêmea retome a ciclicidade o mais precocemente possível.

A foliculogênese pós-parto é afetada pela condição nutricional (KAWASHIMA et al, 2007). Animais que sofrem um déficit nutricional no pré-parto ou que passam pela mesma situação no pós-parto apresentam um atraso no retorno à ciclicidade.

Um dos fatores importantes no desenvolvimento e maturação ovocitária é o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) (KAWASHIMA et al, 2007). Esse fator de crescimento possui efeito mitogênico nas células da granulosa e potencializa o efeito das gonadotrofinas nos tecidos foliculares (KAWASHIMA et al, 2007).

Apesar do IGF-I ser produzido por todos os tecidos, a produção hepática representa a maior parte da concentração plasmática. No fígado, a transcrição desse gene é regulada positivamente pelo hormônio do crescimento (GH) (KOBAYASHI et al, 1999). O receptor hepático de GH (GHR) possui cinco classes de transcritos, sendo o GHR 1A, GHR 1B e GHR 1C responsáveis por 50%, 35% e 15% respectivamente do RNAm total de GHR (KOBAYASHI et al., 1999).

A expressão hepática do receptor de GH (GHR) é regulada pela insulina (BUTLER et al, 2003). Em situações de escassez de forragem, onde a concentração

sérica de glicose encontra-se reduzida, a concentração sérica de insulina também apresenta-se diminuída, reduzindo a transcrição de GHR no tecido hepático. Conseqüentemente, a produção de IGF-I será diminuída, comprometendo a qualidade ovocitária e o retorno à ciclicidade (KAWASHIMA et al, 2007).

Esse trabalho objetivou avaliar a relação entre o status nutricional, através da concentração sérica de marcadores metabólicos, expressão de GHR, GHR 1A e IGF-I e momento da primeira ovulação em vacas de corte pós-parto.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 4 vacas da raça Aberdeen Angus e 4 vacas da raça Brangus, todas no período pós-parto, mantidas em pastagem de campo nativo, no período de janeiro a março em uma propriedade no sul do Brasil. Os animais haviam sido previamente submetidos a um programa de sincronização deaios para que os partos ocorressem no mesmo período.

Após 10 dias do momento do parto foram realizadas coletas de sangue a cada dois dias para determinação da concentração de progesterona plasmática. Quando a concentração ultrapassou 1ng/mL, considerava-se que a ovulação havia ocorrido há 4 dias.

Também foram coletadas amostras de sangue e tecido hepático nos dias 0, 10, 20, 30 e 40 após o parto. A partir das amostras sanguíneas foi realizada a avaliação das concentrações de β -hidroxibutirato (RANBUT, RANDOX®, Crumlin, UK). Nestes mesmos momentos foram coletados aproximadamente 100 mg de tecido hepático de cada animal. Após as biópsias hepáticas as amostras foram imediatamente imersas em nitrogênio líquido.

A extração de RNA foi feita de acordo com o protocolo do Trizol (Invitrogen®). A integridade do RNA foi determinada através de espectrofotometria, pela razão da taxa de absorvância em 260 e 280 nm, e eletroforese das amostras em gel de agarose a 1.5% impregnado com brometo de etídeo.

O RNA foi tratado com DNase Amp Grade (Invitrogen®) e submetido a transcrição reversa com o kit SuperScript III First-Strand Synthesis Supermix (Invitrogen®).

As seqüências dos primers utilizados foram as seguintes: GHR (For CCA GTT TCC ATG GTT CTT AAT TAT, Rev TTC CTT TAA TCT TTG GAA CTG G) (Pfaffl et al., 2002), IGF-I (For TCG CAT CTC TTC TAT CTG GCC CTG T, Rev GCA GTA CAT CTC CAG CCT CCT CAG A) (Pfaffl et al., 2002) e β -actina (For CTA GGC ACC AGG GCG TCA TG, Rev CTT AGG GTT CAG GGG GGC CT).

As amplificações foram preparadas em reações de 25 μ L utilizando o kit Platinum SYBR Green qPCR SuperMix-UDG (Invitrogen®), sendo a detecção da fluorescência realizada em duplicata utilizando o ABI Prism 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems®).

Os dados foram avaliados no programa SAS®. Análises envolvendo medidas repetidas, como a concentração de IGF-I e β -hidroxibutirato, sobre o tempo foram comparadas entre os grupos através do procedimento MIXED, para avaliar o efeito do tratamento, dia da coleta e interação tratamento-dia. Quando as interações foram significativas, o método ONE-WAY ANOVA foi utilizado para detectar efeitos do tratamento em cada dia.

3. RESULTADOS E DICUSSÃO

Apenas 3 vacas ovularam (ovulatórias, OV) antes de 40 dias pós-parto. Os 5 animais restantes não ovularam sendo considerados não ovulatórios (NOV).

Não houve diferença significativa na concentração de β -hidroxibutirato, indicando que não houve diferença no status energético dos animais avaliados. Em vacas de corte pós-parto, o desafio metabólico oriundo da lactação é menor em comparação a vacas leiteiras. Por esse motivo o balanço energético negativo (BEN) é menor em fêmeas de corte em comparação a fêmeas leiteiras. Conseqüentemente, o β -hidroxibutirato não é um bom marcador do balanço energético em vacas de corte devido a sua baixa variação perante um moderado BEN (GONZÁLEZ et al, 2000).

A expressão hepática de IGF-I, GHR e GHR 1A não variou entres as vacas OV e NOV (Tabela 1). Da mesma forma, as variáveis avaliadas não diferiram ao longo do período de coleta.

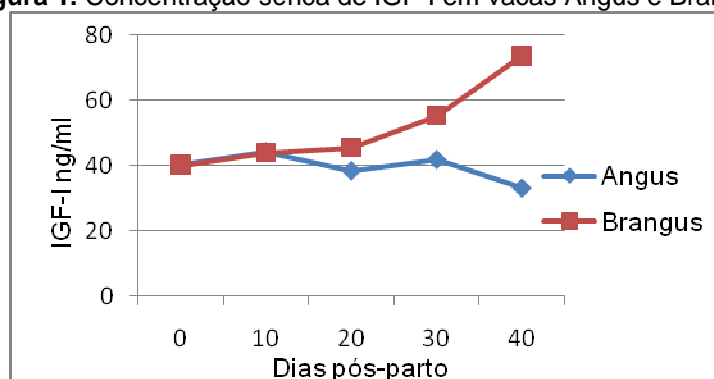
Tabela 1. Expressão hepática de IGF-I, GHR e GHR 1A.

	IGF-I	GHR	GHR 1A	P
OV	0,15 \pm 0,04	0,42 \pm 0,08	0,26 \pm 0,03	P > 0,05
NOV	0,2 \pm 0,04	0,53 \pm 0,1	0,32 \pm 0,06	P > 0,05

A concentração sanguínea de IGF-I não diferiu entre os animais OV e NOV. O IGF-I é fundamental para o desenvolvimento e maturação folicular (KAWASHIMA et al, 2007). Dessa forma, não havendo diferença na variável avaliada, é possível que tenha havido uma diferença na produção autócrina e parácrina de IGF-I entre as vacas OV e NOV (VELAZQUEZ et al, 2008).

No entanto, essa variável foi maior nos animais da raça Brangus em comparação aos animais da raça Angus (Fig. 1). Entretanto, essa diferença não foi observada na expressão hepática de GHR, GHR 1A e IGF-I.

Figura 1. Concentração sérica de IGF-I em vacas Angus e Brangus



P < 0,05

A maior concentração sérica de IGF-I nos animais da raça Brangus talvez seja atribuída à reduzida velocidade do metabolismo dos animais *Bos indicus* (LIMA et al, 2008)). Dessa forma, sob um mesmo nível de expressão hepática de GHR, GHR 1A e IGF-I e síntese de IGF-I, um maior período na corrente sanguínea, devido à lenta metabolização, acumularia maior quantidade de IGF-I, justificando o aumento do IGF-I sérico nos animais com sangue *Bos indicus*.

4. CONCLUSÃO

De acordo com esses resultados, vacas de corte pós-parto não diferem quanto à concentração sanguínea de β -hidroxibutirato, IGF-I e expressão hepática de GHR, GHR 1A e IGF-I quanto ao status ovulatório. Conclui-se também que, vacas de corte *Bos indicus* e *Bos taurus* diferem quanto à concentração sanguínea de IGF-I.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUTLER, S.T.; MARR, A.L.; PELTON, S.H.; RADCLIFF, R.P.; LUCY, M.C.; BUTLER, W.R., **Insulin receptors GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A**. Journal of Endocrinology. p. 205-217, 2003.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.; PATIÑO, H.O.; RIBEIRO, L.A. 2000. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 63-67.
- KAWASHIMA, C.; SAKAGUCHI, M.; SUZUKI, T.; SASAMOTO, Y.; TAKAHASHI, M.; MATSUI, M.; MIYAMOTO, A.. **Metabolic Profiles in Ovulatory and Anovulatory Primiparous Dairy Cows During the First Follicular Wave Postpartum**. Journal of Reproduction and Development. Vol.53, n 1, 2007.
- KOBAYASHI, Y.; BOYD, C.K.; BRACKEN, C.J.; LAMBERSON, W.R.; KEISLER, D.H.; LUCY, M.C.. **Reduced growth hormone receptor (GHR) messenger ribonucleic acid in liver of periparturient cattle caused by a specific down-regulation of GHR 1A that is associated with decreased insulin-like growth factor I**. Endocrinology. p.3947-3954, 1999.
- LIMA, F.P.C., MARQUES JR., A.P.; DOUGLAS, R.H.; HOURINETO, M.. **Serum progesterone concentration in Nelore and crossbred heifers treated with long-acting progesterone**. Arquivo Brasileiro de Veterinária e Zootecnia. Vol 59 n 3 Belo Horizonte. 2007.
- PFAFFL, M.W.; GEORGIEVA, J.M.; GEORGIEV, I.P.; ONTSOUKA, E.; HAGELEIT, M.; BLUM, M.J.W.. **Real-time RT-PCR quantification of insulin-like growth factor (IGF)-1, IGF-1 receptor, IGF-2, IGF-2 receptor, insulin receptor, growth hormone receptor, IGF-binding proteins 1, 2 and 3 in the bovine species**. Domestic Animal Endocrinology. p. 91-102, 2002.
- VELAZQUEZ, M.A.; SPICER, L.J.; WATHES, D.C.. **The role of endocrine insulin-like growth factor I (IGF-I) in female bovine reproduction**. Domestic Animal Endocrinology 2008.