

## **EFEITO DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO NA FERTILIDADE: DEPENDÊNCIA DE VARIAÇÕES SAZONAIS, DOSAGEM E FASE DA LACTAÇÃO**

Todd R. Bilby<sup>1</sup>, Ph.D., William W. Thatcher<sup>2</sup>, Ph.D., e Peter J. Hansen<sup>2</sup>, Ph.D.

<sup>1</sup>Texas A&M AgriLife Extension and Research Center, Texas A&M System, Stephenville, TX, 76401

<sup>2</sup>Department of Animal Sciences, University of Florida, Gainesville 32611

### **INTRODUÇÃO**

A partir do início da década de 1980 os avanços na Biotecnologia, como a tecnologia do DNA recombinante, permitiram a produção de hormônio de crescimento (GH) recombinante, também conhecido como somatotropina bovina (bST) recombinante. O primeiro estudo em 1982 demonstrou que a aplicação de bST resultava em aumento na produção de leite em vacas leiteiras (Bauman et al., 1982). Em 1994, a bST começou a ser comercializada para uso em vacas leiteiras e foi associada a uma fórmula de liberação lenta que permitiu que as aplicações de bST (Posilac 500 mg, Monsanto Co., St. Louis, Missouri) pudessem ser administradas a cada duas semanas a partir do dia 60 da lactação, aproximadamente.

As aplicações de bST em vacas leiteiras aumentam a produção de leite de 7 a 41% acima dos controles não tratados (Burton et al., 1990; Stanisiewski et al., 1992; Downer et al., 1993), embora a resposta mais comum seja um aumento de 10 a 15%; os maiores aumentos são observados quando o manejo e o cuidado com os animais são ideais (Bauman, 1992; Chilliard, 1989).

A bST estimula a produção do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) e do GH endógeno. Provavelmente o aumento na produção de leite ocorre em resposta a essa elevação nas concentrações de IGF-I no sangue. Alguns efeitos importantes mediados pelo IGF-I são aumento na proliferação celular (Rechler and Nissley, 1990) e potente inibição da apoptose (Peruzzi et al., 1999) por vias endócrina, parácrina e autócrina.

Dados os efeitos da bST e do IGF-I sobre a função celular, conduziram-se ao longo das duas últimas décadas inúmeros estudos sobre os efeitos do IGF-I na função reprodutiva. Mais importante, os estudos pesquisaram maneiras de usar a bST para melhorar a produção de leite e evitar efeitos negativos sobre a reprodução.

#### ***Efeitos da bST sobre a Manifestação do Cio***

Estudos anteriores avaliando os efeitos da bST sobre a reprodução relataram a presença de efeitos negativos, onde vacas em lactação tratadas com bST apresentavam redução nas taxas de concepção (Downer et al., 1993), redução nas taxas de prenhez (Cole et al., 1991; Esteban et al., 1994), aumento na incidência de ovários císticos, aumento no número de dias até a primeira inseminação (Esteban et al., 1994), aumento no número de dias em anestro (Waterman et al., 1993; Esteban et al., 1994) e aumento no número de serviços por concepção (Cole et al., 1991). Em outros estudos não se observou efeito da bST sobre o número de dias em aberto (Zhao et al., 1992), comprimento do ciclo estral (Gong et al., 1991) ou número de serviços por concepção (Zhao et al., 1992; Downer et al., 1993; Esteban et al., 1994).

Uma possível explicação para a redução no desempenho reprodutivo observada em alguns estudos é a inibição do comportamento de estro nas vacas tratadas com bST. Foi observada uma redução na detecção de cio de vacas em lactação tratadas com bST (Morbeck et al., 1991; Waterman et al., 1993). Cole et al. (1992)

relatarem aumento no intervalo entre o primeiro estro e a primeira inseminação e atribuíram esse efeito à redução na manifestação de cio. Essa redução na manifestação de estro foi associada a aumento no balanço energético negativo. O tratamento com bST também reduziu a manifestação de cio em novilhas leiteiras ovariectomizadas e recebendo esteróides (Lefebvre and Block, 1992). Concluiu-se que a bST influencia os centros de comportamento no cérebro que controlam a manifestação de cio. Santos et al. (2004) também observaram redução na detecção de estro de vacas tratadas com bST 7 dias antes do início da observação de cio, o que não foi tempo suficiente para que a produção de leite aumentasse de maneira significativa comparada com os controles. Kirby et al. (1997) detectaram redução na manifestação de cio e aumento na porcentagem de ovulações não detectadas. Nem as concentrações de progesterona nem de estradiol foram afetadas pelo tratamento com bST.

Com base nesses estudos se pode concluir que a bST reduz a manifestação de cio por aumentar a produção de leite; o que aumenta a renovação de esteróides ou possivelmente através de um efeito direto sobre os centros do comportamento no cérebro. Como a bST reduz a manifestação do estro, é importante quando do uso da bST descobrir maneiras de contornar esse problema para não afetar negativamente a reprodução.

### ***Efeitos da bST sobre as Taxas de Prenhez e Desenvolvimento Embrionário Precoce***

Com o surgimento da inseminação artificial a tempo fixo (IATF), os efeitos prejudiciais da bST sobre a reprodução podem ser contornados. Já que a bST reduz a manifestação do estro, o que contribui para o aumento nos dias em aberto, a eliminação da detecção de cio através da IATF ameniza esse problema. Quando vacas em lactação receberam uma aplicação de bST no início do protocolo Ovsynch, as taxas de prenhez foram superiores aos controles nos dias 27 e 45 após a IA (Moreira et al., 2000). Adicionalmente, quando cíclicas, as vacas em lactação que receberam uma aplicação de bST ou no início do programa Ovsynch ou junto com a IA apresentaram taxas de prenhez mais altas quando comparadas com os controles (53,2, 44,9, e 38,8%, respectivamente; Moreira et al., 2001). Como a aplicação da bST na inseminação em um protocolo Ovsynch foi eficiente em melhorar a fertilidade, é provável que ela estimule o desenvolvimento e a sobrevivência do embrião de vacas em lactação. Além disso, as taxas de prenhez aumentaram e as perdas embrionárias diminuíram em vacas que receberam bST no mesmo dia da administração de GnRH tanto no protocolo Ovsynch quanto no Selectsynch; independentemente de se as vacas haviam sido submetidas a IATF ou inseminadas após a observação do cio, respectivamente. (Santos et al., 2004). Em um estudo feito no México (Morales-Roura et al., 2001) com vacas submetidas a três ou mais IA sem sucesso houve melhora nas taxas de prenhez quando a bST foi administrada no estro e novamente 10 dias depois. Esses trabalhos ilustram a importância da bST e/ou do IGF-I para melhorar a fertilidade, possivelmente por melhorar a sobrevivência e manutenção do embrião.

Estudos anteriores relataram efeitos benéficos do GH e do IGF-I sobre os oócitos e sobre o desenvolvimento embrionário tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Izadyar et al. (1997) detectaram receptores de GH em células do cumulus e demonstraram maior maturação nos oócitos bovinos *in vitro* tratados com o hormônio. Adicionalmente, Izadyar et al. (2000) relataram aumento na proporção de embriões em estágio > 8-células no terceiro dia após a fertilização, bem como aumento na porcentagem de blastocistos formados e eclodidos no nono dia após a fertilização. Estudos recentes de Moreira et al. (2002a, 2002b) confirmaram essas observações anteriores de que a adição de GH e IGF-I aumenta o desenvolvimento até o estágio de blastocisto e o número de células *in vitro* e *in vivo*. Outro mecanismo pelo qual a bST pode aumentar o desenvolvimento a blastocisto pode estar relacionado com a inibição da apoptose. Jousan and Hansen (2004) mostraram que o IGF-I aumenta o número total de células e reduz o número de blastômeros que se tornam apoptóticos em embriões bovinos. Esses resultados sugerem que a manipulação do sistema do IGF-I pode melhorar a sobrevivência dos embriões em vacas expostas a estresse térmico ou outros fatores de estresse que podem induzir a apoptose.

Embora a bST tenha ação direta no oviduto (Pershing et al., 2002), no útero e no desenvolvimento embrionário precoce (Lucy et al., 1995; Kirby et al., 1996; Moreira et al., 2002a, 2002b), sabe-se muito pouco sobre seus efeitos entre 7 e 32 dias após a IA, que parece ser um período crítico para que a bST tenha efeito direto sobre o embrião ou indireto via unidade materna (ou seja, útero) ou hormônios circulantes como IGF-I (Moreira et al., 2001).

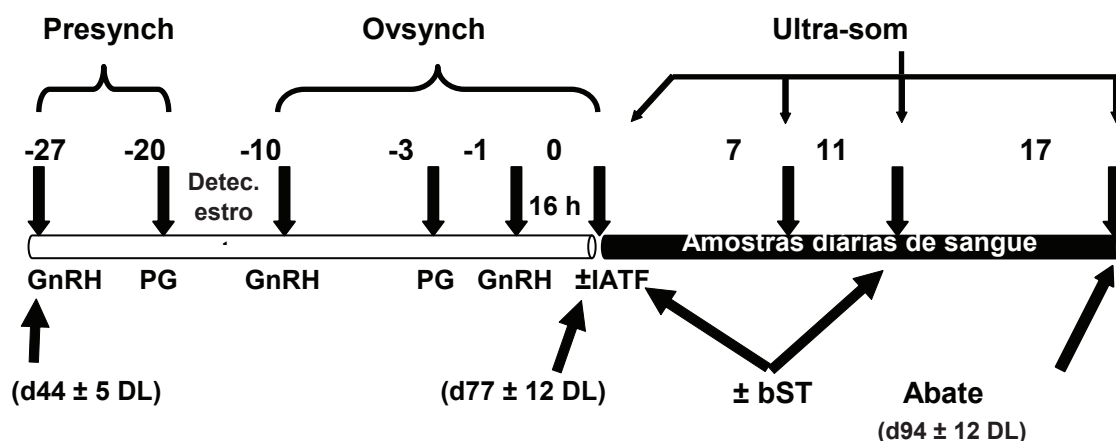
Outro evento importante nessa janela crítica entre os dias 16 e 17 após o estro é a manutenção do corpo lúteo (CL). O tratamento com bST tanto *in vivo* quanto *in vitro* afetou os genes que regulam a produção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Badinga et al. (2002) demonstraram em uma linhagem de células de endométrio bovino que tanto GH bovino quanto interferon-tau ( $\text{IFN-}\tau$ ) suprimiram a produção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  induzida com forbol 12,13- dibutirato; quando combinados resultaram em um efeito aditivo na redução da secreção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Nas amostras de endométrio coletadas nos dias 3 e 7 após a ovulação sincronizada de vacas leiteiras que receberam aplicação de bST, as concentrações da proteína PGHS-2 diminuíram quando comparadas com os controles não tratados (Balaguer et al., 2005). Existem evidências de uma “comunicação cruzada” entre os sistemas de transdução de sinais hormonais, como entre o receptor alfa do estradiol e o IGF-I (Klotz et al., 2002). Pode ser que dentre os efeitos da bST sobre a fertilidade esteja uma interação entre as vias de sinalização da bST e do  $\text{IFN-}\tau$  para regular a secreção de PG ou outros componentes da cascata de PG que são críticos para a manutenção da prenhez.

Kolle et al. (1997) encontraram mRNA de receptores de GH em 13 embriões. Seus dados sugerem que o GH pode atuar junto com outros fatores de crescimento (IGF-I e IGF-II) para aumentar o desenvolvimento dos embriões pré-implantação (Kaye, 1997). Além disso, receptores de IGF-I podem ser encontrados em todos os estágios de embriões bovinos pré-implantação (Yaseen et al., 2001). Como a administração de bST eleva a taxa de desenvolvimento ao estágio de blastocisto e o número de células do embrião, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, ela pode conseqüentemente melhorar o desenvolvimento do conceito permitindo uma maior liberação de  $\text{IFN-}\tau$  no dia 17 da gestação. O aumento no  $\text{IFN-}\tau$  pode contribuir para um número maior de animais mantendo a gestação e menor com perda embrionária precoce.

### ***Efeito da bST sobre as Respostas Uterinas e o Desenvolvimento do Concepto***

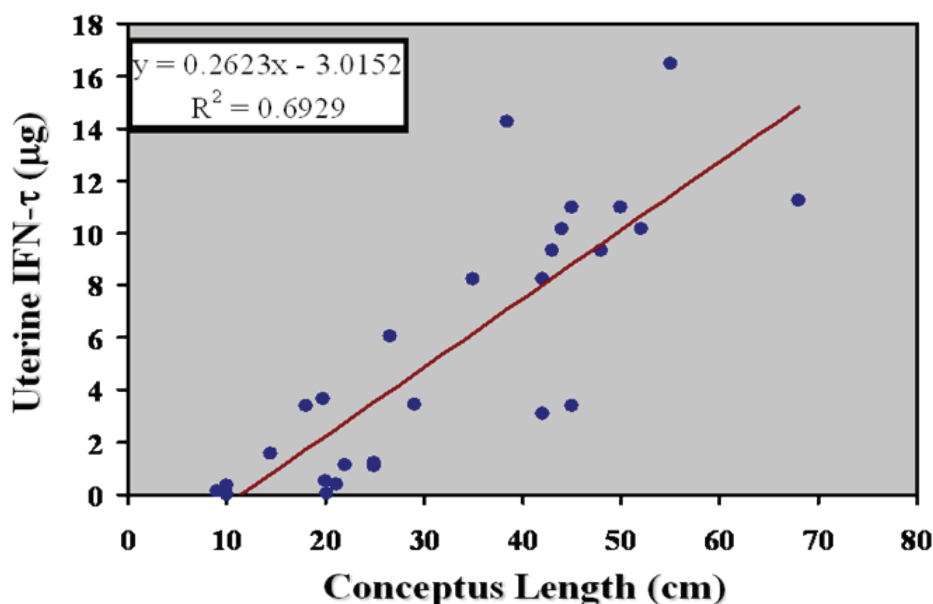
Conduziu-se uma série de estudos para avaliar os efeitos da bST sobre o período próximo ao reconhecimento da gestação associado à manutenção do CL no dia 17, tanto em vacas leiteiras lactantes quanto não lactantes (Bilby et al., 2004, 2006a,b,c). O objetivo foi examinar os efeitos da bST sobre respostas endócrinas, função ovário-uterina, expressão de vários genes no útero e desenvolvimento do conceito no dia 17 após o estro de vacas leiteiras lactantes e não lactantes. Nesses experimentos algumas das vacas lactantes receberam gordura by-pass para verificar os mecanismos pelos quais as gorduras influenciam a reprodução, mas para estes anais enfocaremos os resultados referentes aos efeitos da bST em vacas lactantes e não lactantes.

Tanto nos estudos com vacas não lactantes (Bilby et al., 2004) quanto lactantes (Bilby et al., 2006 a,b,c), foram utilizados os mesmos protocolos experimentais (Figura 1) para sincronização e para os tratamentos com bST. Todos os animais foram pré-sincronizados e começaram o protocolo Ovsynch aproximadamente 7 dias após a detecção de cio. As vacas designadas para o tratamento com bST receberam uma aplicação do hormônio no momento da IATF e novamente 11 dias depois. A segunda aplicação foi feita para garantir que as concentrações de GH seriam mantidas até o abate no dia 17. Todas as vacas designadas para abate deveriam ter ovulado e formado um CL quando examinadas 7 dias após a segunda aplicação de GnRH do protocolo Ovsynch.



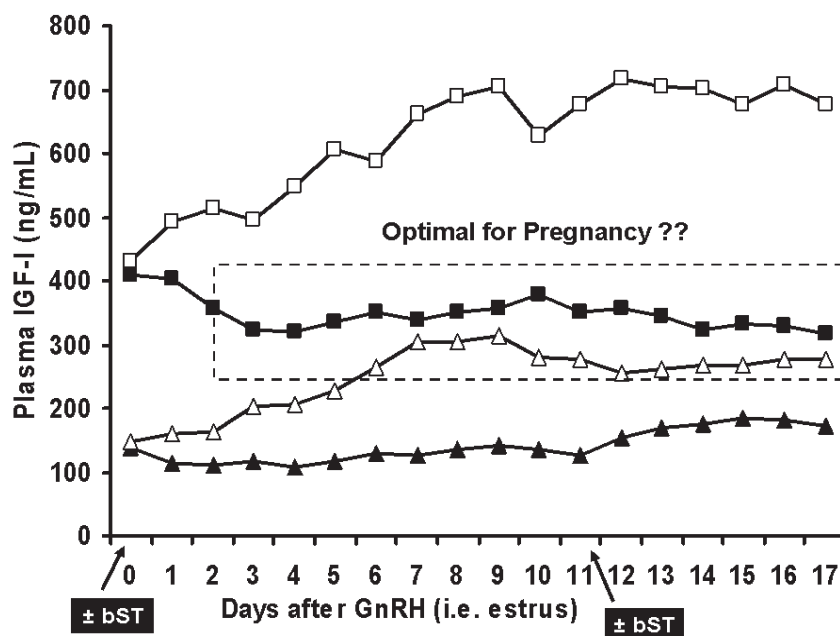
**Figura 1.** Protocolo experimental para vacas leiteiras lactantes e não lactantes ilustrando a sequência de aplicações, coleta de amostras e dias de exames ultra-sonográficos. O dia 0 representa a ovulação obtida com a indução do pico de LH. As vacas lactantes começaram o protocolo Presynch no dia 44 da lactação (DL). Presynch = Pré-sincronização, PG = PGF<sub>2α</sub>, IATF = IA a tempo fixo.

É interessante notar que a taxa de prenhez para vacas não lactantes foi mais baixa no grupo tratado com bST do que no controle (27% [9/33] vs. 64% [14/22];  $P < 0,01$ ); no entanto, o comprimento do conceito (39 vs. 20 cm) e a concentração de IFN- $\tau$  (715 vs. 236  $\mu\text{g}$ ) foi mais alta. Nas vacas lactantes a bST aumentou a taxa de prenhez (83,3% [5/6] vs. 40% [4/10];  $P < 0,09$ ), o comprimento do conceito (45 vs. 34 cm) e a concentração de IFN- $\tau$  (9,4 vs. 5,3 total  $\mu\text{g}$  nos lavados uterinos). O interferon-tau é secretado pelas células do trofoderma das membranas extra-embrionárias. Quando o conteúdo de IFN- $\tau$  nos lavados uterinos foi ajustado para o comprimento das membranas extra-embrionárias como covariável na análise estatística, a diferença decorrente da bST deixou de ser significativa. Então essa maior concentração de IFN- $\tau$  nas vacas tratadas com bST parece ocorrer devido ao maior tamanho dos conceitos no dia 17 (Figura 2).



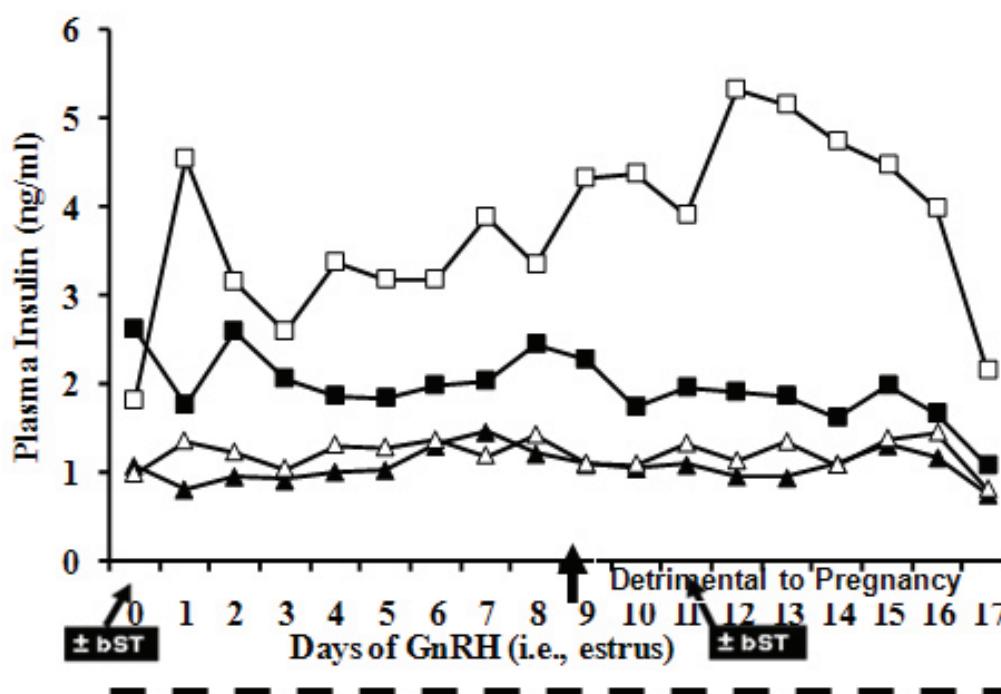
**Figura 2.** Quantidade total de IFN- $\tau$  nos lavados uterinos no dia 17 após a IATF de vacas lactantes e não lactantes. O gráfico ilustra a correlação entre o aumento no tamanho do conceito e a quantidade total de IFN- $\tau$  no útero.

Nas vacas não lactantes, a bST reduziu as taxas de prenhez mas aumentou o comprimento dos conceitos e as concentrações de IFN- $\tau$ . O aumento de duas vezes no tamanho dos conceitos e de três vezes nas concentrações de IFN- $\tau$  pode ter provocado uma assincronia no ambiente uterino refletindo na redução na taxa de prenhez. Esse crescimento embrionário avançado pode ter ocorrido devido a uma hiperestimulação das concentrações de IGF-I resultante da administração da bST. Nas vacas não lactantes as concentrações de IGF-I já estão em níveis suficientemente elevados para a manutenção do crescimento do embrião, como observado através da maior taxa de prenhez nas vacas não tratadas com bST. No entanto, em nosso experimento a bST elevou as concentrações plasmáticas de IGF-I nas vacas lactantes até as concentrações basais das vacas não lactantes não tratadas com bST (Figura 3); e as vacas lactantes apresentaram uma taxa de prenhez mais alta. Adicionalmente, o comprimento dos conceitos e as concentrações de IFN- $\tau$  aumentaram, mas não até os mesmos níveis observados nas vacas não lactantes. Parece existir um nível ótimo no qual o IGF-I pode exercer seus efeitos benéficos sobre o desenvolvimento e sobrevivência do embrião de maneira aumentar a taxa de prenhez (Figura 3).



**Figura 3.** IGF-I (ng/mL) plasmático de vacas prenhes lactantes e não lactantes. As vacas receberam aplicação de bST (+/-; 500 mg) no dia 0 (ou seja, no dia do GnRH) e 11 dias após uma inseminação sincronizada (D 0 a 17). Prenhe não lactante, sem bST (■; n = 14); Prenhe não lactante, bST (□; n = 9); Prenhe lactante, sem bST (▲; n = 4); Prenhe lactante, bST (△; n = 5).

Outra possibilidade para a redução na taxa de prenhez nas vacas não lactantes pode ser a hiperestimulação da insulina plasmática induzida pela bST (Figura 4). Relatos anteriores indicam que altas concentrações de insulina podem afetar negativamente tanto oócitos quanto embriões de vacas leiteiras (Armstrong et al., 2003), camundongos (Chi et al., 2000) e humanos (Sagle et al., 1988). Essa diferença na resposta à bST ilustra a complexa relação entre status nutricional e fisiológico (ou seja, status de lactação VS não lactação) e a reprodução. O aumento na fertilidade observado nas vacas tratadas com bST parece ser específico para vacas em lactação. A aplicação de bST em vacas não lactantes ou outras populações alvo, como novilhas ou vacas de corte com uma produção de IGF-I suficiente, pode resultar em nenhum efeito ou possivelmente reduzir a fertilidade.



**Figura 4.** Insulina plasmática (ng/mL) de vacas prenhes lactantes ou não lactantes. As vacas receberam uma aplicação de bST (+/-; 500 mg) no dia 0 (ou seja, no dia do GnRH) e 11 dias após a inseminação sincronizada (D 0 a 17). Prenhe não lactante, sem bST (■; n = 14); Prenhe não lactante, bST (□; n = 9); Prenhe lactante, sem bST (▲; n = 4); Prenhe lactante, bST (△; n = 5).

### Efeitos da bST em situações de Estresse Térmico

O estresse térmico influencia negativamente a reprodução e a produção de vacas leiteiras. Diversos estudos da University of Florida investigaram se a utilização de IGF-I *in vitro* ou se aplicações de bST *in vivo* poderiam melhorar a tolerância dos embriões ao estresse térmico e melhorar tanto as taxas de prenhez quanto a produção de leite em períodos de calor.

Como mencionado anteriormente, vários estudos mostraram melhora no desenvolvimento dos embriões bovinos a blastocisto quando estimulados com IGF-I (Moreira et al., 2002a,b; Block et al., 2003). O IGF-I tem efeitos benéficos comprovados não apenas estimulando o desenvolvimento dos embriões, mas também protegendo-os dos efeitos deletérios do estresse térmico. Jousan and Hansen (2004) conduziram uma série de estudos utilizando embriões bovinos fertilizados *in vitro* (FIV) cultivados com ou sem IGF-I. Para o primeiro experimento, embriões de 5 dias ( $\geq 16$  células) foram expostos a um ambiente térmico neutro (38,5 °C por 24 horas) ou a um estresse térmico induzido (41 °C por 9 horas seguido por 38,5 °C por 15 horas). O estresse térmico reduziu o número total de células 24 horas após o início tratamento com calor e aumentou o número de células em apoptose no embrião. No entanto, o IGF-I bloqueou a redução no número de células e reduziu a porcentagem de células em apoptose. O segundo experimento usou tratamentos semelhantes, mas avaliou embriões de 8 dias e obteve resultados parecidos. Essa série de experimentos, além de outros, ilustram como o IGF-I pode melhorar a sobrevivência do embrião em situações de estresse térmico *in vitro*.

Como o IGF-I tem propriedades de proteção térmica *in vitro*, foram delineados estudos para avaliar se a transferência de embriões cultivados com IGF-I para vacas receptoras em situações de estresse térmico melhoraria as taxas de prenhez (Block et al., 2003). Vacas holandesas em lactação e em situação de estresse térmico (n = 260) foram sincronizadas com um protocolo de IATF e receberam embriões de FIV cultivados



com e sem IGF-I (100 ng/mL) no dia 7. Um único embrião foi transferido para cada receptora (n = 210) com um CL palpável. A transferência de embriões tratados com IGF-I aumentou a taxa de prenhez no dia 53, ocasionou uma tendência a aumento na taxa de prenhez no dia 81 e melhorou as taxas de parição (Block et al., 2003). Isso provou que a transferência de embriões produzidos por FIV e cultivados com IGF-I pode melhorar as taxas de prenhez de vacas leiteiras receptoras em situações de estresse térmico.

Outro estudo foi delineado para determinar se os efeitos do IGF-I dependem da estação do ano ou se são específicos ao estresse térmico (Block and Hansen, 2007). Esse estudo usou o mesmo delineamento do anterior, mas a transferência dos embriões (n = 311) para vacas em lactação foi feita na estação quente e na estação mais fresca. Pareceu haver uma interação entre estação e tratamento com tendência para melhora nas taxas de prenhez no dia 21 e melhora significativa nos dias 30 e 45 bem como na taxa de parição durante as condições de estresse térmico. Embora os resultados desses estudos confirmem os efeitos do IGF-I em melhorar a viabilidade de embriões *in vitro* em períodos de estresse térmico, a questão de se o IGF-I periférico aumentado *in vivo* pode estimular as taxas de prenhez no verão continua sem resposta.

Estudos adicionais foram conduzidos na Flórida utilizando bST para estimular a produção de IGF-I e possivelmente melhorar a fertilidade durante o verão (Jousan et al., 2007). Vacas leiteiras em lactação (n = 276) foram pré-sincronizadas com duas aplicações de PGF<sub>2</sub> administradas com 14 dias de intervalo seguidas pelo protocolo CoSynch72 (GnRH e inseminação em 72 h após a PGF<sub>2</sub>). A prenhez foi confirmada através de exame ultra-sonográfico no dia 29 e reconfirmada entre os dias 45 e 80 após a IA. As vacas com prenhez negativa foram ressincronizadas com o protocolo CoSynch72 e receberam uma segunda IATF. Os tratamentos com bST foram iniciados 1 semana após as duas injeções de pré-sincronização e continuaram em intervalos de 2 semanas. As taxas de prenhez (dias 45 – 80) não foram diferentes entre as vacas controle e tratadas com bST para o primeiro (15,2% vs. 16,7%) ou segundo serviço IATF (17,2 vs. 14,8%). Entretanto, as concentrações plasmáticas de IGF-I, produção de leite e temperaturas retal e vaginal foram maiores para as vacas tratadas com bST que apresentaram redução no escore de condição corporal (Jousan et al., 2007).

Como o aumento na temperatura corporal compromete a fertilidade de vacas leiteiras em lactação (por exemplo, um aumento de 0,5° C na temperatura uterina no dia da inseminação levou a uma redução de 12,8% na fertilidade; Gwazdauskas et al., 1973), é possível que o tratamento com bST tenha protegido o embrião em desenvolvimento do aumento na temperatura no corpo associada com a bST, resultando em taxas de prenhez semelhantes.

## CONCLUSÃO

O fator determinante para a lucratividade de uma granja leiteira é a quantidade de leite produzida e comercializada. Sendo assim, a eficiência reprodutiva é um componente essencial para o sucesso da granja. O desenvolvimento de estratégias para melhorar e manter a produção de leite sem comprometer a fertilidade é vital. A maior parte da ineficiência reprodutiva em granjas leiteiras se deve à elevada taxa de mortalidade embrionária, principalmente a perda embrionária precoce. Thurmond et al. (1990) estimaram que granjas leiteiras perdem, em média, 640 dólares por cada perda de gestação. A redução na incidência de perda embrionária precoce pode aumentar tanto o desempenho reprodutivo quanto a produção total de leite; conseqüentemente melhorando o sucesso econômico ou a lucratividade das granjas leiteiras.

Estudos comprovaram que a bST melhora o crescimento e a sobrevivência dos embriões até o dia 17 da gestação de vacas leiteiras em produção. Isso pode explicar o aumento nas taxas de prenhez mostradas em estudos conduzidos em grandes granjas comerciais. No entanto, a bST parece ter efeitos adversos sobre a fertilidade quando administrada a animais que já apresentam quantidades adequadas de IGF-I (ou seja, novilhas, vacas de corte e vacas leiteiras secas). Embora a bST eleve a temperatura corporal, os efeitos

protetores da IGF-I podem prevenir redução adicional na fertilidade durante o verão, enquanto eleva a produção de leite.

Os efeitos variáveis da bST sobre a fertilidade de vacas leiteiras pode ser decorrente de uma diversidade de fatores, como dose, temperatura e status de lactação (ou seja, lactante vs. não lactante). Esses fatores devem ser levados em consideração quando a bST for usada como ferramenta para melhorar a produção de leite e a reprodução. Mais estudos são necessários para avaliar outras ferramentas nutricionais e farmacológicas que possam aumentar a IGF-I ou fatores de crescimento importantes que melhorem o crescimento e a sobrevivência dos embriões.

## REFERÊNCIAS

- Armstrong, D. G., J. G. Gong, and R. Webb. 2003. Interactions between nutrition and ovarian activity in cattle: physiological, cellular and molecular mechanisms. *Reprod. Suppl.* 61:403-414.
- Badinga, L., A. Guzeloglu, and W. W. Thatcher. 2002. Bovine somatotropin attenuates phorbol ester-induced prostaglandin  $F_{2\alpha}$  production in bovine endometrial cells. *J. Dairy Sci.* 85:537-543.
- Balaguer, S. A., R. A. Pershing, C. Rodriguez-Sallaberry, W. W. Thatcher, and L. Badinga. 2005. Effects of bovine somatotropin on uterine genes related to the prostaglandin cascade in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:543-552.
- Bauman, D.E., J.H. Eisemann, W.B. Currie. 1982. Hormonal effects on partitioning of nutrients for tissue growth: role of growth hormone and prolactin. *Fed. Proc.* 41:2538-44.
- Bauman, D. E. 1992. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. *J. Dairy Sci.* 75:3432-3451.
- Bilby, T.R., A. Guzeloglu, S. Kamimura, S.M. Pancarci, F. Michel, H.H. Head, and W. W. Thatcher. 2004. Pregnancy and Bovine Somatotropin in Nonlactating Dairy Cows: I. Ovarian, Conceptus, and Insulin-Like Growth Factor Responses. *J. Dairy Sci.* 87:3256-3267.
- Bilby, T.R., A. Sozzi, M. M. Lopez, F. T. Silvestre, A. D. Ealy, C. R. Staples, and W. W. Thatcher. 2006a. Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: I. Ovarian, Conceptus, and Growth Hormone-Insulin-Like Growth Factor System Responses. *J. Dairy Sci.* 89:3360-3374.
- Bilby, T.R., A. Guzeloglu, L. A. MacLaren, C. R. Staples, and W. W. Thatcher. 2006b. Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: II. Endometrial Gene Expression Related to Maintenance of Pregnancy. *J. Dairy Sci.* 89:3375-3385.
- Bilby, T.R., T. Jenkins, C. R. Staples, and W. W. Thatcher. 2006c. Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: III. Fatty Acid Distribution. *J. Dairy Sci.* 89:3375-3385.
- Block J., M. Drost, R.L. Monson, J.J. Rutledge, R.M. Rivera, F.F. Paula-Lopes, O.M. Ocon, C.E. Krininger, J. Liu, and P.J. Hansen. 2003. Use of insulin-like growth factor-I during embryo culture and treatment of recipients with gonadotropin-releasing hormone to increase pregnancy rates following the transfer of in vitro-produced embryos to heat-stressed, lactating cows. *J. Anim. Sci.* 81(6):1590-602.
- Block J., and P.J. Hansen. 2007. Interaction between season and culture with insulin-like growth factor-1 on survival of in vitro produced embryos following transfer to lactating dairy cows. *Theriogenology* 67(9):1518-29.
- Burton, J. H., G. K. MacLeod, B. W. McBride, J. L. Burton, K. Bateman, I. McMillan, and R. G. Eggert. 1990. Overall efficacy of chronically administered recombinant bovine somatotropin to lactating dairy



- cows. *J. Dairy Sci.* 73:2157-2167.
- Chi, M. Y., A. L. Schlein, and K. H. Moley. 2000. High insulin-like growth factor I (IGF-1) and insulin concentrations trigger apoptosis in the mouse blastocyst via down-regulation of the IGF-1 receptor. *Endocrinology* 141:4784-4792.
- Chillard, Y. 1989. Long-term effects of recombinant bovine somatotropin (rBST) on dairy cow performances: a review. In: *Use of Somatotropin in Livestock Production*, edited by K. Sejrsen, M. Vestergaard, and A. Neimann-Sorensen. New York: Elsevier Applied Science. p. 61-87.
- Cole, W. J., K. S. Madsen, R. L. Hintz, and R. J. Collier. 1991. Effect of recombinantly-derived bovine somatotropin on reproductive performance of dairy cattle. *Theriogenology* 36:573-595.
- Cole, W. J., P. J. Eppard, B. G. Boysen, K. S. Madsen, R. H. Sorbet, M. A. Miller, R. L. Hintz, T. C. White, W. E. Ribelin, B. G. Hammond, R. J. Collier, and G. M. Lanza. 1992. Response of dairy cows to high doses of a sustained-release bovine somatotropin administered during two lactations. 2. health and reproduction. *J. Dairy Sci.* 75:111-123.
- Downer, J. V., D. L. Patterson, D. W. Rock, W. V. Chalupa, R. M. Cleale, J. L. Firkins, G. L. Lynch, J. H. Clark, B. O. Brodie, B. F. Jenny, and R. DeGregorio. 1993. Dose titration of sustained-release recombinant bovine somatotropin in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75:111-123.
- Esteban, E., P. H. Kass, L. D. Weaver, J. D. Rowe, C. A. Holmberg, C. E. Franti, and H. F. Troutt. 1994. Reproductive performance in high producing dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.* 77:3371-3381.
- Gong, J. G., T. Bramley, and R. Webb. 1991. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: follicular populations and peripheral hormones. *Biol. Reprod.* 45:941-949.
- Gwazdauskas, F.C., W.W. Thatcher, and C.J. Wilcox. 1973. Physiological, environmental, and hormonal factors at insemination which may affect conception. *J. Dairy Sci.* 56(7):873-877.
- Izadyar, F., H. T. A. Van tol, B. Colenbrander, and M. M. Bevers. 1997. Stimulatory effect of growth hormone on in vitro maturation of bovine oocytes is exerted through cumulus cells and not mediated by IGF-I. *Mol. Reprod. Dev.* 45:175-180.
- Izadyar, F., H. T. A. Van tol, W. G. Hage, and M. M. Bevers. 2000. Preimplantation bovine embryos express mRNA of growth hormone receptor and respond to growth hormone addition during in vitro development. *Mol. Reprod. Dev.* 57:247-255.
- Jousan FD, de Castro e Paula LA, Block J, Hansen PJ. 2007. Fertility of lactating dairy cows administered recombinant bovine somatotropin during heat stress. *J. Dairy Sci.* 90(1):341-51.
- Jousan, F. D., and P. J. Hansen. 2004. Insulin-like growth factor-I as a survival factor for the bovine preimplantation embryo exposed to heat shock. *Biol. Reprod.* 71:1665-70.
- Kaye, P. L. 1997. Preimplantation growth factor physiology. *Rev. Reprod.* 2:121-127.
- Kirby, C. J., W. W. Thatcher, R. J. Collier, F. A. Simmen, and M. C. Lucy. 1996. Effects of growth hormone and pregnancy on expression of growth hormone receptor, insulin-like growth factor-I, and insulin-like growth factor binding protein-2 and -3 genes in bovine uterus, ovary, and oviduct. *Biol. Reprod.* 55:996-1002.
- Kirby, C. J., M. F. Smith, D. H. Keisler, and M. C. Lucy. 1997. Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained release bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.* 80:273-285.
- Klotz, D. M., S. C. Hewitt, P. Ciana, M. Raviscioni, J. K. Lindzey, J. Foley, A. Maggi, R. P. DiAugustine,

- and K. S. Korach. 2002. Requirement of estrogen receptor- $\alpha$  in insulin-like growth factor-1 (IGF-1)-induced uterine responses and in vivo evidence for IGF-1/estrogen receptor cross-talk. *J. Biol. Chem.* 277:8531-8537.
- Kolle, S., F. Sinowatz, G. Boie, D. Lincoln, and G. A. Palma. 1997. Expression of growth hormone receptor and its transcript during bovine early embryonic development. *Reprod. Dom. Anim.* 32:51. (Abstr.)
- Lefebvre, D. M., and E. Block. 1992. Effect of recombinant bovine somatotropin on estradiol-induced estrous behavior in ovariectomized heifers. *J. Dairy Sci.* 75:1461-1478.
- Lucy, M. C., W. W. Thatcher, R. J. Collier, F. A. Simmen, Y. Ko, J. D. Savio, and L. Badinga. 1995. Effects of somatotropin on the conceptus, uterus, and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 12:73-82.
- Morales-Roura, J. S., L. Zarco, J. Hernandez-Ceron, and G. Rodríguez. 2001. Effect of short-term treatment with bovine somatotropin at estrus on conception rate and luteal function of repeat-breeding dairy cows. *Theriogenology* 55:1831-1841.
- Morbeck, D. E., J. H. Britt, and B. T. McDaniel. 1991. Relationships among milk yield, metabolism, and reproductive performance of primiparous Holstein cows treated with somatotropin. *J. Dairy Sci.* 74:2153-2164.
- Moreira, F., L. Badinga, C. Burnley, and W. W. Thatcher. 2002a. Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. *Theriogenology* 57:1371-1387.
- Moreira, F., C. Orlandi, C. A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, and W. W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:1646-1659.
- Moreira, F., F. F. Paula-Lopes, P. J. Hansen, L. Badinga, and W. W. Thatcher. 2002b. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on development of in vitro derived bovine embryos. *Theriogenology* 57:895-907.
- Moreira, F., C. Risco, M. F. A. Pires, J. D. Ambrose, M. Drost, and W. W. Thatcher. 2000b. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 83:1237-1247.
- Pershing, R. A., M. C. Lucy, W. W. Thatcher, and L. Badinga. 2002. Effects of bST on oviductal and uterine genes encoding components of the IGF system in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:3260-3267.
- Peruzzi, F., M. Prisco, M. Dews, P. Salomoni, E. Grassilli, G. Romano, B. Calabretta, and R. Baserga. 1999. Multiple signaling pathways of the insulin-like growth factor 1 receptor in protection from apoptosis. *Mol. Cell Biol.* 19:7203-7215.
- Rechler, M. M., and S. P. Nissley. 1990. Insulin-like growth factors. *Handbook Exp. Pharmacol.* 95:263-281.
- Sagle, M., K. Bishop, N. Ridley, F. M. Alexander, M. Michel, R. C. Bonney, R. W. Beard, and S. Franks. 1988. Recurrent early miscarriage and polycystic ovaries. *Brit. Med. J.* 297:1027-1028.
- Santos, J. E. P., S. O. Juchem, R. L. A. Cerri, K. N. Galvão, R. C. Chebel, W. W. Thatcher, C. S. Dei, and C. R. Bilby. 2004. Effect of bST and reproductive management on reproductive performance of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:868-881.
- Stanisiewski, E. P., L. F. Krabill, and J. W. Lauderdale. 1992. Milk yield, health, and reproduction of dairy cows given somatotropin (Somavubove) beginning early postpartum. *J. Dairy Sci.* 75:2149-2164.

- Thurmond, M. C., J. P. Picanso, and C. M. Jameson. 1990. Considerations for use of descriptive epidemiology to investigate fetal loss in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 197:1305-1312.
- Waterman, D. F., W. J. Silvia, R. W. Hemken, G. Heersche, Jr., T. S. Swenson, and R. G. Eggert. 1993. Effect of bovine somatotropin on reproductive function in lactating dairy cows. *Theriogenology* 40:1015-1028.
- Yaseen, M. A., C. Wrenzycki, D. Herrmann, J. W. Carnwath, and H. Niemann. 2001. Changes in the relative abundance of mRNA transcripts for insulin-like growth factor (IGF-I and IGF-II) ligands and their receptors (IGF-IR/IGF-IIR) in preimplantation bovine embryos derived from different *in vitro* systems. *Reproduction* 122:601-610.
- Zhao, X., J. H. Burton, and B. W. McBride. 1992. Health and reproduction of dairy cows receiving daily injectable or sustained-release somatotropin. *J. Dairy Sci.* 75:3122-3130.