

---

## Impacto dos nutracêuticos no desempenho reprodutivo de bovinos

Diego Andres Velasco-Acosta

O período de transição de uma vaca leiteira tem sido tradicionalmente definido a partir de três semanas pré-parto até três semanas pós-parto (Drackley, 1999). Neste período, as vacas leiteiras frequentemente experimentam balanço energético negativo (BEN) que induz excessiva mobilização de tecidos, principalmente gordura, mas também proteínas (Komaragiri and Erdman, 1997). A duração e a intensidade do BEN pós-parto estão negativamente associadas ao desempenho reprodutivo. Vacas que experimentam um BEN mais intenso têm um atraso no retorno na atividade ovariana pós-parto, e, conseqüentemente, demoram mais para conceber (Butler and Smith, 1989; Jarritsma *et al.*, 2000; Staples *et al.*, 1999). Os mecanismos através dos quais o BEN durante o período de transição tem um efeito sobre o desempenho reprodutivo não tinham sido compreendidos a profundidade (Chapinal *et al.*, 2012), no entanto, o uso das técnicas-ômicas abriu um novo caminho para examinar processos biológicos complexos com o potencial de fornecer uma melhor compreensão por meio da quantificação de várias moléculas ligadas ao metabolismo (Turner *et al.*, 2021). Sabe-se que o BEN envolve a redução nos hormônios metabólicos, tais como a insulina e o fator de crescimento semelhante à insulina de tipo 1 (IGF-1) (Leon *et al.*, 2004) e aumento nos níveis de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e  $\beta$ -hidroxibutirato (BHBA). Sabe-se ademais que os AGNE e BHBA têm um efeito tóxico direto nos oócitos maturados *in vitro* (Leroy *et al.*, 2006). Por outro lado, vacas leiteiras de alto rendimento que apresentam BEN, apresentam uma alteração na sinalização do IGF-1 no oviduto, o que reflete em efeitos adversos no desenvolvimento embrionário, derivando em altas taxas de mortalidade embrionária (Fenwich *et al.*, 2008).

No pós-parto recente (primeiras três semanas) há uma insuficiência de carboidratos que aumenta a produção de corpos cetônicos no fígado (Drackley *et al.*, 2001). O BEN e as altas concentrações de AGNE no sangue contribuem para o desenvolvimento da síndrome do fígado graxo que, por sua vez, é um fator que contribui para outros problemas metabólicos e de imunossupressão (Kehrli *et al.*, 2006) que, direta ou indiretamente, podem afetar o desempenho reprodutivo da vaca leiteira (Reist *et al.*, 2000; Dubuc *et al.*, 2010).

Assim, diferentes estratégias vêm sendo utilizadas para minimizar os efeitos negativos do período de transição sobre o metabolismo, imunidade e, conseqüentemente, sobre a reprodução. Estratégias nutricionais, farmacêuticas, de manejo e de alimentação durante o período pré e pós-parto têm um impacto na saúde, produtividade e fertilidade da vaca leiteira.

### **1. Nutracêuticos no retorno à atividade ovariana pós-parto**

A intensidade e duração do BEN durante as primeiras semanas pós-parto têm sido correlacionadas com o intervalo entre o parto e a primeira ovulação (Lucy *et al.*, 1991; Beam and Butler, 1998). É geralmente aceito que a vaca que retoma a funcionalidade ovariana rapidamente, apresenta uma maior fertilidade (Staples *et al.*, 1990).

Durante o pós-parto recente existe uma grande demanda de glicose pela glândula mamária, o que pode diminuir sua disponibilidade para outros tecidos, incluindo aqueles que estão envolvidos na reprodução (Wathes *et al.*, 2011, Green *et al.*, 2012). Uma baixa concentração de glicose intra-folicular coincide com baixa concentração de insulina no fluido folicular, e as concentrações de ambos os parâmetros são influenciadas pela dieta (Landau *et al.*, 2000). Ainda, a glicose é extremamente importante para a proliferação das células da teca e a sua atividade esteroidogênica (Stewart *et al.*, 1995).

No ovário, os receptores para insulina estão amplamente distribuídos pelos diferentes tipos de células, incluindo células da granulosa, teca, estroma (Poretsky and Kalin, 1987) e luteais (Mamluk *et al.*, 1999). Em condições *in vitro*, a insulina aumenta a esteroidogênese em resposta às gonadotrofinas (Stewart *et al.*, 1995; Silva and Price, 2002). Adicionalmente, baixas concentrações de insulina no sangue induzem a lipólise e elevam as concentrações de AGNE, o

que, por sua vez, têm um efeito prejudicial na função das células da granulosa (Vanholder *et al.*, 2005).

A somatotropina bovina, também conhecida como hormônio do crescimento (GH), é um péptido produzido naturalmente pela glândula pituitária (Bauman, 1992), que apresenta ação homeorrética, atuando na regulação da partição de nutrientes. Seu uso farmacológico está indicado para aumentar a produção e melhorar a eficiência na síntese de leite no período pós-parto (Bauman, 1999). Entretanto, tem sido utilizado no período pré-parto devido a suas funções de modulação metabólica com o intuito de melhorar o retorno à atividade reprodutiva pós-parto.

A somatotropina estimula a produção hepática do fator de crescimento semelhante a insulina de tipo 1 (IGF-1), e a exposição prolongada a concentrações elevadas de somatotropina circulante pode induzir a resistência à insulina (Scaramuzzi *et al.*, 2011). A maior parte do IGF-1 sérico é sintetizado no fígado, em resposta ao GH agindo através de seu receptor (Jiang and Lucy, 2001). De fato, o IGF-1 derivado do fígado é um fator de regulação da maturação final do folículo dominante durante a primeira onda folicular pós-parto (Beam and Butler, 1998), pois sabe-se que o IGF-1 circulante em vacas que ovulam a primeira onda folicular pós-parto é maior do que em vacas anovulatórias (Beam and Butler, 1998; Kawashima *et al.*, 2007a; Kawashima *et al.*, 2007b). Além disso, o IGF-1 parece desempenhar um papel chave no aumento da sensibilidade de pequenos folículos antrais ( $\leq 5$  mm de diâmetro) à ação das gonadotrofinas (Scaramuzzi *et al.*, 2011). O IGF-1 também desempenha um papel importante na transição dos folículos para a fase folicular dependente de gonadotrofinas (Mazerbourg *et al.*, 2003).

Estudos com somatotropina injetável durante o periparto demonstraram que a sua administração aumenta as concentrações de IGF-1 pré e pós-parto (Schneider *et al.*, 2011; Carriquiry *et al.*, 2009), além de aumentar a ingestão de matéria seca (IMS) (Gulay *et al.*, 2004; Putnam *et al.*, 1999), a glicose pós-parto (Putnam *et al.*, 1999; Carriquiry *et al.*, 2009) e possivelmente começar uma mobilização de AGNE no período pré-parto (Velasco-Acosta *et al.*, 2013). Ademais, reduz a mobilização de AGNE e formação de BHBA no período pós-parto (Schneider *et al.*, 2011; Putnam *et al.*, 1999). Adicionalmente, Velasco-Acosta *et al.* (2017) encontraram maiores concentrações de IGF-I e estrógenos

no fluido folicular, além de uma maior expressão do receptor da hormona luteinizante (*LHCGR*) e da proteína reguladora aguda da esteroidogênese (*STAR*) em novilhas tratadas no pré-parto com somatotropina. O anterior sugere que a injeção de somatotropina no pré-parto pode melhorar a adaptação metabólica durante o período de transição em vacas leiteiras favorecendo o retorno à atividade reprodutiva pós-parto.

Da mesma forma, a suplementação com aminoácidos ou nutrientes essenciais com capacidade de modificar o metabolismo, também tem sido utilizada no período de transição, na tentativa de melhorar o retorno à atividade reprodutiva pós-parto. A metionina, por exemplo, desempenha um papel direto na síntese de lipoproteínas de baixa densidade (VLDL) em bovinos (Auboiron *et al.*, 1995), diminuindo os efeitos negativos da acumulação de ácidos graxos no fígado (Drackley, 1999). Além disso, o aumento da biodisponibilidade de metionina em vacas suplementadas com metionina protegida da degradação ruminal (MPDR) (Graulet *et al.*, 2005) tende a aumentar a entrada de metionina no ciclo do metabolismo de 1-carbono, onde inicialmente pode ser convertida a s-adenosilmetionina (SAM), a molécula biológica mais importante em termos de doação de grupamentos metil (Martinov *et al.*, 2010). A disponibilidade de SAM é essencial no mecanismo de metilação do DNA, um processo biológico importante para a regulação da expressão gênica (Li and Zhang, 2014).

Por sua vez, a colina é um componente chave para a síntese das moléculas de fosfatidilcolina (FC) e acetilcolina (Pinotti *et al.*, 2002). A FC é essencial para manter a membrana estrutural das células (Davidson *et al.*, 2008), além da síntese hepática e secreção de VLDL (Cooke *et al.*, 2007). Quando a FC é o fator limitante, a suplementação com colina pode melhorar a taxa de síntese de VLDL e assim, evitar a acumulação excessiva de triacilglicerol (TAG) no fígado (Grummer, 2008).

A suplementação com metionina e colina no período de transição produz um “*dawn regulation*” dos genes pro-inflamatórios, possivelmente indicando um processo inflamatório menor no primeiro folículo dominante pós-parto (Velasco-Acosta *et al.* 2017) Além disso, a suplementação com metionina aumentou a expressão do gene *3B-HSD*, que, junto com uma maior expressão do receptor de LH, estão relacionados com a seleção do folículo dominante em bovinos (Bao and Garverick, 1998). Além disso, uma maior expressão de *3B-HSD* pode ser

benéfica, pois é essencial para a biossíntese de todas as classes de hormônios esteroides, incluído progesterona e estrógenos (Boerboom and Sirois, 2001).

## 2. Nutracêuticos na saúde uterina pós-parto

A retenção de placenta, metrite e endometrite são doenças decorrentes do comprometimento da função imunológica e podem ter efeitos negativos duradouros na saúde uterina (LeBlanc, 2008). Reduzir o risco de distúrbios metabólicos melhorando a função hepática e aumentando a função imunológica no período de transição é a chave para uma melhor saúde reprodutiva. O uso de estratégias de suplementação nutricional com nutrientes funcionais, visando aumentar a imunocompetência geral e a função dos neutrófilos, é uma forma atraente para controlar infecções uterinas (Cullens *et al.*, 2004).

Vacas que receberam uma suplementação combinada de metionina e colina não apresentaram incidência de retenção de placenta e tiveram uma menor descarga mucopurulenta (Skenandore *et al.*, 2017), indicando que o uso de estratégias nutricionais no período do parto pode ser benéfico para a saúde uterina pós-parto. Além disso, a suplementação com MPDR resulta em uma melhora da função imunológica uterina devido a uma melhora na morfologia glandular e a um aumento no número de infiltração de neutrófilos após o parto (Stella *et al.*, 2018). Assim mesmo, as vacas tratadas com MPDR durante o período de transição apresentam uma menor expressão de mRNA dos genes *IL6*, *IL8*, *1LB*, *PTGES3*, *TSPO*, *SOD1* e *MUC1*, todos envolvidos nos processos inflamatórios, isto durante os primeiros 15 dias após o parto, indicando um ambiente uterino com menor inflamação, e dessa forma refletindo em um melhor mecanismo de resiliência uterina e capacidade para prevenir o aparecimento de doenças no útero (Guadagnin *et al.*, 2021). Ainda, a suplementação com MPDR durante o período de transição produz uma maior expressão de mRNA de *FGF7*, *MATA1A*, *LCAT* e *SAAH*, demonstrado que também pode estar envolvido no metabolismo dos nutrientes no interior das células, assim como nos processos de proliferação celular que são cruciais para a regeneração uterina e preparação para concepção (Guadagnin *et al.*, 2021).

Por outro lado, os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) modulam o metabolismo celular, além de servirem como fonte de energia. Assim, foi relatado que os PUFA influenciam a expressão gênica em diferentes tecidos (Peterson *et*

*al.* 2003), incluindo as células endometriais (Mattos *et al.*, 2004; Bilby *et al.*, 2006b), e os hepatócitos (Selberg *et al.*, 2005). Além disso, a suplementação com sal de cálcio enriquecido com ácidos linoléico e trans-octadecenóico durante o período de transição melhora a fertilidade das vacas, possivelmente, por meio da melhora na qualidade do embrião, a saúde uterina ou ambos (Juchem *et al.*, 2010). Dessa forma, vacas que têm uma suplementação estratégica no período de transição podem apresentar uma melhor resposta metabólica-inflamatória, o que pode levar a melhora na saúde uterina pós-parto.

### 3. Nutracêuticos e desenvolvimento embrionário

O uso de nutracêuticos tem recebido uma crescente atenção pela sua melhoria da saúde, bem-estar e produtividade animal. O uso de estratégias nutracêuticos como a metionina tem-se mostrado importantes na produtividade de vacas leiteiras. Metionina é o amino ácido mais limitante em vacas em lactação (NRC, 2001), mas a suplementação de dietas com metionina foi excluída porque a metionina livre é quase totalmente degradada pelos microrganismos no rúmen (NRC, 2001). Em contraste, a suplementação com MPDR tem um efeito positivo na síntese de proteína do leite em vacas leiteiras. Embora o papel da metionina no desenvolvimento embrionário bovino não seja completamente conhecido, há evidências de que a disponibilidade da metionina altera o transcriptoma de embriões bovinos *in vivo*. Além disso, a suplementação com MPDR pode afetar a metilação global do DNA e acúmulo de lipídios em embriões (Velasco-Acosta *et al.*, 2016), indicando que a adição de metionina parece impactar o embrião de uma forma que aumenta sua capacidade de sobrevivência, uma vez que há fortes evidências de que as reservas lipídicas endógenas servem como substrato energético.

No estágio inicial da atividade metabólica embrionária, há uma capacidade limitada do embrião para metabolizar a glicose e, dessa forma, tanto o piruvato, como o lactato e os aminoácidos tornam-se os substratos energéticos críticos (Carrillo-González *et al.*, 2021). Carnitina (3-hidroxi-4-N-trimetilamôniobutanoato) é uma molécula essencial solúvel em água com múltiplas funções no corpo (Almannai *et al.*, 2019). Possui dois estereoisômeros: L-carnitina bioativa e isômero enantiomérico abiótico D-carnitina. A L-carnitina desempenha um papel vital no metabolismo celular, associada ao transporte de

ácidos graxos para a mitocôndria para a geração de ATP (Carrillo-González *et al.*, 2021). A adição de L-carnitina em meios de produção *in vitro* de embriões aumenta a taxa de final de blastocistos, aparentemente melhorando sua competência de desenvolvimento (Ghanem *et al.*, 2011; Hwang and Hochi, 2014). A L-carnitina também melhora a sobrevivência dos embriões submetidos a vitrificação/aquecimento, (Ghanem *et al.*, 2011; Ghanem, 2015). Porém, o uso de nutracêuticos *in vivo* e seu efeito sobre o desenvolvimento embrionário não tem sido amplamente avaliado.

#### 4. Referências

ALMANNAI, M.; ALFADHEL, M.; EL-HATTAB, A. W. **Carnitine inborn errors of metabolism. *Molecules***, 24:3251, 2019.

AUBOIRON, S.; D. DURAND, J. C.; ROBERT, M. J.; CHAPMAN; D. BAUCHART. Effects of dietary fat and L-methionine on the hepatic metabolism of very low density lipoproteins in the preruminant calf, *Bos spp.* **Reproduction, Nutrition, Development**, v. 35, n. 2, p.167-178, 1995.

BAO, B.; GARVERICK, H. A. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1903-21,1998.

BAUMAN, D. E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 12, p. 3432-3451,1992.

BAUMAN, D.E. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application. **Domest Animal Endocrinol**, 17:101-16, 1999.

BEAM, S. W.; BUTLER, W. R. Energy Balance, Metabolic Hormones, and Early Postpartum Follicular Development in Dairy Cows Fed Prilled Lipid. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 7, p. 121-131, 1998.

BOERBOOM, D.; SIROIS, J. Equine P450 cholesterol side-chain cleavage and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta(5)-delta(4) isomerase: molecular cloning and regulation of their messenger ribonucleic acids in equine follicles during the ovulatory process. **Biology of Reproduction**, 64:206-15, 2001.

BUTLER, W. R.; SMITH, B. A. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 767-783, 1989.

CARRIQUIRY, M.; WEBER, W. J.; DAHLEN, C. R.; LAMB, G. C.; BAUMGARD, L. H.; CROOKER, B. A.; Production response of multiparous Holstein cows treated with bovine somatotropin and fed diets enriched with n-3 or n-6 fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 4852-4864, 2009.

CARRILLO-GONZÁLEZ, D. F.; DARWIN, Y.; HERNÁNDEZ-HERRERA; JUAN, G. M-E. The role of L-carnitine in bovine embryo metabolism. A review of the effect of supplementation with a metabolic modulator on in vitro embryo production, **Animal Biotechnology**, 2021.

CHAPINAL, N.; CARSON, M. E.; LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; GODDEN, S.; CAPEL, M.; SANTOS, J. E.; OVERTON, M. W.; DUFFIELD, T. F. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1301-1309, 2012.

COOKE, R. F.; SILVA DEL RIO, N.; CARAVIELLO, D. Z.; BERTICS, S. J.; RAMOS, M. H.; GRUMMER, R. R.. Supplemental choline for prevention and alleviation of fatty liver in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 5, p. 2413-2418, 2007.

CULLENS, F. M.; STAPLES, C. R.; BILBY, T. R.; SILVESTRE, F.; BARTOLOME, J.; SOZZI, A.; *et al.* Effect of timing of initiation of fat supplementation on milk production, plasma hormones and metabolites, and conception rates of Holstein cows in summer. **Journal of Dairy Science**, v. 87 (Suppl 1), p. 308, 2004.

DAVIDSON, S.; HOPKINS, B. A.; ODLE, J.; BROWNIE, C.; FELLNER, V.; L. WHITLOW, W. Supplementing limited methionine diets with rumen-protected methionine, betaine, and choline in early lactation Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n.4, p.1552-1559, 2008.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2259-2273, 1999.



DRACKLEY, J. K.; OVERTON, T.R.; DOUGLAS, G.N. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 100-112, 2001.

DUBUC, J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S.; LEBLANC, S.J. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 5764-5771, 2010.

FENWICK, M. A.; LLEWELLYN, S.; FITZPATRICK, R.; KENNY, D. A.; MURPHY, J. J.; PATTON, J.; WATHES, D. C. Negative energy balance in dairy cows is associated with specific changes in IGF-binding protein expression in the oviduct. **Reproduction**, v. 135, n. 1, p. 63–75, 2008.

GHANEM, N.; SALILEW-WONDIM, D.; GAD, A.; et. al. Bovine blastocysts with developmental competence to term share similar expression of developmentally important genes although derived from different culture environments. **Reproduction**, v. 142, n. 4, p.551–564, 2011.

GHANEM, N. L-carnitine improved bovine blastocyst rate and quality when supplemented at different preimplantation stages. **Egyptian Journal of Animal Production**, v. 52, n. 2, p. 82–89, 2015.

GRAULET, B.; RICHARD, C.; ROBERT, J. C. Methionine availability in plasma of dairy cows supplemented with methionine hydroxy analog isopropyl ester. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 10, p. 3640-3649, 2005.

GREEN, J. C., MEYER, J. P.; WILLIAMS, A. M.; NEWSOM, E. M.; KEISLER, D. H.; LUCY, M. C. Pregnancy development from day 28 to 42 of gestation in postpartum Holstein cows that were either milked (lactating) or not milked (not lactating) after calving. **Reproduction** v. 143, n. 5, p. 699-711, 2012.

GRUMMER, R. R. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. **Veterinary Journal**, v. 176, n.1, p. 10-20, 2008.

GULAY, M. S; HAYEN, M. J.; LIBONI, M.; BELLOSO, T. I.; WILCOX, C. J.; HEAD, H.H. Low doses of bovine somatotropin during the transition period and early lactation improves milk yield, efficiency of production, and other physiological responses of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 948-960, 2004.

GUADAGNIN, A. R.; VELASCO-ACOSTA, D. A.; STELLA, S. L.; LUCHINI, D.; CARDOSO, F. C. Methionine supply during the peripartum period and early lactation alter immunometabolic gene expression in cytological smear and endometrial tissue of holstein cows. **Theriogenology**. Oct 1, p. 173:102-111, 2021.

HWANG, I. S.; HOCHI, S. Recent progress in cryopreservation of bovine oocytes. **BioMed Research International**, 1–11, 2014.

JIANG, H.; LUCY, M. C. Variants of the 5'-untranslated region of the bovine growth hormone receptor mRNA: isolation, expression and effects on translational efficiency. **Gene**, v.265, n.1-2, p. 45-53, 2001.

JORRITSMA, R.; JORRITSMA, H.; SCHUKKEN, Y.H.; WENTINK, G. H. Relationships between fatty liver and fertility and some periparturient diseases in commercial Dutch dairy herds. **Theriogenology**, v. 54, p. 1065-1074, 2000.

JUCHEM, S.; CERRI, R.; VILLASEÑOR, M.; GALVÃO, K.; BRUNO, R.; RUTIGLIANO, H.; DEPETERS, E.; SILVESTRE, F.; THATCHER, W.; SANTOS, J. Supplementation with Calcium Salts of Linoleic and trans-Octadecenoic Acids Improves Fertility of Lactating Dairy Cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, p. 55-62, 2010.

KAWASHIMA, C.; FUKIHARA, S.; MAEDA, M.; KANEKO, E.; MONTOYA, C. A.; MATSUI, M. et al. Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows. **Reproduction**, v. 133, n.1, p.155-163, 2007a.

KAWASHIMA, C.; SAKAGUCHI, M.; SUZUKI, T.; SASAMOTO, Y.; TAKAHASHI, Y.; MATSUI, M.; MIYAMOTO, A. Metabolic profiles in ovulatory and anovulatory primiparous dairy cows during the first follicular wave postpartum. **The Journal of Reproduction and Development**, v.53, n.1, p. 113-120, 2007b.

KOMARAGIRI, M.V.; ERDMAN, R. A. Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. 1. Effect of dietary protein on mobilization of body fat and protein. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 929-37, 1997.

LANDAU, S.; BRAW-TAL, R.; KAIM, M.; BOR, A; BRUCKENTAL, I. Preovulatory follicular status and diet affect the insulin and glucose content of follicles in high-

yielding dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 64, n. 3-4, p. 181-197, 2000.

LEBLANC, S. J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. **Veterinary Journal**, v. 176, p. 102-114, 2008.

LEROY, J. L.; VANHOLDER, T.; DELANGHE, J. R.; OPSOMER, G.; VAN SOOM, A.; BOLS, P. E.; et. al. Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum. **Theriogenology** v. 62, n. 6, p. 1131-1143, 2004.

LI, E.; ZHANG, Y. DNA methylation in mammals. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, 6(5):a019133, 2014.

LUCY, M. C.; STAPLES, C. R.; MICHEL, F. M.; THATCHER, W. W. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n.2, p. 473-482, 1991.

MAMLUK, R.; GREBER, Y.; MEIDAN, R. Hormonal regulation of messenger ribonucleic acid expression for steroidogenic factor-1, steroidogenic acute regulatory protein, and cytochrome P450 side-chain cleavage in bovine luteal cells. **Biology of Reproduction**, v. 60, n. 3, p. 628-634, 1999.

MARTINOV, M. V.; VITVITSKY, V. M.; BANERJEE, R.; ATAULLAKHANOV, F. I. The logic of the hepatic methionine metabolic cycle. **Biochimica et Biophysica Acta** v. 1804, n.1, p. 89-96, 2010.

MAZERBOURG, S.; BONDY, C. A.; ZHOU, J.; MONGET, P. The insulin-like growth factor system: a key determinant role in the growth and selection of ovarian follicles? a comparative species study. **Reproduction in Domestic Animals**, v.38, n. 4, p. 247-258, 2003.

MONNIAUX, C. V.; WEBB, R. Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. **Reproduction, Fertility, and Development**, v. 23, n.3, p. 444-467, 2011.

NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle** 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC. 2001.

ORDWAY, R. S.; BOUCHER, S. E.; WHITEHOUSE, N. L.; SCHWAB, C. G.; SLOAN, B. K. Effects of providing two forms of supplemental methionine to periparturient Holstein dairy cows on feed intake and lactational performance. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 5154-66, 2009.

PINOTTI, L.; BALDI, A.; DELL'ORTO, V. Comparative mammalian choline metabolism with emphasis on the high-yielding dairy cow. **Nutrition Research Reviews**, v. 15, n. 2, p. 315-332, 2002.

PORETSKY, L.; KALIN, M. F. The gonadotropic function of insulin. **Endocrine Reviews** v. 8, n. 2, p. 132-141, 1987.

PISULEWSKI, P. M.; RULQUIN, H.; PEYRAUD, J. L.; VERITE, R. Lactational and systemic responses of dairy cows to postruminal infusions of increasing amounts of methionine. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 1781-91, 1996.

PUTNAM, D. E.; VARGA, G. A.; DANN, H. M. Metabolic and production responses to dietary protein and exogenous somatotropin in late gestation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 982-995, 1999.

REIST, M.; KOLLER, A.; BUSATO, A.; KUPFER, U.; BLUM, J.W. First ovulation and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows. **Theriogenology**, v. 54, p. 685-701, 2000.

SCARAMUZZI, R. J.; BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; DRIANCOURT, M. A.; DUPONT, J.; FORTUNE, J. E.; et. al. Effect of prepartum somatotropin injection in late-pregnant Holstein heifers on metabolism, milk production and postpartum resumption of ovulation. **Animal**, v. 6, p. 935-940, 2011.

SILVA, J. M.; PRICE, C. A. Insulin and IGF-I are necessary for FSH-induced cytochrome P450 aromatase but not cytochrome P450 side-chain cleavage gene expression in oestrogenic bovine granulosa cells in vitro. **The Journal of Endocrinology** v. 174, n. 3, p. 499-507, 2002.

SKENANDORE, C. S.; ACOSTA, D. A. V.; ZHOU, Z.; RIVELLI, M. I.; CORRÊA, M. N.; LUCHINI, D.N.; CARDOSO, F.C. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation on vaginal discharge and uterine cytology of Holstein cows, **International Journal of Veterinary Science and Medicine**, v.5, p. 1-7, 2017.

STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; CLARK, J. H. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 938-947, 1990.

STELLA, S. L.; VELASCO-ACOSTA, D. A.; SKENANDORE, C.; ZHOU, Z.; STEELMAN, A.; LUCHINI, D.; CARDOSO, F. C. Improved uterine immune mediators in Holstein cows supplemented with rumen-protected methionine and discovery of neutrophil extracellular traps (NET). **Theriogenology**, Jul 1;114:116-125, 2018.

STEWART, R. E., SPICER, L. J.; HAMILTON, T. D., KEEFER, B. E. Effects of insulin-like growth factor I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor I and luteinizing hormone. **Journal of Animal Science** v. 73, n. 12, p. 3719-3731, 1995.

SWARTZ, T. H.; MOALLEM, U.; KAMER, H.; KRA, G.; LEVIN, Y.; MAMEDOVA, L. K.; BRADFORD, B. J.; ZACHUT, M. Characterization of the liver proteome in dairy cows experiencing negative energy balance at early lactation, **Journal of Proteomics**, v.246, 104308, 2021.

VANHOLDER, T.; LEROY, J. L.; SOOM, A. V.; OPSOMER, G.; MAES, D.; CORYN, M.; KRUIF, A. Effect of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cell steroidogenesis and proliferation in vitro. **Animal Reproduction Science**, v. 87, n. 1-2, p. 33-44, 2005.

VELASCO-ACOSTA, D. A.; DENICOL, A. C.; TRIBULO, P.; RIVELLI, M. I.; SKENANDORE, C.; ZHOU, Z.; et. Al. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation on the preimplantation embryo in Holstein cows, **Theriogenology**, v.85, n. 9, p.1669-1679, 2016.

VELASCO-ACOSTA, D. A.; PFEIFER, L. F. M.; SCHMITT, E.; SCHNEIDER, A.; SILVEIRA, P. A.; JACOMETO, C. B.; *et al.* Effect of prepartum somatotropin injection in late pregnant Holstein heifers with high body condition score on metabolic parameters, resumption of ovulation and milk production. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 93, p. 287-292, 2013.

VELASCO-ACOSTA, D. A.; SCHNEIDER, A.; JACOMETO, C. B.; RINCON, J. A.; CARDOSO, F.; CORREA, M. N. Effect of bovine somatotropin injection in late

pregnant Holstein heifers on metabolic parameters and steroidogenic potential of the first postpartum dominant follicle. **Theriogenology**, v. 104, p. 164-172, 2017.

VELASCO-ACOSTA, D. A.; RIVELLI, M. I.; SKENANDORE, C.; ZHOU, Z.; KEISLER, D. H.; LUCHINI, D.; CORRÊA, M. N.; CARDOSO, F. C. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation on steroidogenic potential of the first postpartum dominant follicle and expression of immune mediators in Holstein cows, **Theriogenology**, v.96, p.1-9, 2017.

WATHES, D. C., CHENG, Z.; FENWICK, M. A.; FITZPATRICK, R.; PATTON, J. Influence of energy balance on the somatotrophic axis and matrix metalloproteinase expression in the endometrium of the postpartum dairy cow. **Reproduction**, v.141, n. 2, p. 269-281, 2011.

## **Autor**

Diego Andres Velasco-Acosta

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Agrosavia. Centro de Investigación Tibaitatá. Km. 14, vía Mosquera - Bogotá, Mosquera - Cundinamarca, Colombia.