

Influência da nutrição nos hormônios metabólicos e na eficiência produtiva

Phil Garnsworthy, University of Nottingham, School of Biosciences, Sutton Bonington Campus, Loughborough LE12 5RD, UK

Phil.Garnsworthy@nottingham.ac.uk

Introdução

As respostas da produção de leite ao fornecimento de nutrientes já se encontram bem estabelecidas nas vacas de leite. O consumo de energia costuma ser o fator mais limitante e o rendimento leiteiro aumenta com o consumo de energia, seguindo uma curva de resposta decrescente, à medida que proporções cada vez maiores de energia são direcionadas à gordura corporal. De um modo geral, a proteína não é considerada limitante, uma vez que ingredientes de alto valor protéico podem ser incorporados na dieta; na realidade, o excesso de proteína costuma ser mais comum que a limitação de proteína, já que os pacotes de formulação de dietas de custo mínimo sempre revelam que a energia é uma limitação em comparação à proteína. O fornecimento de minerais e vitaminas pode ser facilmente ajustado com suplementos de alta densidade; a dificuldade está em definir a faixa entre deficiência e excesso.

Diferentes fontes de energia e proteína na dieta modificam as respostas no rendimento e na composição do leite. Mais especificamente, as proporções de energia fornecida como amido, fibra e gordura têm grandes efeitos no rendimento da proteína e gordura no leite (Sutton, 1985). Tais efeitos são mediados por alterações na fermentação ruminal, produtos finais da digestão e aporte de substratos à glândula mamária, acompanhados de respostas hormonais metabólicas que alteram o direcionamento de nutrientes.

Apesar das fortes relações genéticas e fenotípicas negativas entre rendimento leiteiro e fertilidade, a baixa fertilidade não é uma consequência inevitável de altos rendimentos leiteiros. Há rebanhos de alta produção com boa fertilidade e rebanhos de baixa produção com má fertilidade. Um dos principais determinantes da fertilidade é o balanço entre a saída de energia no leite e o consumo de energia. Assim, qualquer tentativa de reduzir o rendimento leiteiro através do consumo restrito de nutrientes seria desastrosa para a saúde e fertilidade da vaca.

A nutrição pode afetar a reprodução tanto a curto (dias) como a médio (meses) prazo. Do ponto de vista fisiológico, mudanças no aporte de nutrientes alteram os sinais metabólicos para o cérebro e ovário, coordenando assim a função ovariana com a condição metabólica (Garnsworthy *et al.* 2008a). O objetivo desta revisão é ilustrar algumas das interações entre nutrição e fertilidade nos bovinos, sugerindo estratégias de manejo nutricional para melhorar o sucesso reprodutivo.

A **primeira estratégia nutricional** para promover a fertilidade é controlar o ECC (escore de condição corporal) na parição. Nas vacas de leite, a meta deve estar entre 2,5 e 3,0 (em uma escala de 1 a 5) para que a ingestão de matéria seca não seja comprometida pelo efeito de feedback negativo da gordura corporal, restringindo a perda de ECC a menos de 0,5 unidade (Garnsworthy, 2007).

A **segunda estratégia nutricional** para promover a fertilidade consiste em fornecer dietas de alta qualidade no início da lactação, impedindo assim que os consumos de energia e nutrientes não sejam limitados pelas características da dieta. A dieta deve ser palatável e rica em energia, mas deve-se evitar excesso de gordura (que reduz a digestão de fibras no rúmen, diminui a insulina e estimula a mobilização de gordura corporal), excesso de amido (reduz a digestão de fibras no rúmen e estimula a acidose) e excesso de proteína (estimula a mobilização de gordura corporal).

Uma vez atendidas as prioridades de minimização do balanço energético negativo, controle do escore de condição corporal e fornecimento dos nutrientes necessários à produção de leite, a composição da dieta poderá ser alterada para manipular hormônios metabólicos. Diferentes fontes de energia e proteína na dieta modificam o direcionamento de nutrientes e as respostas no rendimento e composição do leite. O amido é uma fonte de energia glicogênica e, como tal, estimula a síntese de lactose e proteína no leite. As fibras e gorduras são fontes de energia cetogênica, que estimulam a síntese da gordura no leite. Esses efeitos são mediados por alterações na fermentação ruminal, produtos finais da digestão e aporte de substratos à glândula mamária, acompanhados de mudanças em hormônios metabólicos que alteram a partição de nutrientes. Mudanças nos hormônios metabólicos no início da lactação alteram o padrão de crescimento e desenvolvimento do folículo ovariano, influenciando assim a função reprodutiva (ver revisões de Webb *et al.* 2004;

Garnsworthy *et al.* 2008a). Desta forma, uma **terceira estratégia nutricional** para promover a fertilidade consiste em alterar a composição da dieta para manipular os hormônios metabólicos em estágios fundamentais do ciclo reprodutivo. As características dessa estratégia são o principal foco do restante deste trabalho.

Respostas hormonais à composição da dieta

Realizamos um programa de dez anos para examinar os efeitos da dieta nos hormônios metabólicos e na fertilidade. As dietas apresentaram variação estruturada no amido total, no sítio de digestão do amido, gordura, fibra, proteína metabolizável, perfil de aminoácidos e tipo de forragem, com uma faixa estreita de concentração de energia (11,9-12,1 MJ EM/kg MS). As dietas tinham como base misturas de silagem de milho, silagem de gramíneas, trigo, milho, polpa de beterraba açucareira, gordura, farelos de oleaginosas, e sais de cálcio. Em cada experimento, as vacas receberam uma dieta padrão nos primeiros 35 dias de lactação e dietas-tratamento entre os dias 40 e 70.

As concentrações plasmáticas de hormônio de crescimento (GH), fator de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I) e leptina não foram relacionadas à composição da dieta, embora tenham sido afetadas por fatores referentes aos animais, como rendimento leiteiro, escore de condição corporal e peso vivo. As concentrações plasmáticas de insulina foram positivamente relacionadas à concentração de amido na dieta e os resultados revelam que para manter uma relação adequada de insulina:glucagon nas vacas ao início do período reprodutivo, a concentração de amido na dieta deve ser superior a 160 g/kg MS (Garnsworthy *et al.* 2008b). Entretanto, o amido do trigo, milho e silagem de milho produziram respostas semelhantes, portanto as dietas podem ser formuladas para o teor de amido total, e não de amido digestível no rúmen ou *bypass* (Garnsworthy *et al.* 2009a). A insulina foi negativamente relacionada ao teor de gordura na dieta e os resultados revelam que a concentração total de gordura na dieta deve ser inferior a 50 g/kg MS para evitar queda na concentração plasmática de insulina no início do período reprodutivo (Garnsworthy *et al.* 2008c). A insulina também foi aumentada por aminoácidos de cadeia ramificada, principalmente a leucina (o glúten de milho é uma boa fonte), que é um secretagogo de insulina (Docherty & Clark, 1994). No entanto, as respostas à leucina dependem do teor total de proteína na dieta: para dietas com baixas

concentrações de proteína, a relação insulina:glucagon foi maior com altos níveis de leucina; para dietas com altos níveis de proteína, a relação insulina:glucagon foi maior com baixos níveis de leucina, uma vez que a dieta com altos níveis de proteína e altos níveis de leucina estimulou o rendimento leiteiro (Garnsworthy *et al.* 2008d).

Hormônios metabólicos e reprodução

A condição nutricional é um fator fundamental que influencia a reprodução e uma série de revisões discutem vários aspectos da nutrição na fertilidade dos ruminantes (Beam e Butler, 1999; Garnsworthy e Webb, 1999; Webb *et al.*, 1999a,b; Butler, 2000; Lucy, 2000, 2003; Webb *et al.*, 2004; Garnsworthy *et al.*, 2008a). O consumo de nutrientes atua em vários níveis do eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano para controlar a atividade ovariana. Além disso, a condição nutricional também foi relacionada à sobrevivência do embrião. Nas vacas de leite, maiores rendimentos leiteiros e demanda metabólica estão associados a intervalos anestros pós-parto mais longos, ciclos estrais anormais e queda nas taxas de concepção (Royal *et al.*, 2000; Lucy, 2003). Entretanto, os detalhes dos mecanismos fisiológicos através dos quais a nutrição exerce muitos desses fatores ainda precisam ser totalmente caracterizados.

Anestro pós-parto

Os hormônios metabólicos e a função reprodutiva foram mensurados em vacas de leite de Alto e Baixo mérito genético no início da lactação (Gutierrez, *et al.*, 2006). A retomada dos ciclos estrais normais pós-parto ocorreu aproximadamente 8 dias mais tarde nas vacas de Alto mérito. Tal fato foi associado a concentrações inferiores de insulina plasmática. Outro estudo investigou se o fornecimento de dietas elaboradas para aumentar as concentrações de insulina circulante no início do período pós-parto poderia superar o atraso na primeira ovulação pós-parto em animais selecionados para maior rendimento leiteiro (Gong *et al.* 2002). Duas dietas isoenergéticas foram formuladas para estimular ou reduzir as concentrações plasmáticas de insulina e fornecidas a vacas de Alto ou Baixo mérito genético. Mais uma vez, houve atraso no início da primeira ovulação e na retomada dos ciclos estrais normais no pós parto das vacas de alto mérito genético. Isto foi associado a concentrações mais baixas de insulina circulante mas não envolveu alterações nas concentrações basais de gonadotropina plasmática ou nos padrões de desenvolvimento dos folículos ovarianos

no início do período pós-parto. O fornecimento de uma dieta destinada a aumentar as concentrações de insulina circulante antecipou a primeira ovulação pós-parto, de modo que mais vacas ovularam nos primeiros 50 dias de lactação (Tabela 1).

As respostas observadas por Gong *et al.* (2002) foram independentes de rendimento leiteiro e balanço energético. Tudo indica que a insulina atua como um sinal metabólico ao sistema reprodutivo, sinalizando que a condição de energia é adequada. O mecanismo exato por trás dessa sinalização ainda permanece vago, mas provavelmente envolve interações entre insulina, IGFs e gonadotropinas (Garnsworthy *et al.* 2008a). Os papéis do GH, IGF e leptina parecem estar mais voltados ao rendimento leiteiro, balanço de energia e condição corporal que à condição nutricional, uma vez que esses hormônios não foram afetados por alterações na composição da dieta que induziram grandes diferenças na insulina (Garnsworthy *et al.* 2008b,c,d; 2009a).

Tabela 1. Porcentagem de vacas que ovularam no período de 50 dias após a parição, em vacas leiteiras de Alto e Baixo mérito genético alimentadas com dietas que induziram concentrações baixas ou altas de insulina plasmática (Gong *et al.* 2002)

<i>Dieta</i>	<i>Mérito Genético</i>	
	Alto	Baixo
Baixa Insulina	50%	60%
Alta Insulina	80%	100%

Crescimento folicular e qualidade do ovócito

Em nossos estudos nutricionais descobrimos que as concentrações de insulina circulante estavam associadas a alterações no número de folículos. O aumento na concentração de amido da dieta foi associado a maior número de folículos pequenos e a menor número de folículos médios (Figura 1), sugerindo que embora o recrutamento folicular possa ser aumentado por níveis mais elevados de insulina, o desenvolvimento folicular pode ser comprometido (Garnsworthy *et al.* 2008b). A suplementação de gordura de uma dieta rica em amido (180 g/kg MS) aumentou o número de folículos pequenos mas não afetou o número de folículos médios e a suplementação de gordura acima de 8 g/kg MS não trouxe benefícios (Figura 2). O

conjunto desses estudos indica que tanto o fornecimento de ácidos graxos como insulina possuem limiares mínimos, portanto o aumento em qualquer um dos fatores estimula o desenvolvimento folicular apenas quando o outro se encontra adequado (Garnsworthy *et al.* 2008). Um estudo que investigou níveis de aminoácidos e proteína não demonstrou efeito do tratamento nutricional no número de folículos de classes de tamanhos diferentes; concluímos que a alteração de hormônios metabólicos através da manipulação do aporte e balanço dos aminoácidos não deverá ter impacto significativo na função ovariana de vacas de leite (Garnsworthy *et al.* 2008d).

Alguns de nossos estudos demonstraram que embora as altas concentrações de insulina possam estimular a retomada precoce dos ciclos estrais, talvez não sejam benéficas à qualidade do ovócito. Por exemplo, no estudo de Fouladi-Nashta *et al.* (2005) as vacas foram alimentadas com uma dieta com baixo ou alto teor de amido para induzir diferenças na insulina plasmática. Ovócitos foram coletados para fertilização *in vitro* e cultivados para exame de seu desenvolvimento potencial. A dieta com altos níveis de amido produziu um número significativamente maior de ovócitos de qualidade insatisfatória e uma proporção menor de embriões clivados que se desenvolveram até atingir o estágio de blastocisto. Em outro experimento (Fouladi-Nashta *et al.* 2007), a adição de gordura a uma dieta rica em amido reduziu as concentrações plasmáticas de insulina e melhorou a competência de desenvolvimento dos ovócitos. Esses estudos revelam que altas concentrações de insulina podem ter efeitos adversos na qualidade do ovócito, confirmando nossos estudos realizados em gado de corte.

Estratégia nutricional ideal

Parece haver um conflito potencial entre estratégias nutricionais voltadas ao início da ciclagem nas vacas e a produção de ovócitos de boa qualidade. Dietas desenvolvidas para aumentar a concentração plasmática de insulina estimulam a retomada dos ciclos estrais, causando porém efeitos prejudiciais à competência dos ovócitos. Isso se mostra um desafio interessante para os pesquisadores e nutricionistas no campo.

Nossos estudos recentes (Garnsworthy, *et al.* (2009b) abordaram essas respostas diferenciais ao examinar estratégias nutricionais para melhorar ou comprometer a ciclicidade e ovócitos em diferentes estágios do ciclo reprodutivo. Em um

experimento inicial, estratégias desenvolvidas para melhorar apenas um fator, ou prejudicar ambos os fatores, resultaram em taxas de prenhez de 27% aos 120 dias em leite; uma estratégia desenvolvida para melhorar ambos os fatores levou a uma taxa de prenhez de 60% ($P=0,03$). Essas estratégias foram testadas em condições comerciais, geralmente com sucesso.

Conclusões

A má fertilidade não é uma consequência inevitável de alto mérito genético, mas o resultado de uma combinação de fatores que incluem susceptibilidade genética, manejo, doenças, rendimento leiteiro, balanço energético, reservas corporais e circunstâncias nutricionais específicas. De modo geral, as estratégias nutricionais voltadas à produção eficiente de leite são proporcionais às estratégias para atingir boa fertilidade.

As necessidades absolutas de energia e proteína de um ovócito ou embrião em desenvolvimento são muito pequenas em comparação às exigências de uma vaca leiteira. As respostas reprodutivas à nutrição devem-se a sinais metabólicos dos níveis de nutrientes e não à disponibilidade dos nutrientes em si. Tudo indica que a maior influência da nutrição ocorre através de hormônios metabólicos, como GH e insulina, que agem através do sistema IGF para terem repercussão no nível tecidual ou celular.

Há tantos fatores que influenciam a função reprodutiva das vacas de leite que é difícil prever se uma vaca individual conseguirá conceber em um determinado conjunto de circunstâncias. Entretanto, é possível identificar certos fatores de risco que podem predispor a vaca à infertilidade. Entre eles estão excessos ou deficiências de energia e proteína, balanço energético negativo grave e excesso de perda de peso. Mesmo quando esses fatores de risco são minimizados ainda parecem existir respostas diferenciais à nutrição nos ovários. Pesquisas vêm sendo realizadas para prever essas respostas e levar ao desenvolvimento de estratégias nutricionais ideais que melhorem a fertilidade sem comprometer a produção de leite. Estudos preliminares indicam que a meta será atingida.

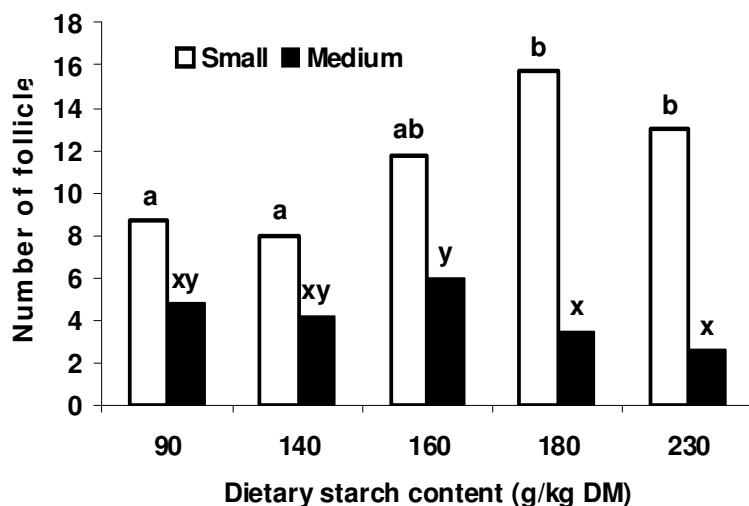
Agradecimentos

A pesquisa sobre fertilidade realizada em Nottingham foi financiada por Defra, SEERAD, LINK, ABNA, BOCM PAULS e Provimi Ltd.

Referências

- Beam, S.W. and Butler, W.R. (1999) Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement*, **54**, 411-424.
- Butler, W. R. (2000) Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, **60/61**, 449-459.
- Docherty, K & Clark, AR (1994) Nutrient regulation of insulin gene expression. *FASEB Journal*, **8**, 20-27.
- Fouladi-Nashta, A.A., Gutierrez, C.G., Garnsworthy P.C. and Webb R. (2005) Effects of dietary carbohydrates on oocyte/embryo quality and development in lactating dairy cattle. *Society for the Study of Reproduction Annual Conference*.
- Fouladi-Nashta, A.A., Gutierrez, C.G., Gong, J.G, Garnsworthy, P.C., Webb, R. (2007) Impact of dietary fatty acids on oocyte quality and development in lactating dairy cows. *Biology of Reproduction*, **77**, 9-17.
- Garnsworthy, P.C. (2007) Body condition score in dairy cows: targets for production and fertility. In: *Recent Advances in Animal Nutrition - 2006* (Eds. Garnsworthy, PC and Wiseman, J), 61-86, Nottingham University Press, Nottingham.
- Garnsworthy, P.C. and Webb, R. (1999) The Influence of nutrition on fertility in dairy cows. In *Recent Advances in Animal Nutrition - 1999* (Eds P.C. Garnsworthy and J. Wiseman), pp 39-57, Nottingham University Press, Nottingham.
- Garnsworthy, P.C., Fouladi-Nashta, A.A., Mann, G.E., Sinclair, K.D., Webb, R. (2009b) Effect of dietary-induced changes in plasma insulin concentrations during the early postpartum period on pregnancy rate in dairy cows. *Reproduction*, **137**, 759-768.
- Garnsworthy, P.C., Gong, J.G., Armstrong, D.G., Mann, G.E., Sinclair, K.D., Webb, R. (2009a) Effect of site of starch digestion on metabolic hormones and ovarian function in dairy cows. *Livestock Science*, **125**, 161-168.
- Garnsworthy, P.C., Gong, J.G., Armstrong, D.G., Newbold, J.R., Marsden, M., Richards, S.E., Mann, G.E., Sinclair, K.D., Webb, R. (2008d) Nutrition, metabolism and fertility in dairy cows: 3. amino acids and ovarian function. *Journal of Dairy Science*, **91**, 4190-4197.
- Garnsworthy, P.C., Lock, A.L., Mann, G.E., Sinclair, K.D., Webb, R. (2008b) Nutrition, metabolism and fertility in dairy cows: 1. dietary energy source and ovarian function. *Journal of Dairy Science*, **91**, 3814-3823.
- Garnsworthy, P.C., Lock, A.L., Mann, G.E., Sinclair, K.D., Webb, R. (2008c) Nutrition, metabolism and fertility in dairy cows: 2. dietary fatty acids and ovarian function. *Journal of Dairy Science*, **91**, 3824-3833.

- Garnsworthy, P.C., Sinclair, K.D., Webb, R. (2008a) Integration of physiological mechanisms that influence fertility in dairy cows. *Animal*, **2**, 1144–1152.
- Gong, J.G., Lee, W.J., Garnsworthy, P.C. and Webb, R. (2002) Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. *Reproduction*, **123**, 419–427.
- Gutierrez, C.G., Gong, J.G., Bramley, T.A. and Webb, R. (2006) Selection on predicted breeding value for milk production delays ovulation independently of changes in follicular development, milk production and body weight. *Animal Reproduction Science*, **95**, 193–205.
- Lucy, M. C. (2000) Regulation of ovarian follicular growth by somatotropins and insulin-like growth factors in cattle. *Journal of Dairy Science*, **83**, 1635–1647.
- Lucy, M. C. (2003) Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reproduction in Domestic Ruminants V. Reproduction Suppl.* **61**, 415–417.
- Royal, M.D., Darwash, A.O., Flint, A.P.F., Webb, R., Woolliams, J.A. and Lamming G.E. (2000) Declining fertility in dairy cattle: Changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Animal Science*, **70**, 487–502.
- Sutton, J.D. (1985) Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. *Journal of Dairy Science*, **68**, 3376–3393.
- Webb, R. Campbell, B. K. Garverick, H. A. Gong, J. G. Gutierrez, C. G. Armstrong, D. G. (1999a) Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement*, **54**, 33–48.
- Webb, R., Garnsworthy, P.C., Gong, J.G., Robinson, R.S. and Wathes, D.C. (1999b) Consequences for reproductive function of metabolic adaptation to load *Metabolic stress in dairy cows Occasional Publication No 24 British Society of Animal Science*
- Webb, R., Garnsworthy, P.C., Gong, J-G. and Armstrong, D. G. (2004) Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. *Journal of Animal Science*, **82**, E63–E74.



1. Números de folículos ovarianos pequenos (<5 mm) e médios (5-10 mm) após um estro sincronizado aos 60 dias em leite, em vacas leiteiras de alta produção que receberam dietas com teores variados de amido. As letras indicam diferenças ($P < 0,05$). (Dados de Garnsworthy *et al.*, 2008b).

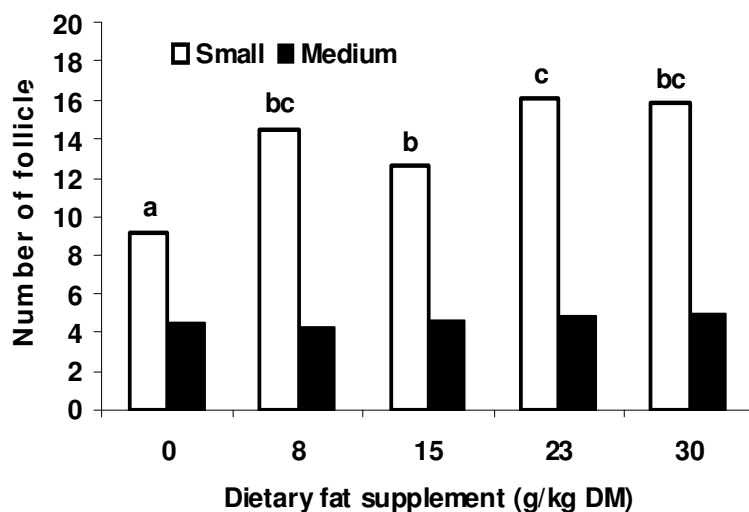


Figura 2. Número de folículos ovarianos pequenos (<5 mm) e médios (5-10 mm) após sincronização de estro aos 60 dias em leite, em vacas leiteiras de alta produção alimentadas com dietas contendo níveis variados de suplementação de gordura. As letras indicam diferenças ($P < 0,05$). (Dados de Garnsworthy *et al.* 2008c).

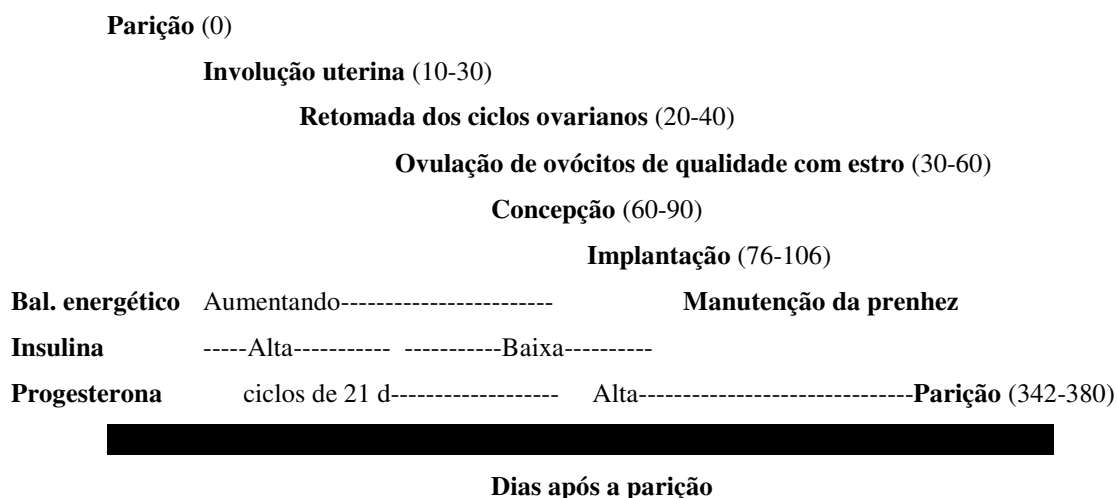
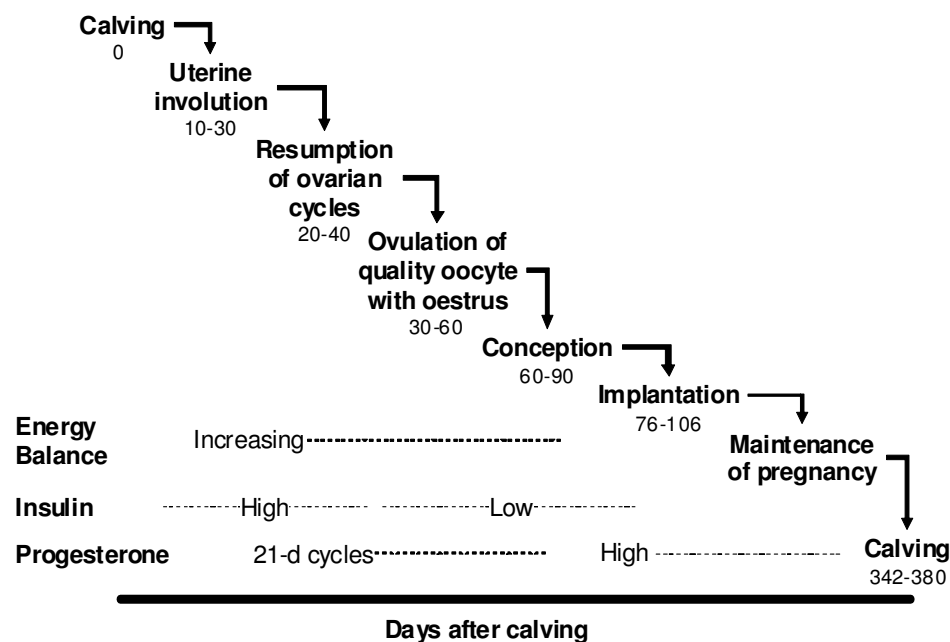


Figura 3. Sequência de eventos reprodutivos na vaca de leite. Cada evento depende do sucesso dos eventos que o precederam. Os números indicam a faixa ideal (dias após a parição) para se atingir um intervalo de parição médio de 365 dias. Os principais fatores temporais que influenciam o sucesso são: balanço energético, que deve começar a aumentar no início da lactação; insulina, que estimula a retomada dos ciclos estrais, porém possivelmente comprometendo a qualidade dos ovócitos; e progesterona, que se encontra em níveis baixos durante o anestro, altos nas fases luteais dos ciclos e baixos nas fases foliculares dos ciclos (segundo Garnsworthy *et al.*, 2008a).