

PRIORIZAÇÃO DE NUTRIENTES EM VACAS LEITEIRAS NO PÓS-PARTO IMEDIATO: DISCREPÂNCIA ENTRE METABOLISMO E FERTILIDADE?

JLMR Leroy¹, T Vanholder¹, ATM Van Knegsel², I Garcia-Ispuerto³ e PEJ Bols¹

Veterinary Centre Someren, Someren; Adaptation Physiology Group e Animal Nutrition Group, Wageningen Institute of Animal Sciences, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands; Department of Animal Health e Anatomy, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Spain

RESUMO

Cientistas de todo o mundo têm relatado há várias décadas a redução na fertilidade de vacas leiteiras de alta produção, provavelmente resultante do conflito entre as necessidades metabólicas e reprodutivas. O sucesso obtido com o aumento da produção de leite dos rebanhos foi acompanhado por tendências negativas dos parâmetros reprodutivos mais perceptíveis, tais como intervalo entre partos, número de dias abertos e número de inseminações por prenhez. Em paralelo, muitos grupos de pesquisa estudaram os fatores metabólicos e endócrinos que influenciam o crescimento folicular e a competência de ovócitos e embriões. No passado, especialistas em reprodução procuravam resolver estes problemas, porém com recursos limitados. Mais recentemente, a situação melhorou significativamente e nutricionistas e veterinários conduzem pesquisas em equipes multidisciplinares. Este trabalho de revisão discute inicialmente a priorização da utilização de nutrientes para o úbere para garantir a produção de leite e descreve as interações entre o eixo somatotrófico e gonadotrófico. Em seguida, discute as consequências do balanço energético negativo sobre o crescimento folicular e qualidade do ambiente do ovócito e do embrião, resumindo as hipóteses atualmente aceitas com base em evidências científicas em nível folicular. A discussão considera uma questão básica: a discrepância existente entre metabolismo e fertilidade e o que se pode fazer, em base nos dados científicos, para resolver o problema do baixo nível de fertilidade dos rebanhos leiteiros?

INTRODUÇÃO

O baixo desempenho reprodutivo em rebanhos leiteiros de alta produção é um problema global, caracterizado como multifatorial e que exigiu uma abordagem multidisciplinar, em que cientistas, veterinários e biólogos moleculares desvendaram em conjunto a complexa patogenia desta ‘síndrome da sub-fertilidade’. Afinal, a produção de um bezerro em intervalos regulares é considerada um pré-requisito para um desempenho rentável de lactação (Royal et al. 2000; Huirne et al. 2002). Depois do parto, o processo de emprenhar novamente nas vacas leiteiras é iniciado com a eliminação do conteúdo e posterior involução uterina, com retomada posterior da atividade ovariana. O resultado é o crescimento de um folículo saudável, contendo um ovócito competente, manifestação do estro, ovulação, fertilização e implantação de um embrião viável no útero. Qualquer distúrbio destes eventos biológicos e mecânicos balanceados e delicadamente sintonizados resulta em falha reprodutiva – exatamente o que tem acontecido com nossos modernos rebanhos leiteiros.

A síndrome da subfertilidade pode ser dividida em dois principais subproblemas. Em primeiro lugar, até 50% das modernas vacas leiteiras apresentam ciclos estrais pós-parto anormais, resultando em intervalos prolongados entre parto e primeira inseminação (Opsomer et al. 1998). Neste contexto, as pesquisas se concentraram especialmente na instabilidade do eixo hipotalâmico–pituitário–ovariano–uterino (Lucy 2001; Butler 2003). A redução concomitante na expressão do estro ou até mesmo anestro, formação de cistos e

atraso na primeira ovulação foram extensamente documentados (Beam e Butler 1997; de Vries e Veerkamp 2000; Lopez et al. 2004; Vanholder et al. 2006a). Em segundo lugar, deu-se atenção às baixíssimas taxas de concepção (Bousquet et al. 2004) e à crescente incidência de mortalidade embrionária precoce (Dunne et al. 1999; Mann e Lamming 2001; Bilodeau-Goeseels e Kastelic 2003). A fertilização dos ovócitos de vacas de alto mérito genético resulta em coletas significativamente menores de blastocistos in vitro, independentemente do nível de produção de leite (Snijders et al. 2000). A qualidade dos embriões também é afetada em vacas leiteiras de alta produção, se comparadas a vacas que não estejam em lactação (Wiltbank et al. 2001; Leroy et al. 2005a). Vacas em lactação apresentam número muito mais elevado de embriões não viáveis se comparadas a vacas não lactantes (Sartori et al. 2002). Aproximadamente 70–80% do total de perdas embrionárias e fetais corre tipicamente durante o período embrionário precoce, pré-implantação (Santos et al. 2004a) (para revisão, consultar Leroy et al. 2007).

As vacas leiteiras modernas, embora subférteis, produzem enormes quantidades de leite, principalmente devido à combinação de melhoramento genético e manejo nutricional otimizado para a lactação. Em base na fertilidade de novilhas, mantida praticamente inalterada, podemos concluir que os processos reprodutivos das modernas vacas leiteiras são essencialmente normais quando não existem as demandas da lactação (Lucy 2007). Por que o organismo destas vacas dá prioridade para a produção de leite em detrimento da eficiência reprodutiva? Nesta revisão, procuraremos responder a esta pergunta. O alto rendimento leiteiro e a boa fertilidade têm interesses conflitantes em termos metabólicos?

Da Priorização de Nutrientes Determinada Filogeneticamente à Geneticamente Influenciada: Consequências Metabólicas

Do ponto de vista biológico, faz sentido que os mamíferos favoreçam a lactação na fase inicial, em detrimento da fertilidade: a isto damos o nome de priorização de nutrientes (Lucy 2003). À medida que há escassez de disponibilidade de nutrientes, a fêmea em lactação investe preferencialmente estes recursos limitados na sobrevivência de sua progênie, ao invés de apostar em um ovócito que ainda nem foi ovulado ou fertilizado e necessitará de cuidados durante toda a gestação. Este mecanismo de catabolismo materno, geneticamente programado, deve maximizar a probabilidade de sobrevivência do recém-nascido (Silvia 2003). Ao longo dos últimos 40 anos, o foco da indústria de produção leiteira foi a maximização do rendimento leiteiro, criando uma ‘via expressa de nutrientes’ da dieta e reservas corporais (estimadas em 74% de gordura e 6% de proteína corporal: Tamminga et al. 1997) diretamente para o úbere para manter a produção de leite.

As necessidades de nutrientes do útero grávido em fase final de gestação fazem com que a vaca leiteira entre em estado catabólico. Depois do parto, ocorre uma demanda adicional por glicose, ácidos graxos e proteína quando se inicia a produção de leite. Durante este período de transição, as vacas são incapazes de compensar este aumento da demanda por energia através do aumento do consumo de ração e ocorre o balanço energético negativo (BEN). As concentrações de insulina drasticamente reduzidas resultam em mobilização de energia e distribuição para o úbere. A hipoinsulinemia promove a gliconeogênese no fígado (até 4 kg de glicose diariamente) e atua como potente gatilho lipolítico. Os ácidos graxos não esterificados (AGNEs) mobilizados atuam como fonte alternativa de energia para outros tecidos para poupar a glicose, preferencialmente utilizada pela glândula mamária para produzir lactose (Vernon 2002). Os AGNEs são predominantemente transportados para o fígado onde sofrem oxidação para fornecer energia ou são transformados em corpos cetônicos, para serem utilizados como fonte alternativa de energia em outros locais do organismo. Uma sobrecarga anormal do fígado por AGNEs pode induzir esteatose e alteração da função hepática (Herdt 2000). As lipases ativadas por hormônios do tecido adiposo de vacas leiteiras de alta produção têm maior sensibilidade a estímulos lipolíticos (tais como baixas concentrações de insulina e altos níveis de catecolaminas ou glicocorticóides). Em outras palavras, vacas leiteiras de alta produção foram geneticamente selecionadas para direcionarem uma fração ainda maior de suas reservas de energia para a

produção de leite (Coffey et al. 2004). Desta forma, um nível mais elevado de ingestão de energia resulta em produção mais elevada de leite, mas com a manutenção do desequilíbrio energético, sem nenhum efeito benéfico sobre o escore de condição corporal (ECC) (Patton et al. 2006).

Uma série de mecanismos biológicos resulta em priorização dos nutrientes para a produção de leite em detrimento das reservas corporais no período do pós-parto imediato. Em primeiro lugar, o úbere é beneficiado, pois não necessita de insulina para facilitar a captação de glicose nas células pelas moléculas de transporte de glicose, GLUT 1 e 3, enquanto a maior parte dos demais tecidos expressa predominantemente a GLUT 4, insulina-dependente (Zhao et al. 1996). Em segundo lugar, com o auxílio de testes intravenosos seriados de tolerância à glicose, observamos recentemente uma supressão temporária da função pancreática no período pós-parto imediato de vacas leiteiras de alta produção e que foi correlacionada a elevadas contrações de AGNEs (Bossaert et al. 2007). In vitro, altos níveis de AGNEs têm efeitos tóxicos sobre as células pancreáticas (Cnop et al. 2001; Maedler et al. 2001). Em terceiro lugar, as baixas concentrações de insulina imediatamente após o parto inativam o eixo do hormônio do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) no fígado devido à infrarregulação dos receptores 1A de GH – este mecanismo pode ser restaurado pela elevação das concentrações de insulina (Butler et al. 2003). À medida que a produção hepática de IGF-I é suprimida, o feedback negativo do IGF-I é removido no hipotálamo/hipófise e as concentrações de GH se elevam. Altas concentrações de GH não só estimulam a produção de leite como também ativam a gliconeogênese hepática e a lipólise nos adipócitos. As altas concentrações séricas resultantes de AGNEs e GH antagonizam a ação da insulina e criam um estado mais intenso de resistência periférica à insulina (Lucy 2007; Pires et al. 2007). Desta forma, ainda mais glicose é preservada para estar disponível para a síntese de lactose.

Vacas mais gordas tendem a mobilizar mais gordura corporal devido ao apetite reduzido (Garnsworthy e Topps 1982). Se aceita amplamente que a seleção genética para produção de leite resulta em maior perda de ECC, comprovando que há mais direcionamento de energia para o úbere (Roche et al. 2006). Uma perda excessiva de ECC durante o período de transição é um importante fator predisponente para distúrbios de fertilidade e problemas de saúde (Roche et al. 2007), o que enfatiza a importância do monitoramento do ECC no período pós-parto imediato como ferramenta de manejo (Chagas et al. 2007).

Interações entre os Eixos Somatotrófico e Gonadotrófico

Extensas pesquisas científicas demonstraram que os mecanismos que regulam a distribuição de energia e nutrientes no sistema somatotrófico podem afetar o sistema reprodutivo em diferentes níveis do eixo hipotalâmico–pituitário–ovariano (Roche 2006; Chagas et al. 2007). No hipotálamo, as interações entre os sistemas gonadotrófico e somatotrófico podem ocorrer na área pré-óptica (Blache et al. 2006, 2007). Esta região produz os hormônios de liberação que controlam tanto a secreção de gonadotrofinas quanto de somatotrofinas (Kacsoh 2000). Além disso, desempenha um papel crítico na integração do apetite (Wynne et al. 2005), comportamento estral (Pfaff 2005) e a percepção do estado nutricional (Wade e Jones 2004). Consequentemente, as informações metabólicas no hipotálamo podem ter efeitos divergentes sobre os eixos gonadotrófico e somatotrófico, ou seja, o estímulo da produção de GH pode ser acompanhada pela inibição da secreção de GnRH (Zieba et al. 2005). Os hormônios/metabólitos que exercem função de sinalização são glicose e insulina. Baixos teores pós-parto de insulina e glicemia reduzida suprimem a secreção hipotalâmica de GnRH e posterior liberação de LH pela hipófise (Diskin et al. 2003; Ohkura et al. 2004). Ao ativar neurônios específicos no pró-encéfalo, peptídeos tais como o neuropeptídeo Y e catecolaminas são liberados, suprimindo o gerador hipotalâmico de pulsos de GnRH (Ichimaru et al. 2001; Diskin et al. 2003; Wade e Jones 2004). Outros sinais metabólicos podem envolver leptina e AGNEs, embora seu papel ainda não tenha sido esclarecido (Liefers et al. 2003; Wade e Jones 2004; Amstalden et al. 2005).

No ovário desenvolvimento folicular parece ser diretamente influenciado por alterações de níveis de insulina, IGF-I, leptina e AGNEs. Como a insulina estimula localmente o crescimento e a maturação folicular

e esteroidogênese, a redução das concentrações no período pós parto estão correlacionadas à disfunção ovariana (Gutierrez-Aguilar 1997; Landau et al. 2000; Armstrong et al. 2002a; Butler et al. 2004; Vanholder et al. 2005a; Kawashima et al. 2007). O tratamento de longo prazo com somatotropina bovina exógena claramente eleva o número de pequenos folículos (Bols et al. 1998). Gong (2002) demonstrou que os efeitos benéficos da insulina sobre a função ovariana são independentes das variações de liberação de GnRH/LH. Nas células ovarianas, as GLUT-1 e GLUT-3 insulina-independentes são os principais transportadores de glicose, enquanto a GLUT-4 insulina-dependente somente desempenha um papel de suporte (Nishimoto et al. 2006). Desta forma, a insulina pode exercer seus efeitos através de outros mecanismos que não a mediação da captação de glicose.

Além da insulina, o sistema IGF também desempenha papel importante no crescimento e desenvolvimento folicular ao atuar diretamente sobre as células ovarianas (Spicer e Echternkamp 1995; Gutierrez-Aguilar 1997; Beam e Butler 1999; Webb et al. 1999; Gong 2002). Consequentemente, baixos níveis circulantes de IGF-1 influenciam negativamente a retomada da atividade ovariana pós parto e parecem estar envolvidos no desenvolvimento de folículos ovarianos císticos (Beam e Butler 1997; Kawashima et al. 2007; Ortega et al. 2007). Os efeitos da leptina sobre a esteroidogênese e proliferação celular são dependentes das concentrações séricas de IGF-1, LH e insulina (Spicer e Francisco 1997, 1998; Spicer et al. 2000).

No ovário os AGNEs podem afetar o crescimento e desenvolvimento folicular ao atuarem diretamente sobre as células do folículo. A adição *in vitro* de AGNEs em concentrações medidas no fluido folicular (FF) durante o BEN (balanço energético negativo) tem efeitos negativos sobre a viabilidade e função de células foliculares (Leroy et al. 2005b; Vanholder et al. 2005b, 2006b).

Em conclusão, as alterações metabólicas induzidas pelo sistema somatotrófico para sustentar altos níveis de rendimento leiteiro também afetam o sistema reprodutivo. Ao atuar em diferentes níveis do eixo hipotalâmico–pituitário–ovariano, níveis alterados de hormônios e metabólitos exercem efeito negativo sobre o crescimento e desenvolvimento de folículos e provavelmente sobre a ovulação.

Consequências para a Qualidade do Ovócito

Os pesquisadores supõem a existência de um efeito residual (carry-over effect) das condições metabólicas adversas durante o crescimento de folículos primários no período pós parto imediato sobre a saúde do folículo préovulatório, 2–3 meses depois (Britt 1992). Tais folículos podem ser menos capazes de produzir níveis adequados de estrógenos e progesterona (depois da ovulação) e podem estar destinados a conter um ovócito de qualidade inferior (Britt 1992; Roth et al. 2001a). A capacidade de desenvolvimento do ovócito está intimamente ligada à fase de crescimento e à saúde do folículo em desenvolvimento (Bilodeau-Goeseels e Panich 2002; Sutton et al. 2003; Lequarre et al. 2005). Finalmente, a composição da dieta também pode alterar o microambiente endócrino e metabólico do ovócito em desenvolvimento (Boland et al. 2001; McEvoy et al. 2001; Kenny et al. 2002).

Um ambiente endócrino alterado, devido ou em consequência de BEN pode alterar a qualidade do ovócito através de uma série de mecanismos, tais como atraso do crescimento folicular e da retomada da progressão da meiose, todos já objeto de revisões anteriores detalhadas (Leroy et al. 2007). Somente poucos estudos examinaram os efeitos possíveis sobre a qualidade do ovócito das baixas concentrações de glicose ou da elevação dos níveis de β -hidroxibutirato (β -OHB) ou AGNEs associados ao BEN. Além dos efeitos indiretos da hipoglicemia nas vacas recém-paridas (através de um efeito sobre a secreção de LH ou responsividade ovariana às gonadotrofinas), as condições de hipoglicemia (como cetose clínica) se refletem no microambiente do ovócito préovulatório e podem comprometer sua capacidade de desenvolvimento, pois a glicose é uma molécula indispensável para uma maturação adequada do ovócito (Bilodeau-Goeseels 2006; consultar revisão de Sutton et al. 2003; Leroy et al. 2004, 2006). Kruip e Kemp (1999) sugeriram possíveis

efeitos tóxicos diretos de altos níveis de AGNEs no ovário. Em um modelo da maturação in vitro, ácidos graxos de cadeia longa saturados reduziram as taxas de maturação, fertilização, clivagem e formação de blastocistos. Apoptose ou mesmo necrose das células do cúmulo ocorridas durante a maturação poderiam explicar estes efeitos (Leroy et al. 2005b). Finalmente, concentrações elevadas de amônia e uréia no FF, decorrentes de uma dieta desequilibrada e catabolismo de proteínas também se mostraram tóxicas para o ovócito (Sinclair et al. 2000; De Wit et al. 2001; Leroy et al. 2004).

Fase Inicial da Gestação em Vacas Leiteiras de Alta Produção: Qualidade do Embrião

A mortalidade embrionária precoce é a principal causa de falha reprodutiva em vacas de leite, representando até 80% das perdas totais de gestação (Santos et al. 2004a). Existem quatro principais fatores que afetam a qualidade do embrião no caso específico de vacas leiteiras de alta produção: qualidade dos gametas, qualidade do corpo lúteo combinada à concentração de progesterona circulante, involução uterina e nutrição. Entretanto, somente discutiremos os fatores relacionados ao BEN.

Condições pré-ovulatórias adversas, como BEN, podem ter efeitos residuais (carry-over effects) sobre o metabolismo e viabilidade embrionária, resultando em mortalidade precoce (Yaakub et al. 1999; Lozano et al. 2003; Rhoads et al. 2006). Pode ser bastante difícil separar os efeitos do ovócito das influências pós-fertilização sobre a qualidade do embrião. Somente embriões de pelo menos 6 dias de idade podem ser transferidos para receptoras para avaliar o impacto do ambiente uterino sobre a qualidade do embrião. Lucy (2007) defende a idéia de que a fertilidade pode ser melhorada em vacas leiteiras através da transferência de embriões, evitando assim os efeitos do período do ovócito e desenvolvimento embrionário precoce.

Concentrações bem sincronizadas e balanceadas de progesterona são vitais para a viabilidade do zigoto imediatamente após a fertilização, uma vez que a progesterona modula as secreções endometriais, otimizando a receptividade uterina (McEvoy et al. 1995). Já foi levantada a hipótese de que os resultados decepcionantes em termos de taxas de concepção e prenhez em vacas leiteiras modernas são parcialmente decorrentes do atraso para a elevação dos níveis de progesterona e concentrações subótimas de progesterona durante a fase lútea (Mann e Lamming 2001). Além disso, o típico BEN observado no período pós-parto imediato pode reduzir o número de ciclos estrais ovulatórios que antecedem a IA, impedindo que ocorra uma preparação adequada do útero (Butler 2003). Villa-Godoy et al. (1988) demonstraram que vacas em BEN pós-parto apresentavam concentrações mais baixas de progesterona durante os três primeiros ciclos após a parição. Apesar de maiores volumes de tecido luteal que em novilhas não lactantes, os níveis máximos de progesterona em vacas em lactação são inferiores, possivelmente devido a maior taxa de degradação hepática do hormônio (Sangsritavong et al. 2002; Sartori et al. 2004; Wiltbank et al. 2006).

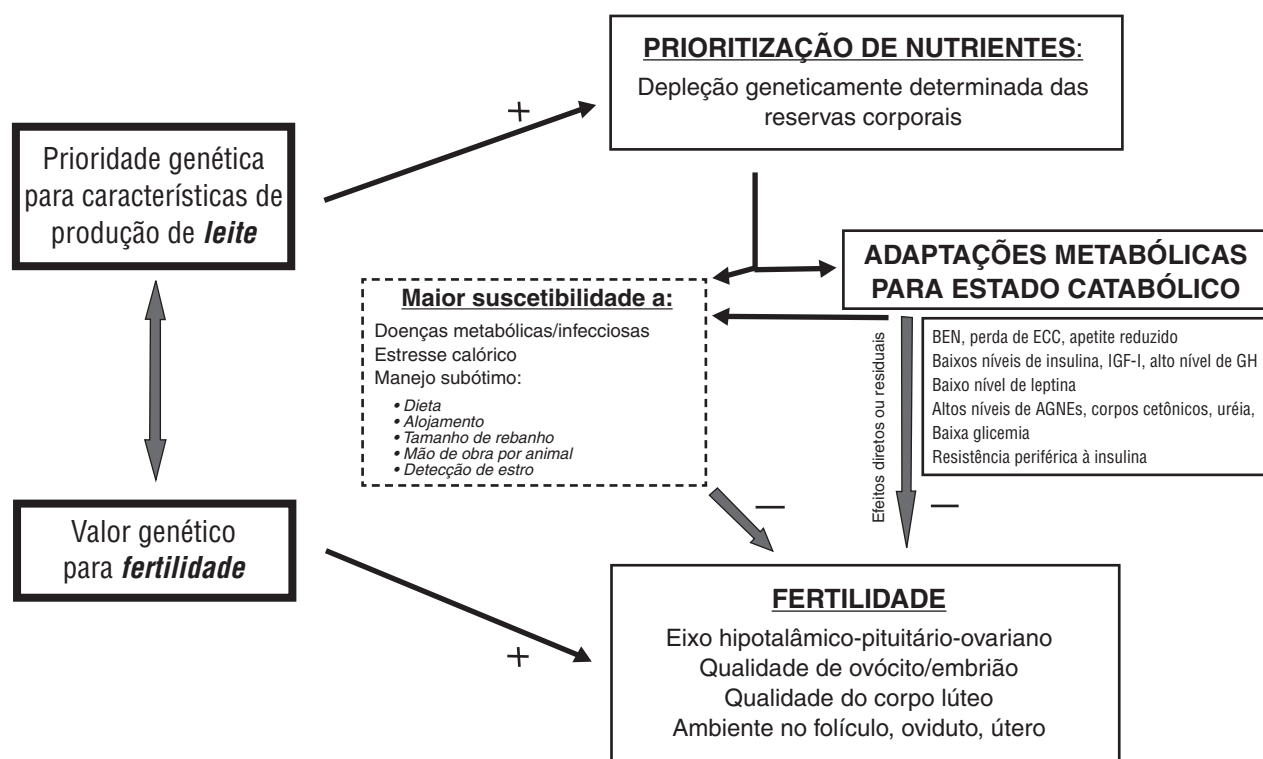
A boa involução uterina pós-parto, com reparo do endométrio e esvaziamento de conteúdos contaminados por bactérias, é de fundamental importância para o desempenho reprodutivo (para revisão, ver Roche et al. 2006). Devido aos efeitos na supressão da resposta imunológica, BEN pode retardar dramaticamente este processo, comprometendo a fertilidade futura (Wathes et al. 2007).

Além do interesse nas consequências do BEN e desequilíbrios endócrinos e metabólicos associados, o foco também está sendo direcionado para o efeito das dietas que promovem alto rendimento leiteiro, ricas em energia e proteína (consultar revisão de Leroy et al. 2007). Estes estudos nos indicam que condições nutricionais ideais para crescimento folicular e ovulação não são compatíveis com a sobrevivência embrionária e manutenção da prenhez (O'Callaghan e Boland 1999).

Finalmente, o estresse calórico pode levar à redução no consumo de matéria seca, prolongando o período em BEN, reduzindo as concentrações plasmáticas de insulina, glicose e IGF-I e promovendo a manutenção de altas concentrações de GH e AGNEs (Drew 1999; Butler 2001). Além disso, existe o efeito direto do estresse calórico sobre os níveis plasmáticos de FSH (elevação) e estradiol (redução) (Wolfenson et al. 1997;

Wilson et al. 1998). O resultado é fraca expressão de estro e seleção tardia do folículo, o que potencialmente afeta negativamente a qualidade do ovócito (Roth et al. 2001a,b). Além disso, o estresse calórico pode elevar a temperatura uterina ao reduzir a irrigação sanguínea do útero. Estas alterações inibem o desenvolvimento embrionário (Rivera e Hansen 2001), promovem maior perda embrionária precoce e reduzem a porcentagem de inseminações bem sucedidas (Garcia-Ispuerto et al. 2007). O impacto do efeito do calor é reduzido à medida que o embrião se desenvolve (Paula-Lopes et al. 2003).

Figura 1. Interação entre seleção genética para produção de leite e fertilidade. A combinação das variações endócrinas e metabólicas para dar suporte à produção de leite com maior suscetibilidade ao estresse calórico, doenças e condições sub-ótimas de manejo tem efeito negativo sobre o desempenho reprodutivo da vaca leiteira de alta produção.



ALGUMAS DICAS PARA A MODIFICAÇÃO DO EIXO SOMATOTRÓFICO PARA A OBTENÇÃO DE RESULTADOS ACEITÁVEIS DE FERTILIDADE

Atacar o problema multifatorial da subfertilidade em vacas leiteiras é um enorme desafio, uma vez que as alterações 'no eixo somatotrófico' acima descritas não são os únicos fatores para o declínio da fertilidade. Fatores de manejo, tipos de sistemas de produção, maior suscetibilidade a doenças, aumento do número de animais nos rebanhos leiteiros e baixa disponibilidade de mão de obra interferem com a capacidade de procriação da vaca leiteira (Mallard et al. 1998). Todos estes fatores devem ser cuidadosamente considerados quando se estabelece um plano de manejo, mas estão além do escopo deste trabalho.

Os distúrbios metabólicos (hipocalcemia, cetose e acidose) e doenças infecciosas durante o puerpério são fatores de risco que podem afetar a eficiência do desempenho reprodutivo (Grohn e Rajala-Schultz 2000; Santos et al. 2004b). Bom manejo de parição e cuidadosa observação do estado de saúde da vaca na fase de pós-parto imediato são vitais para evitar reduções muito drásticas do apetite do animal. Determinações precisas e repetidas do ECC para estimar a variação nas reservas corporais são fundamentais. Para minimizar as variações de ECC e evitar a 'exaustão das reservas de energia' logo após o parto é necessária uma estratégia

nutricional ideal, com redução do consumo de energia durante as primeiras semanas do período seco seguida de maior fornecimento de energia (carboidratos) logo antes do parto (consultar revisão de Overton e Waldron 2004). Entretanto, ainda há discussão quanto ao real benefício obtido com a energia adicional préparto sobre o balanço energético pósparto (Grummer 2007). Além disso, modulação adequada da energia da dieta durante o período pósparto imediato parece uma abordagem promissora, embora difícil (Grummer 2007). Van Kneegsel et al. (2007a) compararam os efeitos de uma dieta isocalórica e isonitrogenada, uma dieta basicamente glicogênica (amido by-pass) ou uma dieta basicamente lipogênica (polpa de beterraba, MEGALAC e óleo de palma) e demonstraram que a dieta glicogênica (ou 'insulinogênica') estimula o direcionamento de energia principalmente para as reservas corporais em fase inicial de lactação. As vacas alimentadas com a dieta glicogênica apresentaram menor BEN e menor mobilização de gordura corporal, que resultou em depressão dos teores de gordura do leite e menor direcionamento de energia para o leite (Van Kneegsel et al. 2007a). Em um estudo complementar (Van Kneegsel et al. 2007b), vacas multíparas alimentadas com a dieta glicogênica também apresentaram concentrações plasmáticas de insulina mais elevadas e tenderam a retomar mais precocemente a atividade ovariana ($20,4 \pm 2,1$ dias) se comparadas a vacas alimentadas com a dieta mais lipogênica ($26,1 \pm 2,1$ dias).

Acredita-se que alterações de manejo tem grande probabilidade de ter efeito positivo sobre o balanço energético. O encurtamento ou mesmo eliminação do período seco melhora o consumo de material seco no periparto, reduz a produção de leite na fase inicial da lactação, melhora o balanço energético e reduz o número de dias pósparto até a retomada da atividade ovariana (Gumen et al. 2005; Rastani et al. 2005).

Além disso, mais atenção tem sido dada ao teor de ácidos graxos na dieta e à composição da suplementação de gorduras by-pass durante o período pósparto imediato. Não quanto ao efeito sobre o balanço energético em si, mas à melhora da secreção de esteróides e alteração do perfil de ácidos graxos (mais ácidos graxos ω -3 poliinsaturados), resultando em modificação do metabolismo de prostaglandinas (Thatcher et al. 2006). A supressão da síntese da gordura do leite através da suplementação de ácidos linolênicos conjugados protegidos da ação ruminal (trans-10, cis-12) já foi sugerida como meio de restringir a perda de energia através do leite (Castaneda-Gutierrez et al. 2005). Ainda assim, apesar de vários artigos recentes bastante interessantes, os resultados sobre o balanço de energia e fertilidade são contraditórios. Overton e Waldron (2004) redigiram uma descrição extensa e clara das estratégias nutricionais para o suporte das demandas metabólicas durante o período de transição e estão além do escopo do presente artigo.

Finalmente, os programas de seleção genética de vacas leiteiras sempre enfatizaram as características de produção de leite via mobilização das reservas corporais. Esta perda de ECC não só depende da massa disponível de tecido adiposo, como também de ponto geneticamente determinado de ECC. Este ponto está correlacionado com o resultado reprodutivo (Lucy 2007). Desta forma, os critérios de seleção genética deveriam também incluir variáveis referentes às variações de ECC após o parto, além das características de fertilidade (Royal et al. 2000).

CONCLUSÕES

Em vacas leiteiras de alta produção, a intensa seleção para produção de leite resultou em prioridade de direcionamento de energia para o leite, em detrimento das reservas corporais, resultando em BEN prolongado e acentuado e piora do desempenho reprodutivo. Desta forma, produção de leite e desempenho reprodutivo tem interesses conflitantes em vacas leiteiras de alta produção. Metabólitos e hormônios metabólicos associados ao direcionamento prioritário de energia para a produção de leite (AGNEs, insulina, glicose, IGF-1, β -OH) influenciam a fertilidade, tanto indiretamente através da modulação do eixo somatotrófico/gonadotrófico, assim como diretamente no ovário, folículo ou ambiente uterino. Os distúrbios da fertilidade pósparto

podem ser evitados através de acompanhamento cuidadoso no período periparto para o monitoramento do estado de saúde da vaca e a perda de ECC e tratamento direto de distúrbios (infecciosos ou metabólicos) em início de lactação. Além disso, uma série de novas e promissoras estratégias nutricionais, de manejo e de seleção genética foi proposta, que tem o potencial de desviar o foco do eixo somatotrófico que prioriza o direcionamento de energia para o leite para o eixo somatotrófico, que prioriza as reservas corporais para melhorar a fertilidade. As pesquisas nesta área ainda são limitadas e devem explorar tais estratégias, comparando seus benefícios ou até mesmo combinando duas ou mais estratégias, o que seria essencial para a melhora da sanidade e bem estar da moderna vaca leiteira.

REFERÊNCIAS

- Amstalden M, Harms PG, Welsh TH Jr, Randel RD, Williams GL, 2005: Effects of leptin on gonadotropin-releasing hormone release from hypothalamic-infundibular explants and gonadotropin release from adenohypophyseal primary cell cultures: further evidence that fully nourished cattle are resistant to leptin. *Anim Reprod Sci* 85, 41–52.
- Armstrong DG, Baxter G, Hogg CO, Woad KJ, 2002a: Insulin-like growth factor (IGF) system in the oocyte and somatic cells of bovine preantral follicles. *Reproduction* 123, 789–797.
- Beam SW, Butler WR, 1997: Energy balance and ovarian follicle development prior to first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol Reprod* 56, 133–142.
- Beam SW, Butler WR, 1999: Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J Reprod Fertil Suppl* 54, 411–424.
- Bilodeau-Goeseels S, 2006: Effect of culture media and energy sources on the inhibition of nuclear maturation in bovine oocytes. *Theriogenology* 66, 297–306.
- Bilodeau-Goeseels S, Kastelic JP, 2003: Factors affecting embryo survival and strategies to reduce embryonic mortality in cattle. *Can J Anim Sci* 83, 659–671.
- Bilodeau-Goeseels S, Panich P, 2002: Effects of quality on development and transcriptional activity in early bovine embryos. *Anim Reprod Sci* 71, 143–155.
- Blache D, Zhang S, Martin GB, 2006: Dynamic and integrative aspects of the regulation of reproduction by metabolic status in male sheep. *Reprod Nutr Dev* 46, 379–390.
- Blache D, Chagas LM, Martin GB, 2007: Nutritional inputs into the reproductive neuroendocrine control system – a multidimensional perspective. *Reproduction, Supplement* 64, 124–139.
- Boland MP, Lonergan P, O’Callaghan D, 2001: Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology* 55, 1323–1340.
- Bols PEJ, Ysebaert MT, Lein A, Coryn M, Van Soom A, de Kruif A, 1998: Effects of long-term treatment with bovine somatotropin on follicular dynamics and subsequent oocyte and blastocyst yield in an OPU-IVF program. *Theriogenology* 49, 983–995.
- Bossaert P, Leroy JLMR, Cools S, Opsomer G, 2007: Impact of metabolic and endocrine parameters on ovulation in highyielding dairy cows (abstract). *Reprod Domest Anim* 42, 118.
- Bousquet D, Bouchard E, Du Tremblay D, 2004: Decreasing fertility in dairy cows: myth or reality? *Le Médecin Vétérinaire* 34, 59–61.
- Britt JH, 1992: Impacts of early postpartum metabolism on follicular development and fertility. *Proc Annu*

- Convention Am Assoc Bovine Pract 24, 39–43.
- Butler WR, 2001: Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. *Anim Sci Occas Publ* 26, 133–145.
- Butler WR, 2003: Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in pp dairy cows. *Livestock Prod Sci* 83, 211–218.
- Butler ST, Marr AL, Pelton SH, Radcliff RP, Lucy MC, Butler WR, 2003: Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. *J Endocrinol* 176, 205–217.
- Butler ST, Pelton SH, Butler WR, 2004: Insulin increases 17 β estradiol production by the dominant follicle of the first postpartum follicle wave in dairy cows. *Reproduction* 127, 537–545.
- Castaneda-Gutierrez E, Overton TR, Butler WR, Bauman DE, 2005: Dietary supplements of two doses of calcium salts of conjugated linoleic acid during the transition period and early lactation. *J Dairy Sci* 88, 1078–1089.
- Chagas LM, Bass JJ, Blache D, Burke CR, Kay JK, Lindsay DR, Lucy MC, Martin GB, Meier S, Rhodes FM, Roche JR, Thatcher WW, Webb R, 2007: New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *J Dairy Sci* 90, 4022–4032.
- Cnop M, Hannaert JC, Hoorens A, Eizirik DL, Pipeleers DG, 2001: Inverse relationship between cytotoxicity of free fatty acids in pancreatic islet cells and cellular triglyceride accumulation. *Diabetes* 50, 1771–1777.
- Coffey MP, Simm G, Oldham JD, Hill WG, Brotherstone S, 2004: Genotype and diet effects on energy balance in the first three lactations of dairy cows. *J Dairy Sci* 87, 4318–4326.
- De Wit AAC, Cesar MLF, Kruip TAM, 2001: Effect of urea during in vitro maturation on nuclear maturation and embryo development of bovine cumulus-oocyte-complexes. *J Dairy Sci* 84, 1800–1804.
- Diskin MG, Mackey DR, Roche JF, Sreenan JM, 2003: Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci* 78, 345–370.
- Drew B, 1999: Practical nutrition and management of heifers and high yielding dairy cows for optimal fertility. *Cattle Pract* 7, 243–248.
- Dunne LD, Diskin MG, Boland MP, O'Farrell KJ, Sreenan JM, 1999: The effect of pre- and post-insemination plane of nutrition on embryo survival in beef heifers. *Anim Sci* 69, 411–417.
- Garcia-Ispuerto I, Lopez-Gatius F, Bech-Sabat G, Santolaria P, Yaniz JL, Nogareda C, De Rensis F, Lopez-Bejar M, 2007: Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in north-eastern Spain. *Theriogenology* 67, 1379–1385.
- Garnsworthy PC, Topps JH, 1982: The effect of body condition score at calving on their food intake and performance when given complete diets. *Anim Prod* 35, 113–119.
- Gong JG, 2002: Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. *Domest Anim Endocrinol* 23, 229–241.
- Grohn YT, Rajala-Schultz PJ, 2000: Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 60, 605–614.
- Grummer RR, 2007: Strategies to improve fertility of high yielding dairy farms: management of the dry period. *Theriogenology* 68, S281–S288.

- Gumen A, Rastani RR, Grummer RR, Wiltbank MC, 2005: Reduced dry periods and varying prepartum diets alter postpartum ovulation and reproductive measures. *J Dairy Sci* 88, 2401–2411.
- Gutierrez-Aguilar CG, 1997: The effect of nutrition and metabolic hormones on follicular development in cattle. PhD Dissertation, University of Edinburgh, pp. 146–166.
- Herdt TH, 2000: Ruminant adaptation to negative energy balance. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 16, 215–230.
- Huirne RBM, Saatkamp HW, Bergevoet RHM, 2002: Economic analysis of common health problems in dairy cattle.
- In: Kaske M, Scholz H, Ho" ltershinken M(eds), Twelfth World Buiatrics Congress, Hannover, Germany, 18–23 August 2002, pp. 420–431.
- Ichimaru T, Mori Y, Okamura H, 2001: A possible role of neuropeptide Y as a mediator of undernutrition to the hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse generator in goats. *Endocrinology* 142, 2389–2498.
- Kacsoh B, 2000: *Endocrine Physiology*. McGraw Hill Book Co., New York, NY.
- Kawashima C, Fukihara S, Maeda M, Kaneko E, Montoya CA, Matsui M, Shimizu T, Matsunaga N, Kida K, Miyake Y, Schams D, Miyamoto A, 2007: Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows. *Reproduction* 133, 155–163.
- Kenny DA, Humpherson PG, Leese HJ, Morris DG, Tomos AD, Diskin MG, Sreenan JM, 2002: Effect of elevated systemic concentrations of ammonia and urea on the metabolite and ionic composition of oviductal fluid in cattle. *Biol Reprod* 66, 1797–1804.
- Kruip TAM, Kemp B, 1999: Voeding en vruchtbaarheid bij landbouwhuisdieren. *Tijdschr Diergeneesk* 124, 462–467.
- Landau S, Braw-Tal R, Kaim M, Bor A, Bruckental I, 2000: Preovulatory follicular status and diet affect the insulin and glucose content of follicles in high-yielding dairy cows. *Anim Reprod Sci* 64, 181–197.
- Lequarre AS, Vigneron C, Ribaucour F, Holm P, Donnay I, Dalbies-Tran R, Callesen H, Mermillod P, 2005: Influence of antral follicle size on oocyte characteristics and embryo development in the bovine. *Theriogenology* 63, 841–859.
- Leroy JLMR, Vanholder T, Delange JR, Opsomer G, Van Soom A, Bols PEJ, Dewulf J, de Kruif A, 2004: Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in highyielding dairy cows early post partum. *Theriogenology* 62, 1131–1143.
- Leroy JLMR, Opsomer G, De Vlieghe S, Vanholder T, Goossens L, Geldhof A, Bols PEJ, de Kruif A, Van Soom A, 2005a: Comparison of embryo quality in high-yielding dairy cows, in dairy heifers and in beef cows. *Theriogenology* 64, 2022–2036.
- Leroy JLMR, Vanholder T, Mateusen B, Christophe A, Opsomer G, de Kruif A, Genicot G, Van Soom A, 2005b: Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro. *Reproduction* 130, 485–495.
- Leroy JLMR, Vanholder T, Opsomer G, Van Soom A, de Kruif A, 2006: The in vitro development of bovine oocytes after maturation in glucose and beta-hydroxybutyrate concentrations associated with negative energy balance in dairy cows. *Reprod Domest Anim* 41, 119–123.
- Leroy JLMR, Opsomer G, Van Soom A, Goovaerts IGF, Bols PEJ, 2007: Reduced fertility in high yielding

- dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part I: The importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high yielding dairy cows (review). *Reprod Domest Anim*, in press. DOI:10.1111/j.1439-0531.2007.00960.
- Liefers SC, Veerkamp RF, te Pas MFW, Delavaud C, Chilliard Y, van der Lende T, 2003: Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight and estrus in dairy cows. *J Dairy Sci* 86, 799–807.
- Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC, 2004: Relationship between level of milk production and oestrus behavior of lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 81, 209–223.
- Lozano JM, Lonergan P, Boland MP, O’Callaghan D, 2003: Influence of nutrition on the effectiveness of superovulation programmes in ewes: effect on oocyte quality and post-fertilization development. *Reproduction* 125, 543–553.
- Lucy MC, 2001: Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci* 84, 1277–1293.
- Lucy MC, 2003: Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reprod Suppl.* 61, 415–427.
- Lucy MC, 2007: Fertility in high-producing dairy cows: reasons for decline and corrective strategies for sustainable improvement. *Reprod Suppl.* 64, 237–254.
- Maedler K, Spinas GA, Dyntar D, Moritz W, Kaiser N, Donath MY, 2001: Distinct effects of saturated and mono-unsaturated fatty acids on beta-cell turnover and function. *Diabetes* 50, 69–76.
- Mallard BA, Dekkers JC, Ireland MJ, Leslie KE, Sharif S, Vankampen CL, Wagter L, Wilkie BN, 1998: Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. *J Dairy Sci* 81, 585–595.
- Mann GE, Lamming GE, 2001: Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 121, 175–180.
- McEvoy TG, Robinson JJ, Aitken RP, Findlay PA, Palmer RM, Robertson IS, 1995: Dietary-induced suppression of pre-ovulatory progesterone concentrations in superovulated ewes impairs the subsequent in vivo and in vitro development of their ova. *Anim Reprod Sci* 39, 89–107.
- McEvoy TG, Robinson JJ, Ashworth CJ, Rooke JA, Sinclair KD, 2001: Feed and forage toxicants affecting embryo survival and fetal development. *Theriogenology* 55, 113–129.
- Nishimoto H, Matsutani R, Yamamoto S, Takahashi T, Hayashi KG, Miyamoto A, Hamano S, Tetsuka M, 2006: Gene expression of glucose transporter (GLUT) 1, 3 and 4 in bovine follicle and corpus luteum. *J Endocrinol* 188, 111–119.
- O’Callaghan D, Boland MP, 1999: Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. *Anim Sci* 68, 299–314.
- Ohkura S, Ichimaru T, Itoh F, Matsuyama S, Okamura H, 2004: Further evidence for the role of glucose as a metabolic regulator of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in goats. *Endocrinology* 145, 3239–3246.
- Opsomer G, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A, 1998: An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reprod Domest Anim* 33, 193–204.
- Ortega HH, Palomar MM, Acosta JC, Salvetti NR, Dallard BE, Lorente JA, Barbeito CG, Gimeno EJ, 2008: Insulinlike growth factor I in sera, ovarian follicles and follicular fluid of cows with spontaneous

- or induced cystic ovarian disease. *Res Vet Sci* 84, 419–427.
- Overton TR, Waldron MR, 2004: Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. *J Dairy Sci* 87, E105–E119.
- Patton J, Kenny DA, Mee JF, O'Mara FP, Wathes DC, Cook M, Murphy JJ, 2006: Effect of milking frequency and diet on milk production, energy balance and reproduction in dairy cows. *J Dairy Sci* 89, 1478–1487.
- Paula-Lopes FF, Al-Katanani YM, Majewski AC, McDowell LR, Hansen PJ, 2003: Manipulation of antioxidant status fails to improve fertility of lactating cows or survival of heatshocked embryos. *J Dairy Sci* 86, 2343–2351.
- Pfaff D, 2005: Hormone-driven mechanisms in the central nervous system facilitate the analysis of mammalian behaviours. *J Endocrinol* 184, 447–453.
- Pires JAA, Souza AH, Grummer RR, 2007: Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of Tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. *J Dairy Sci* 90, 2735–2744.
- Rastani RR, Grummer RR, Bertics SJ, Gumen A, Wiltbank MC, Mashek DG, Schwab MC, 2005: Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: milk production, energy balance, and metabolic profiles. *J Dairy Sci* 88, 1004–1014.
- Rhoads ML, Rhoads RP, Gilbert RO, Toole R, Butler WR, 2006: Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 91, 1–10.
- Rivera RM, Hansen PJ, 2001: Development of cultured bovine embryos after exposure to high temperatures in the physiological range. *Reproduction* 121, 107–115.
- Roche JF, 2006: The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci* 96, 282–296.
- Roche JR, Berry DP, Kolver ES, 2006: Holstein-Friesian strains and feed effects on milk production, bodyweight and body condition score profiles in grazing dairy cows. *J Dairy Sci* 89, 3532–3543.
- Roche JR, Macdonald KA, Burke CR, Lee JM, Berry DP, 2007: Associations among body condition score, body weight and reproductive performance in seasonal-calving dairy cattle. *J Dairy Sci* 90, 376–391.
- Roth Z, Mewaldan R, Shaham-Albalancy A, Braw-Tal R, Wolfenson D, 2001a: Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-size and preovulatory bovine follicles. *Reproduction* 121, 745–751.
- Roth Z, Arav A, Bor A, Zeron Y, Braw-Tal R, Wolfenson D, 2001b: Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows. *Reproduction* 122, 737–744.
- Royal M, Mann GE, Flint APF, 2000: Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *Vet J* 160, 53–60.
- Sangsrivong S, Combs DK, Sartori R, Armentano LE, Wiltbank MC, 2002: High feed intake increase liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17b in dairy cattle. *J Dairy Sci* 85, 2831–2842.
- Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvao KN, 2004a: The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim Reprod Sci* 82/83, 513–535.
- Santos JE, Cerri RL, Ballou MA, Higginbotham GE, Kirk JH, 2004b: Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Anim Reprod Sci* 80, 31–45.

- Sartori R, Sartor-Bergfelt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ, Wiltbank MC, 2002: Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J Dairy Sci* 85, 2803–2812.
- Sartori R, Haughian JM, Shaver RD, Rosa GJM, Wiltbank MC, 2004: Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J Dairy Sci* 87, 905–920.
- Silvia WJ, 2003: Addressing the decline in reproductive performance of lactating dairy cows: a researcher's perspective. *Vet Sci Tomorrow* 3, 1–5.
- Sinclair KD, Kuran M, Gebbie FE, Webb R, McEvoy TG, 2000: Nitrogen metabolism and fertility in cattle: II. Development of oocytes recovered from heifers offered diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen. *J Anim Sci* 78, 2670–2680.
- Snijders SE, Dillon P, O'Callaghan D, Boland MP, 2000: Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. *Theriogenology* 53, 981–989.
- Spicer LJ, Echternkamp SE, 1995: The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domest Anim Endocrinol* 12, 223–245.
- Spicer LJ, Francisco CC, 1997: The adipose obese gene product, leptin: evidence of a direct inhibitory role in ovarian function. *Endocrinology* 138, 3374–3379.
- Spicer LJ, Francisco CC, 1998: Adipose obese gene product, leptin, inhibits bovine ovarian thecal cell steroidogenesis. *Biol Reprod* 58, 207–212.
- Spicer LJ, Chamberlain CS, Francisco CC, 2000: Ovarian action of leptin: effects on insulin-like growth factor-I-stimulated function of granulosa and thecal cells. *Endocr* 12, 53–59.
- Sutton ML, Gilchrist RB, Thompson JG, 2003: Effects of in vivo and in vitro environments on the metabolism of the cumulus-oocyte complex and its influence on oocyte developmental capacity. *Hum Reprod Update* 9, 35–48.
- Tamminga S, Luteijn PA, Meijer RGM, 1997: Changes in composition and energy content of liveweight loss in dairy cows with time after parturition. *Livestock Prod Sci* 52, 129–155.
- Thatcher WW, Bilby TR, Bartolome JA, Silvestre F, Staples CR, Santos JEP, 2006: Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. *Theriogenology* 65, 30–44.
- Van Knegsel ATM, Van den Brand H, Dijkstra J, van Straalen WM, Heetkamp MJW, Tamminga S, Kemp B, 2007a: Dietary energy source in dairy cows in early lactation: energy partitioning and milk composition. *J Dairy Sci* 90, 1467–1476.
- Van Knegsel ATM, Van den Brand H, Dijkstra J, van Straalen WM, Jorritsma R, Tamminga S, Kemp B, 2007b: Effect of glucogenic vs. lipogenic diets on energy balance, blood metabolites, and reproduction in primiparous and multiparous dairy cows in early lactation. *J Dairy Sci* 90, 3397–3409.
- Vanholder T, Leroy JLMR, Dewulf J, Duchateau L, Coryn M, de Kruif A, 2005a: Hormonal and metabolic profiles of high-yielding dairy cows prior to ovarian cyst formation or first ovulation post partum. *Reprod Domest Anim* 40, 460–469.
- Vanholder T, Leroy JLMR, Van Soom A, Opsomer G, Maes D, Coryn M, de Kruif A, 2005b: Effect of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cell steroidogenesis and proliferation in vitro. *Anim Reprod Sci* 87, 33–44.
- Vanholder T, Opsomer G, de Kruif A, 2006a: Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *Reprod Nutr Dev* 46, 105–119.

- Vanholder T, Leroy JLMR, Van Soom A, Maes D, Coryn M, Fiers T, de Kruif A, Opsomer G, 2006b: Effect of nonesterified fatty acids on bovine theca cell steroidogenesis and proliferation in vitro. *Anim Reprod Sci* 92, 51–63.
- Vernon RG, 2002: Nutrient partitioning, lipid metabolism and relevant imbalances. *Proceedings of the 12th World Buiatrics Congress, Hannover, Germany, 18–23 August, 2002.*
- Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT, Fogwell RL, 1988: Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 71, 1063–1072. de Vries MJ, Veerkamp RF, 2000: Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *J Dairy Sci* 83, 62–69.
- Wade GN, Jones JE, 2004: Neuroendocrinology of nutritional infertility. *Am J Physiol. Regul, Integrative Comp Physiol* 287, 1277–1296.
- Wathes DC, Fenwick M, Cheng Z, Bourne N, Llewellyn S, Morris DG, Kenny D, Murphy J, Fitzpatrick R, 2007: Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. *Theriogenology* 68, S232–S241.
- Webb R, Garnsworthy PC, Gong JG, Robinson RS, Wathes DC, 1999: Consequences for reproductive function of metabolic adaptation to load. *Anim Sci Occasion Publ* 24, 99–112.
- Wilson SJ, Marion RS, Spain JN, Spiers DE, Keisler DH, Lucy MC, 1998: Effect of controlled heat stress on ovarian function in dairy cattle: I. Lactating cows. *J Dairy Sci* 1, 2124–2131.
- Wiltbank MC, Sartori R, Sangsritavong S, Lopez H, Haughian JM, Fricke PM, Gumen A, 2001: Novel effects of nutrition on reproduction in lactating dairy cows. *J Dairy Sci Suppl* 84, 32 (abstract).
- Wiltbank M, Lopez H, Sartori R, Sangsritavong S, Gu'men A, 2006: Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 65, 17–29.
- Wolfenson D, Lew BJ, Thatcher WW, Graber Y, Meidan R, 1997: Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cow. *Anim Reprod Sci* 47, 9–19.
- Wynne K, Stanley S, McGowan B, Bloom S, 2005: Appetite control. *J Endocrinol* 184, 291–318.
- Yaakub H, O'Callaghan D, Boland MP, 1999: Effect of roughage type and concentrate supplementation on follicle numbers and in vitro fertilisation on follicle numbers and in vitro fertilisation and development of oocytes recovered from beef heifers. *Anim Reprod Sci* 44, 1–12.
- Zhao F, Dixon WT, Kennelly JJ, 1996: Localization and gene expression of glucose transporters in bovine mammary gland. *Comprehens Biochem Physiol* 115, 127–134.
- Zieba DA, Amstalden M, Williams GL, 2005: Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: a comparative review. *Domest Anim Endocrinol* 29, 166–185. Author's address (for correspondence): J Leroy, Laboratory for Veterinary Physiology, Department of Veterinary Sciences, Faculty of Pharmaceutical, Biomedical and Veterinary Sciences, University of Antwerp, Universiteitsplein 1, Gebouw U, B-2610 Wilrijk, Belgium.

E-mail: jo.leroy@ua.ac.be

Conflict of interests: All authors declare no conflict of interests.

Nutrient Prioritization and Fertility in Dairy Cows 103 2008