

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**PRODUÇÃO LEITEIRA EM CABRAS DA RAÇA SAANEN:
INFLUÊNCIA DOS HORMÔNIOS CORTISOL E IGF-I**

Thiago Ferreira Gonçalves Delgado

Orientador: Prof. Dr. João Alberto Negrão

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia (Produção Animal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Dezembro de 2008

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

THIAGO FERREIRA GONÇALVES DELGADO – nasceu em 27 de setembro de 1983 em Campinas-SP, Brasil, filho de Marta Madalena Ferreira Delgado e Geraldo Gonçalves Delgado Filho. Após o término do curso de técnico químico na “Escola Técnica Conselheiro Antonio Prado” – ETECAP, ingressou na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, campus de Pirassununga, no curso de graduação em Zootecnia em março de 2002, concluindo-o em julho de 2006. Foi estagiário do Laboratório de Fisiologia Animal da FZEA, no qual participou de vários experimentos e realizou sua iniciação científica. No mesmo mês que concluiu a graduação iniciou o mestrado no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus Jaboticabal.

SUMÁRIO

	Página
SUMÁRIO.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE QUADROS	viii
RESUMO	ix
SUMMARY	x
I INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVOS.....	2
1.1.1 Geral.....	2
1.1.2 Específicos	3
II REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 HORMÔNIO DE CRESCIMENTO.....	4
2.2 UTILIZAÇÃO DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO NA CAPRINOCULTURA..	5
2.3 INFLUÊNCIA E RELAÇÃO DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO COM OUTROS HORMÔNIOS	6
2.4 GH E COMPOSIÇÃO DO LEITE.....	7
2.5 CORTISOL.....	8
2.6 INFLUÊNCIA DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA GLÂNDULA MAMÁRIA	10
III MATERIAL E MÉTODOS	12

3.1	ANIMAIS EXPERIMENTAIS E ALIMENTAÇÃO.....	12
3.2	ORGANIZAÇÃO GERAL.....	13
3.2.1	Grupos Experimentais	13
3.3	DETALHAMENTO DA 1ª FASE EXPERIMENTAL – DESENVOLVIMENTO ...	18
3.3.1	Tratamento com bST	18
3.3.2	Desafio	19
3.3.3	Colheitas	19
3.3.4	Análises de Metabólitos e Hormônios.....	20
3.3.5	Medidas de Teto.....	21
3.3.6	Análises Estatísticas.....	23
3.4	DETALHAMENTO DA 2ª FASE EXPERIMENTAL – GESTAÇÃO	25
3.4.1	Medidas de Teto e Úbere	25
3.4.2	Análises Estatísticas.....	29
3.5	DETALHAMENTO DA 3ª FASE EXPERIMENTAL – LACTAÇÃO.....	30
3.5.1	Ordenha	30
3.5.2	Tratamento com bST	30
3.5.3	Desafio	31
3.5.4	Coleta de Dados.....	31
3.5.5	Análises de Metabólitos e Hormônios.....	32
3.5.6	Coleta de Leite	32
3.5.7	Análises Estatísticas.....	33
IV	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1	HORMÔNIOS E METABÓLITOS – TRATAMENTOS COM GH/PLACEBO	34

4.1.1	IGF-1	34
4.1.2	CORT	35
4.1.3	Glicose	36
4.1.4	Proteína.....	37
4.2	HORMÔNIOS E METABÓLITOS – DESAFIOS COM ACTH	39
4.2.1	IGF-1	39
4.2.2	CORT	41
4.2.3	Glicose	45
4.2.4	Proteína.....	45
4.3	COMPOSIÇÃO E PRODUÇÃO DE LEITE.....	47
4.3.1	Lactose.....	47
4.3.2	CCS.....	50
4.3.3	Gordura	50
4.3.4	Sólidos Totais.....	52
4.3.5	Proteína.....	52
4.3.6	Produção de Leite	53
4.4	MORFOMETRIA EXTERNA E INTERNA DE TETO E ÚBERE NO DESENVOLVIMENTO (1ª FASE)	56
4.5	MORFOMETRIA EXTERNA DE TETO E ÚBERE NA GESTAÇÃO (2ª FASE)	58
4.6	MORFOMETRIA DE TETO E ÚBERE NA GESTAÇÃO (2ª FASE) POR ULTRA- SONOGRAFIA.....	64
V	CONCLUSÕES	68
VI	REFERÊNCIAS.....	69

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Esquema de colheitas de sangue, desafio e morfometria da 1ª Fase do Experimento 1	16
Figura 2. Esquema das morfometrias da 2ª Fase do Experimento 1.	16
Figura 3. Esquema de colheitas de sangue, de leite e desafio com ACTH na 3ª Fase do Experimento 1.	17
Figura 4. Procedimento de coleta de sangue e aplicação de ACTH/Placebo durante os dias de desafio.	20
Figura 5. Fotos e figuras de imagens de ultra-sonografias.	28
Figura 6. Gráficos das concentrações médias dos hormônios GH e ACTH, e dos metabólitos Glicose e Proteína, do sangue de cabritas e cabras tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo. Resultados das colheitas realizadas durante os desafios da 1ª e 3ª Fase respectivamente: A e B – Cortisol; C e D – IGF-1; E e F – Glicose; G e H – Proteína. G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH). Letras iguais, não diferem entre si ($p>0,05$).	41
Figura 7. Gráficos das concentrações médias dos componentes e produção do leite de cabras tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo. A – Gordura; B – Proteína; C – CCS; D – Lactose; E – Sólidos Totais; e F – Produção. G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH).	49

Figura 8. Queda de produção de leite de cabras tratadas com GH/Placebo.....	55
Figura 9. Medidas externas realizadas ao final do tratamento com GH/placebo de cabritas da raça Saanen. Letras iguais, não diferem entre si ($p>0,05$).	56
Figura 10. Medidas de imagens de ultra-som realizadas ao final do tratamento com GH/placebo de cabritas da raça Saanen. Letras iguais, não diferem entre si ($p>0,05$).	57
Figura 11. Gráficos das morfometrias externas realizadas durante a gestação das cabritas tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo. A – Comprimento de Teto; B – Diâmetro de Teto; C – Distância Entre Tetos; D – Distância do Teto ao Solo; E – Perímetro de Úbere; e F – Profundidade de Úbere. G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH).....	59
Figura 12. Gráficos das morfometrias, por ultra-sonografia, realizadas durante a gestação das cabritas tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo. A – Comprimento de Teto; B – Diâmetro de Teto; C – Espessura de Parede de Teto Tetos; D – Comprimento de Canal de Teto; E – Área de Cisterna de Teto; e F – Área de Cisterna de Úbere. G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH).....	65

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Concentrações médias de hormônios e metabólitos de fêmeas caprinas tratadas com GH/Placebo, média por coleta, na 1ª e 3ª Fase.....	34
Tabela 2. Concentrações médias de hormônios de fêmeas caprinas tratadas com GH/Placebo e desafiadas com ACTH/Placebo, média por grupo, na 1ª e 3ª Fase.....	35
Tabela 3. Composição do leite, por grupo, de cabras tratadas com GH/Placebo e desafiadas com ACTH/Placebo.	48
Tabela 4. Composição do leite, por semana, de cabras tratadas com GH/Placebo e desafiadas com ACTH/Placebo.	48
Tabela 5. Produção média diária de leite de cabras tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo ao longo das 8 semanas de tratamento.	54
Tabela 6. Medidas de Teto realizadas durante a gestação de cabras Saanen tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo, média total dos grupos.	60
Tabela 7. Medidas de Úbere realizadas durante a gestação de cabras Saanen tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo, média total dos grupos.	60
Tabela 8. Medidas de teto realizadas durante a gestação de cabras Saanen tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo, média total dos meses.	62
Tabela 9. Medidas de úbere realizadas durante a gestação de cabras Saanen tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo, média total dos meses.	62
Tabela 10. Medidas de teto realizadas durante a gestação de cabras Saanen tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo. Medidas realizadas a partir de imagens de ultra-sonografia, média total dos meses.....	66

Tabela 11. Médias mensais das Áreas de Cisterna de Úbere (pixels) de cabras Saanen tratadas com GH/Placebo e com ACTH/Placebo.....	66
--	----

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1. Resumo das três fases do experimento.....	15
Quadro 2. Resumo explicativo das medidas em imagens de ultra-som.....	22
Quadro 3. Resumo explicativo das medidas e instrumentos utilizados para morfometria....	23
Quadro 4. Resumo explicativo das medidas em imagens de ultra-som.....	28
Quadro 5. Resumo explicativo das medidas e instrumentos utilizados nas mensurações externas.....	29

PRODUÇÃO LEITEIRA EM CABRAS DA RAÇA SAANEN: INFLUÊNCIA DOS HORMÔNIOS CORTISOL E IGF-I

RESUMO - A seleção de animais mais precoces e produtivos, e a melhoria da qualidade do leite são os principais objetivos dos caprinocultores. Com o objetivo de avaliar a interação de dois importantes hormônios, o Cortisol (CORT) e o Fator de Crescimento Análogo à Insulina -1 (IGF-1) na lactação, e suas possíveis influências no desenvolvimento da glândula mamária, produção e qualidade do leite, 38 cabritas (na 1ª fase do experimento) e 24 cabras (na 2ª e 3ª fase do experimento) Saanen divididas em quatro grupos (G1- tratadas com GH e desafiadas com ACTH; G2 – tratadas com GH e desafiadas com placebo; G3 – tratadas com placebo e desafiadas com ACTH; e G4 – tratadas com placebo e desafiadas com placebo). Ao longo de todo experimento foram realizadas coletas de sangue pontuais e durante os desafios, medidas morfométricas internas e externas de úbere e tetos foram realizadas e análises da composição do leite. Não houve diferença no desenvolvimento de úbere e tetos entre animais tratados e não tratados com GH, porém houve maior produção de leite pelos animais tratados, confirmando a eficiência do hormônio em promover maior persistência de lactação. Também houve uma resposta antagônica do IGF-1 ao CORT, durante o desafio das cabras na 3ª fase do experimento, resultado que pode indicar que animais adultos tratados com GH são menos suscetíveis ao estresse que os animais não tratados. O desafio com ACTH e o tratamento com GH não alteraram a composição do leite e a contagem de células somáticas.

Palavras – Chave: ACTH, GH, glândula mamária, morfometria, ultra-som

YIELD MILK IN SAANEN GOATS: INFLUENCE OF HORMONES CORTISOL AND IGF-I

SUMMARY - The selection of early animals and more productives, and improving the quality of milk are the main goals of goat breeders. With the objective of evaluating the interaction of two important hormones, cortisol (CORT) and the Insulin-Like Growth Factor -1 (IGF-1) in milk, and their possible influences on the development of the mammary gland, yield and quality of milk, 38 kid goats (the 1st. phase of the trial) and 24 goats (in the 2nd and 3rd phase of the trial) Saanen divided into four groups (G1- treated with GH (growth hormone) and challenged with ACTH (adrenocorticotrophic hormone), G2 - treated with GH and challenged with placebo; G3 - treated with placebo and challenged with ACTH, and G4 - treated with placebo and challenged with placebo). Throughout experiment samples of blood were collected, internal and external morphometric measures of udder and teats reviews were performed and were performed composition of milk. There were not differences in the development of udder and teats of animals treated and not treated with GH, but treated animals showing higher production than non treated goats, confirming the effectiveness of treatment with GH in promoting increase on persistence of lactation. There was also a response of IGF-1 antagonist to CORT, the challenge of goats during the 3rd phase of the experiment, result that may indicate that adults treated with GH are less susceptible to stress than the animals not treated. The challenge with ACTH and treatment with GH did not alter the composition of milk and somatic cell count.

Palavras – Chave: ACTH, GH, mammary gland, morphometry, ultrasound

I INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a produção leiteira tem aumentado gradualmente e o Brasil passou de importador a exportador de leite e produtos lácteos. Contudo, quando comparado a outros países o consumo de leite *in natura* e derivados no Brasil é baixo. Isto indica que existe um potencial para o crescimento do consumo interno para estes alimentos de excelente qualidade nutricional. Ao mesmo tempo, melhorias na qualidade do leite e dos produtos industrializados são necessários para atender as exigências dos mercados internacionais mais rentáveis. Pois na disputa por esses mercados, o produto brasileiro enfrenta países, reconhecidamente competentes neste setor, que exploram ao máximo nossas limitações.

Sem dúvida a melhor compreensão dos fenômenos fisiológicos relacionados à lactação são fundamentais e determinantes na evolução da qualidade do produto final, pois se relacionam diretamente com a produção e qualidade do leite obtido na ordenha mecanizada. Embora, o estresse seja importante em todo e qualquer processo de adaptação, promovendo respostas fisiológicas e comportamentais que permitem ao organismo priorizar energia para reconstituição de sua homeostasia. A somatória de diferentes fontes de estresse pode, a longo prazo, promover a manutenção de concentrações elevadas de cortisol (CORT) causando alterações metabólicas e imunológicas que reduzem a longevidade dos animais leiteiros. Em situações pontuais, algumas práticas de manejo têm sido relacionadas ao estresse influenciando negativamente a produtividade e a qualidade do leite produzido.

Deste modo, o estudo do estresse pode também trazer benefícios econômicos aos produtores que passam a adotar práticas de manejo que consideram o conceito de bem-estar animal. Por esta razão, a administração exógena do ACTH, que promove a liberação de CORT, vem sendo utilizada para mensurar a habilidade dos animais em suportar adequadamente as diferentes situações estressantes impostas ao longo da vida produtiva dos animais domésticos. Há algum tempo, estes estudos vem gerando

conhecimentos que permitem orientar e adequar o manejo dos animais leiteiros, melhorando assim seu bem-estar e produtividade.

Por outro lado, a administração exógena do hormônio de crescimento (GH) ou somatotropina (ST) é uma prática adotada por muitos produtores que pretendem produzir mais leite num determinado período. O GH também vem sendo utilizado em estudos que buscam otimizar o crescimento de várias espécies de ruminantes. Em parte, estes efeitos biológicos estão relacionados ao aumento da síntese e liberação hepática do IGF-1 pela ação direta do GH.

Atualmente, alguns autores também sugerem que o IGF-1 pode diminuir os efeitos deletérios impostos pelas situações estressantes. Cabe ressaltar, que em diferentes espécies de animais de laboratório, o IGF-1 vem sendo relacionado ao aumento da resistência ao estresse e aumento da longevidade dos animais. Aparentemente, as ações biológicas do IGF-1 se contrapõem diretamente as ações do CORT, caso esta hipótese se confirme durante a lactação, o IGF-1 pode ser utilizado para minimizar o efeito do estresse sobre a redução da quantidade e qualidade de leite produzido.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Monitorar os níveis dos hormônios CORT e IGF-1 em fêmeas caprinas da raça Saanen, procurando verificar se é possível relacionar os níveis de ACTH e GH a um maior desenvolvimento da glândula mamária; diminuição de estresse e a quantidade e qualidade do leite produzido.

1.1.2 Específicos

Avaliar uma possível ação antagônica entre os hormônios IGF-1 e CORT em cabritas (desenvolvimento) e cabras (lactação).

Avaliar a influência do tratamento com GH no desenvolvimento do úbere de cabritas Saanen.

Constatar a possibilidade de uso da ultra-sonografia como instrumento de medição de desenvolvimento de úbere e tetos em cabritas.

Verificar alterações na qualidade do leite de animais tratados com GH e desafiados com ACTH.

.

II REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HORMÔNIO DE CRESCIMENTO

A somatotropina (ST) ou hormônio de crescimento (GH) foi descoberta há mais de 70 anos, quando um extrato de pituitária foi preparado e injetado em ratos, resultando no aumento excessivo de seu crescimento (BAUMAN, 1992). O primeiro estudo que descreveu a ação da ST na produção leiteira foi realizado por um pesquisador russo em 1937, via injeção de um extrato de pituitária em vacas leiteiras (ASIMOV & KROUZE, 1937).

Após muitas tentativas, a produção da ST foi obtida pela técnica de DNA recombinante, sendo o primeiro produto comercial produzido pela engenharia genética (BAUMAN, 1992). Esta técnica permite a inclusão do gene responsável pela síntese de ST ao genoma de uma bactéria, esta passa então a produzir o hormônio semelhante ao animal doador do DNA. Assim em 1982, o primeiro experimento utilizando bST (Somatotropina Recombinada Bovina GH) em vacas de leite foi realizado, comprovando a eficiência do bST em aumentar a produção de leite (BAUMAN et al., 1982). Desde então pesquisadores iniciaram estudos sobre a utilização em larga escala do bST. Atualmente, o bST é utilizado por produtores de leite de diferentes países (Estados Unidos, Canadá, Brasil, México, Austrália, Nova Zelândia, entre outros).

Embora muitos artigos relatem a ação do hormônio de crescimento no metabolismo e na síntese láctea, este hormônio é apenas um dos fatores envolvidos neste complexo sistema que promove o direcionamento do metabolismo intermediário para a síntese do leite (SECHEN et al., 1989; KNIGHT et al., 1990). Assim a administração exógena do GH altera o funcionamento do eixo somatotrófico, modificando a síntese e liberação de um *pool* hormonal (GHRH, GH, IGF-1, IGFBP) que conjuntamente promove uma seqüência de efeitos biológicos que aumentam a produção leiteira em ruminantes (BALDI et al., 2002; AKERS, 2006). Esta sinergia de

efeitos fisiológicos é observada de forma mais eficiente em animais de alta produção, os quais possuem maior concentração de GH (BAUMAN et al., 1982; BAUMAN et al., 1985).

Considerando as correlações positivas existentes entre o aumento de glicose nas células da glândula mamária, síntese de lactose e produção de leite, é possível entender um dos mais importantes efeitos biológicos que promovem o aumento da síntese de leite, que é a mobilização energética, causada pelo GH (FAULKNER & PEAKER, 1987; NIELSEN & JAKOBSEN, 1993). Este reduz a ação inibitória da insulina sobre a síntese de glicose pelo fígado, e também aumenta a absorção da glicose pelos tecidos periféricos. Vários autores ressaltam, ainda, que o GH atua principalmente de forma indireta, modificando o metabolismo dos animais, facilitando os processos de lipólise e síntese protéica e dificultando simultaneamente a degradação protéica (DISENHAUS et al., 1992; BALDI, 1999). Desta forma é possível a manutenção da homeostasia do plasma sangüíneo e a alta produção de leite (BAUMAN, 1992). A suplementação com alimentos altamente energéticos e protéicos, não causa aumentos significativos na produção de leite, se não associados a um tratamento com IGF-1 (CANT et al., 1999).

2.2 UTILIZAÇÃO DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO NA CAPRINOCULTURA

A ação do GH em caprinos tem apresentado resultados divergentes. Segundo BARBOSA et al. (2002), o tratamento de cabras Alpinas com GH (250mg/animal/14 dias) durante a entressafra não influenciou na produção de leite dos animais. Porém, DISENHAUS et al. (1995) demonstraram que os efeitos do tratamento de cabras Saanen e Alpinas com GH (70mg/animal/14 dias) foram os mesmos observados em vacas, ocorrendo a manutenção da produção após o pico da curva de lactação, causada pelo direcionamento de componentes utilizados na síntese do leite (GALLO et

al., 1997; BAUMAN, 1999). Teoricamente, o GH também diminui a taxa de apoptose de tecidos mamários e retarda a involução do mesmo, aumentando a persistência da lactação de cabras (BALDI et al., 2002). Esta persistência da produção pode ser justificada por um aumento no fluxo sangüíneo de leite na glândula mamária das cabras e conseqüente aumento do aporte de nutrientes para a produção de leite (MEPHAN et al., 1984).

Além do seu efeito direto na produção, alguns estudos demonstraram outras ações do GH, por exemplo, RADCLIFF et al. (1997) experimentaram o tratamento com GH em novilhas em fase de crescimento pré-púbere, e observou um crescimento do tecido mamário 47% maior que o ocorrido nos animais do grupo controle. O mesmo autor sugere que é possível assim diminuir a idade a primeira lactação sem prejuízos ao tecido mamário. Em caprinos, o tratamento com bST também promoveu a proliferação das células epiteliais e reduziu sua taxa de apoptose durante a lactação (KNIGHT et al., 1990; STELWAGEN et al., 1993).

Em cabras submetidas a longos intervalos entre ordenhas, ocorre o aumento na liberação de IGFBP-5, proteína de ligação de IGF-1. Este mecanismo restringe a ação do IGF-1 apenas as células epiteliais. Desta forma, maiores concentrações de IGF-1 no sangue são interessantes para a maior produção de leite (TONNER et al., 1997).

2.3 INFLUÊNCIA E RELAÇÃO DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO COM OUTROS HORMÔNIOS

Alguns tipos de estresse foram relacionados à redução dos níveis plasmáticos de IGF-1, dentre estes fatores estressantes destacam-se parto, desmame, restrição alimentar e subnutrição (ELVINGER et al., 1992; RENNAVILLE et al., 2000). Embora, a administração exógena de glicocorticóide ter sido estudada em humanos e bovinos, existe controvérsia sobre a ação deste na concentração de IGF-1 (RENNAVILLE et al., 2002). Contudo, em animais de laboratório, a concentração plasmática de IGF-1 vem

sendo relacionado positivamente a longevidade dos animais, se contrapondo as ações do CORT (HOLZENBERGER, 2004). Deste modo, as alterações causadas pela administração exógena de GH, além de favorecer a lactogênese via ação do IGF-1, pode também, aparentemente, alterar a ação do ACTH e CORT, modificando a sensibilidade dos animais ao estresse. Porém, vacas em lactação tratadas com GH, em situações de estresse térmico tiveram maiores efeitos adversos que o grupo controle (ARMSTRONG, 1994; WEST, 1994; SETTIVARI, 2007); como por exemplo: maior temperatura retal e diminuição na concentração de leucócitos na circulação sanguínea periférica.

2.4 GH E COMPOSIÇÃO DO LEITE

Assim como ocorre com o leite de vaca, a composição físico-química do leite de cabra varia em função de múltiplos fatores, entre os quais se destacam a raça, a estação do ano, a idade do animal, a quantidade de leite produzida, condição corporal, fisiologia do animal, etc (FURTADO & POMBO, 1978; GUIMARÃES et al., 1989). Outro importante e conhecido fator de variação da composição do leite é a fase de lactação (AGANGA et al., 2002; PRASAD & SENGAR, 2002). Por esta razão encontramos diferentes resultados para a composição do leite de cabras da mesma raça e criadas na mesma região (JENNESS, 1980).

Em regiões de clima tropical, o leite produzido por cabras Saanen contém de 12,0 a 13,5% de sólidos totais; 3,4 a 4,6% de gordura; 2,7 a 3,4% de proteína bruta e 4,6 a 4,9% de lactose (JENNESS, 1980; PRATA et al., 1998; QUEIROGA et al., 2007).

A composição química do leite produzido por vacas tratadas com GH, sofre pequenas alterações, que apenas podem ser encontradas nas primeiras semanas de tratamento (BAUMAN, 1992). Porém, os resultados, encontrados na literatura científica, da composição química do leite de cabras tratadas com GH são muito divergentes. AMORIN et al. (2006) e CHADIO et al. (2000) reportaram aumento na concentração de

lactose no leite de cabras tratadas com GH, no mesmo experimento, CHADIO et al. (2000) apresentaram maiores concentrações de gordura no leite de animais tratados com GH. DISEHAUS et al. (1995) em experimento com cabras Alpinas, encontraram menor porcentagem de gordura e maior de proteína no leite dos animais tratados. Contudo CASTILLO & GUESTA (2008) obtiveram menores concentrações de proteína, gordura, lactose e sólidos totais no leite de cabras Alpinas cruzadas e tratadas com GH.

2.5 CORTISOL

Em geral, as principais respostas neuroendócrinas observadas em situações de estresse são: ativação do sistema nervoso autônomo (SNA), liberação de neurotransmissores noradrenérgico e colinérgico; ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), aumento nas concentrações plasmáticas do hormônio liberador de corticotrofina (CRH), adrenocorticotrófico (ACTH), noradrenalina, adrenalina e CORT (AXELROD & REISINE, 1984; MOSTL & PALME, 2002). Embora, as concentrações de todos estes hormônios, bem como de seus receptores ou das enzimas envolvidas em suas sínteses, venham sendo utilizados no estudo do estresse (AXELROD & REISINE, 1984; MOSTL & PALME, 2002), a variação do nível plasmático de CORT continua sendo utilizada como indicador universal de estresse, sendo que a elevação de sua concentração se contrapõe aos conceitos de conforto e bem-estar (MOBERG, 1987; BROOM, 1991; MOSTL & PALME, 2002). O CORT também inibe a síntese de IGF-1, assim como suas proteínas de ligação, diminuindo as concentrações de IGF-1 no plasma e sua eficiência (VEGA et al., 1991).

Nos últimos anos, pesquisas de ordem fisiológica vêm demonstrando que o estresse promove alterações metabólicas, imunológicas e comportamentais nos ruminantes (MOBERG, 1987; BROOM, 1991; NEGRÃO & MARNET 2003; NEGRÃO et al., 2006a). Vários autores têm estudado as respostas fisiológicas causadas pelo estresse utilizando a administração exógena de ACTH mensurando assim a habilidade

dos animais em responder ao estresse (FULKERSON & JAMIESON; 1982; NEGRÃO et al., 2004). Em experimento com cabritos da raça Angorá e Espanhola, tanto a administração de doses altas (2,5 U.I./kg de P.V.), quanto doses baixas (0,4 U.I./kg de P.V.) de ACTH promoveram respostas na concentração de CORT no sangue (TOERIEEN et al., 1999). Porém, estes estudos não consideraram nem a influência do estresse sobre a qualidade e a quantidade de leite produzido, nem sua influência sobre os níveis de IGF-1, que aparentemente, desempenham ações biológicas antagônicas àquelas atribuídas ao CORT.

Em muitas situações o manejo normal dos animais (desmame, vacinação, desverminação, pesagem, mudança de instalações, etc) pode ser associado ao estresse e aumento exponencial na concentração plasmática de ACTH e CORT (FULKERSON & JAMIESON, 1982; MARNET & NEGRÃO, 2000; RUSHEN et al., 2001). Contudo, o aumento do CORT plasmático, também pode ser relacionado a alguns estímulos positivos, por exemplo, a ordenha promove aumento do nível de CORT mesmo quando os animais apresentaram comportamentos que caracterizavam seu conforto (GOREWIT et al., 1992; TANCIN et al., 1995; NEGRÃO & MARNET, 2006b).

O aumento das concentrações de ACTH e CORT está associado às alterações metabólicas normais causadas pelo aumento da síntese de leite (TANCIN et al., 1995; MARNET & MCKUSICK, 2001). Todavia, quando os animais são submetidos a diferentes agentes estressores, o CORT aumenta e se mantém elevado, aumentando a lipólise e a formação de corpos cetônicos, reduzindo os níveis circulantes de glicose e alterando assim a reserva de glicogênio hepático. Estes fatos demonstram que a relação entre ACTH e CORT e a lactação ainda não estão bem estabelecidos (MAYER & LEFCOURT, 1987; MACUHOVÁ et al., 2002).

2.6 INFLUÊNCIA DO HORMÔNIO DE CRESCIMENTO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA GLÂNDULA MAMÁRIA

Características de úbere e glândula mamária têm sido indicadas como parâmetros de avaliação em programas de melhoramento genéticos tanto em vacas de leite (TEODORO et al., 2000), como em cabras (MILERSKI et al. 2006). Uma das medidas praticadas em vacas de leite é a de volume/área cisternal, esta informação é um dos parâmetros utilizados em programas de melhoramento genético. Isto, pois vacas possuem maior fração de leite alveolar, aproximadamente 80%, (KNIGHT & DEWHURST, 1994), que pode não ser liberado em situações de estresse (BRUCKMAIER et al., 1993; RUSHEN et al., 2001).

O tamanho da cisterna também influencia os mecanismos físicos e biológicos de *feedback* negativo quando esta recebe determinada pressão de leite (NUDDA et al., 2000). Com o aumento de síntese de leite há a distensão e conseqüentemente deformação das células (RICHARDSON, 1947), esta adaptação das células a um úbere cheio é um dos gatilhos para a redução de secreção diária de leite, involução da glândula mamária e fim da lactação (PEAKER, 1980). Porém, cabras possuem maior fração de leite cisternal, sendo sua produção menos afetada por maiores pressões no interior da cisterna, conseqüentemente as cabras suportam intervalos longos entre ordenhas, sem alterar significativamente a sua produção. Em cabras leiteiras, a porcentagem do leite obtido durante a ordenha de origem cisternal, varia entre 72% e 85% (ENDERSON & PEAKER, 1987; MARNET & MCKUSIC, 2001; FREIRIA, 2003). Deste modo, WÓJTOWSKI et al. (2002) demonstraram alta correlação entre área de cisterna, medida por meio de imagens de ultra-som e a produção de leite, em cabras.

Na última década, os estudos com glândula mamária desenvolveram técnicas de medição de características internas de úbere de cabras (WÓJTOWSKI et al., 2002), vacas (PORCIONATO, 2005) e ovelhas (BRUCKMAIER & BLUM, 1992) por meio da ultra-sonografia. A medida de área da cisterna por meio de imagens de ultra-sonografia não é invasiva, apresenta riscos diminutos de contaminação e é um método rápido

(PORCIONATO, 2005). Em cabras, a técnica também possui o mesmo potencial para a mensuração de área de cisterna e de outras estruturas (HENDERSON & PEAKER, 1987; MARNET & MCKUSIC, 2001; FREIRIA, 2003).

Além da mensuração de cisternas a ultra-sonografia também se mostra uma ferramenta muito eficiente para o estudo do desenvolvimento da glândula mamária, apresentando qualidade de imagens consideradas adequadas, sendo suficiente para a diferenciação visual de várias estruturas anatômicas (WÓJTOWSKI et al., 2006). Destas estruturas podemos mencionar as conformações de úbere e tetos, que possuem alta herdabilidade, sendo sugeridos como critérios importantes em programas de melhoramento genético (ROGERS & SPENCER, 1991). Em recente estudo realizado com ovelhas, MILERSKI et al. (2006) concluíram que características de úbere e tetos podem ser utilizadas como parâmetros em programas de melhoramento genético.

III MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fisiologia Animal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos FZEA/USP em Pirassununga, que apresenta clima tropical de altitude, está situada a 634 metros de altitude, localizado na latitude 22° 00' 00" sul e longitude 45° 25' 42" oeste, a umidade relativa média é de 73% e temperatura média é 23 °C.

3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS E ALIMENTAÇÃO

Foram utilizadas 38 cabritas da raça Saanen, saudáveis, com idade média de 134 ± 27 dias, peso médio de 20 ± 4 kg, nascidas de parto natural, que apresentaram peso ao nascimento compatível com seu padrão racial. As cabritas foram alojadas em 3 baias experimentais coletivas. Estas possuíam 72 m² de área total, sendo 20 m² de área coberta e com estrado de madeira.

Entre as 10 e 16 horas, o portão das baias permaneciam abertos e os animais tinham livre acesso a um piquete de braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.), que dispunha de sombra natural.

Os animais experimentais receberam feno, silagem e uma mistura de grãos (milho, casca de soja, soja extrusada) e, também, tiveram livre acesso à água e ao suplemento mineral e vitamínico para garantir que suas necessidades nutricionais fossem supridas, conforme preconizado pela AFRC (Technical Committee on Responses to Nutrients, 1997). Assim, todas as cabritas experimentais receberam uma dieta idêntica, e a quantidade desta dieta foi ajustada semanalmente ou quinzenalmente, de acordo com o AFRC, em função da idade, peso vivo e categoria dos animais experimentais.

3.2 ORGANIZAÇÃO GERAL

O experimento foi dividido em três fases, de acordo com o estágio fisiológico dos animais, sendo assim definidas:

A 1ª Fase definida como “Desenvolvimento” das cabritas, teve início aos 134 dias de idade e término aos 239 dias de idade. Nesta fase foram realizadas análises de metabólitos e hormônios no plasma sanguíneo, medidas morfométricas e acompanhamento do peso dos animais durante 3,5 meses.

A 2ª Fase definida como “Gestação” das cabritas, teve início após a confirmação de prenhez das cabritas, aos 366 dias de idade, e durou 120 dias (4 primeiros meses de gestação). Esta fase não estava inicialmente prevista, porém o desenvolvimento do úbere das cabritas foi insignificante ao longo da fase de “Desenvolvimento”. Assim, foram realizadas medidas morfométricas das cabritas e de seu úbere durante a gestação.

A 3ª Fase definida como “Lactação” das cabras, teve início após o pico de produção de leite (>35 dias após o parto), quando a idade média das cabras era de $\pm$ 495 dias. Novamente foi realizada a análise de metabólitos e hormônios no plasma sanguíneo. Nessa 3ª Fase, também foi analisada, a composição, produção e a contagem das células somáticas no leite produzido até o dia 100 de lactação.

Cabe ressaltar, que o experimento não teve por objetivo comparar as diferentes fases estudadas, mas sim verificar o efeito do tratamento com bST e do desafio com ACTH em cada fase estudada.

3.2.1 Grupos Experimentais

Ao longo do experimento, os animais foram alocados em quatro grupos homogêneos, a saber:

Grupo 1 - animais tratados com bST e desafiados com ACTH;

Grupo 2 - animais tratados com bST e desafiados com placebo (soro fisiológico);

Grupo 3 - animais tratados com placebo (óleo de gergelim) e desafiados com ACTH;

Grupo 4 - animais tratados com placebo e desafiados com placebo (grupo controle).

Embora, a organização desses grupos tenha sido mantida ao longo das três fases experimentais, as cabras experimentais receberam bST e ACTH apenas durante a 1ª e 3ª Fase. Pois, na 2ª Fase experimental (Gestação) nem o tratamento (bST) nem o desafio (ACTH) foram realizados. Um resumo da organização geral das três fases experimentais foi descrito no Quadro 1 e esquematizados nas Figuras 1, 2 e 3.

Quadro 1. Resumo das três fases do experimento

	1ª Fase Desenvolvimento	2ª Fase Gestação	3ª Fase Lactação
Tratamento com GH/Placebo	Sim	Não	Sim
Desafio com ACTH/Placebo	Sim	Não	Sim
Nº total de animais	38	24	24
Animais/grupo	9 ou 10	6	6
Idade dos animais (em dias)	±134	±366	±495
Colheitas e análises	Sangue Glicose Proteína IGF-1 CORT Morfometria Teto Ultra-som Comprimento Diâmetro Espessura de Parede Comp. de Canal Área de Cisterna Externa Comprimento Diâmetro Entre Tetos Teto ao Solo	Morfometria Teto Ultra-som Comprimento Diâmetro Espessura de Parede Comp. de Canal Área de Cisterna Externa Comprimento Diâmetro Entre Tetos Teto ao Solo Morfometria Úbere Ultra-som Área de Cisterna Externa Perímetro Profundidade	Sangue Glicose Proteína IGF-1 CORT Leite Produção Proteína Gordura Lactose Sólidos Totais CCS

Na 1ª Fase do experimento 1 realizamos 3 meses de tratamento com GH, colheitas de sangue nos dias 30, 38 e 84 de tratamento e a morfometria interna e externa de tetos foi realizada após 15 dias do final do tratamento. O desafio com ACTH foi realizado durante o tratamento das cabritas (Figura 1).

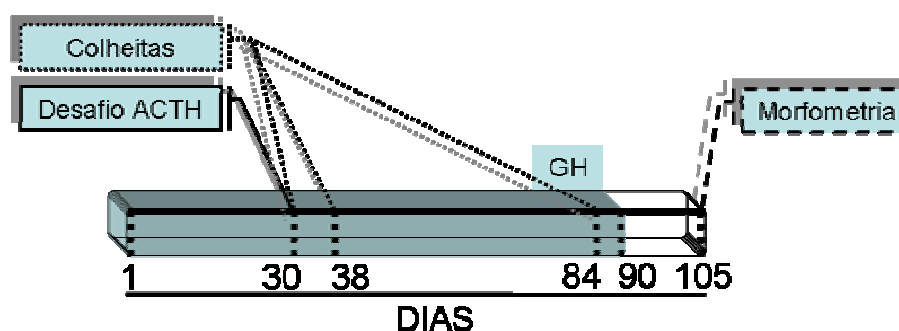


Figura 1. Esquema de colheitas de sangue, desafio e morfometria da 1ª Fase do Experimento 1

Na 2ª fase do experimento 1, a morfometria interna e externa de úbere e tetos foi realizada nos quatro primeiros meses de gestação e não houve tratamento com GH (Figura 2).

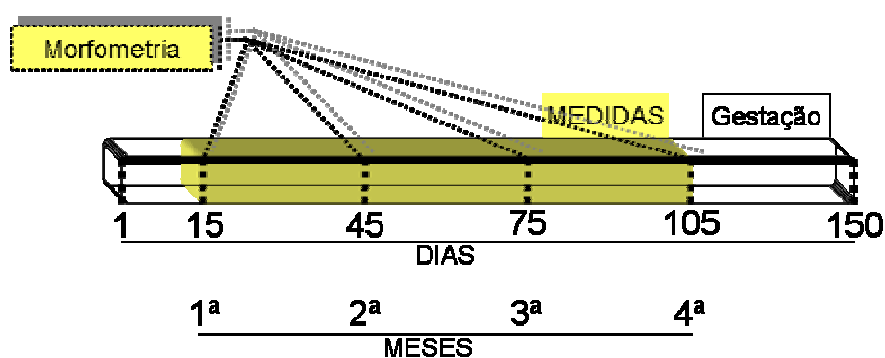


Figura 2. Esquema das morfometrias da 2ª Fase do Experimento 1.

Na 3ª fase do experimento 1 realizamos 2 meses de tratamento com GH, durante a lactação. As colheitas de sangue foram feitas nos dias 1 e 23 de tratamento; e colheitas de

leite foram realizadas quinzenalmente durante o tratamento. O desafio com ACTH foi realizado durante o tratamento com GH (Figura 3).

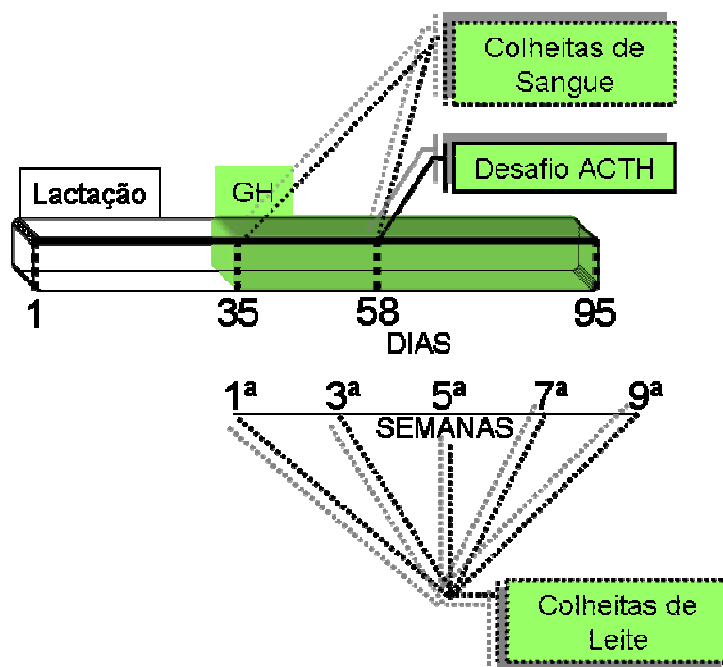


Figura 3. Esquema de colheitas de sangue, de leite e desafio com ACTH na 3ª Fase do Experimento 1.

3.3 DETALHAMENTO DA 1ª FASE EXPERIMENTAL – DESENVOLVIMENTO

Na fase de desenvolvimento foram utilizadas 38 cabritas da raça Saanen, com idade média de 134 ± 27 dias e peso médio de $20,4 \pm 4$ kg. Os grupos 1 e 3 possuíam 9 cabritas cada um, e os grupos 2 e 4 possuíam 10 cabritas cada um

Esta fase foi iniciada em 17 de janeiro de 2007, após a adaptação dos animais as condições experimentais e terminou em 2 de maio de 2007, após a morfometria de tetos das cabritas. Assim, a duração da 1ª Fase foi de aproximadamente 3,5 meses.

3.3.1 Tratamento com bST

As cabritas foram tratadas com o GH (bST - Lactotropin®) ou placebo (óleo de gergelim) semanalmente. A administração do GH ou Placebo foi iniciada em 17 de janeiro 2007 e a duração do tratamento foi de três meses.

A fim de possibilitar a administração adequada ao peso de cada animal, foi necessária a diluição do produto comercial Lactotropin® 500mg em óleo de gergelim; O qual é muito utilizado como veículo/excipientes para o bST, pois confere estabilidade térmica, liberação lenta e prolongada do bST (ELI LILLY AND COMPANY, 1990; ANDRADE et al., 1996; HARN et al., 2005).

O Lactotropin® 500mg foi diluído em 13,6 mL de óleo de gergelim, atingindo uma concentração de 33,33mg/mL. Esta solução foi preparada previamente ao tratamento, e semanalmente, as soluções eram colocadas em seringas com as quantidades específicas a cada animal ($700 \mu\text{g}$ de GH ou placebo/kg de PV), sendo aplicadas por via sub-cutânea, a cada 7 dias (DAVIS et al., 1999).

As cabras foram pesadas, semanalmente, para o acompanhamento do crescimento e adequação da dosagem de bST aplicado.

3.3.2 Desafio

Os animais dos grupos experimentais 1 e 3 foram submetidos a um estresse agudo padrão via administração exógena de ACTH (Sigma®). Estas cabritas receberam via intravenosa, 0,5µg de ACTH/kg de PV (FULKERSON & JAMIESON, 1982), e os grupos experimentais 2 e 4 receberam uma solução placebo de soro fisiológico. As soluções de ACTH e soro fisiológico foram preparadas e reservadas em seringas, com quantidades específicas ao peso de cada animal.

As aplicações de ACTH ou placebo foram realizadas no mesmo dia, horário (período da manhã - 8h.), condições ambientais e de modo a minimizar ao máximo o estresse causado pelo procedimento de aplicação da solução em si.

O desafio com ACTH ou placebo foi realizado 30 dias após o início do tratamento com GH, este desafio foi acompanhado de coletas de sangue.

3.3.3 Colheitas

As colheitas de sangue na 1ª Fase do experimento foram realizadas nos dias 30, 38 e 84 após o início do tratamento. Nos dias 38 e 84 foram realizadas colheitas de sangue, sendo uma amostra por animal. Porém no dia 30, foi administrado o ACTH (desafio), sendo colhidas 5 amostras por animal, nos seguintes tempos: -20 min. (20 minutos antes a aplicação do ACTH ou placebo), 0 min. (logo em seguida a esta colheita a aplicação era realizada), 60 min., 120 min. e 300 min.. Estes tempos foram escolhidos com base nos estudos de TOERIEN et al. (1999).

As colheitas de sangue foram iniciadas sempre às 8h. da manhã (ver Figura 4) . Após as colheitas, o sangue foi centrifugado e o plasma congelado até o momento da análise.



Os animais eram conduzidos para fora da baia. Para que fosse possível a coleta de sangue. A jugular foi a veia escolhida para a colheita.

Após a coleta, o animal era conduzido a sua baia, novamente.

Para as aplicações, também houve a necessidade de separação do animal, que era conduzido para fora da baia e contido. As aplicações de ACTH ou placebo foram realizadas, também, na veia jugular; por meio de seringas previamente preparadas.

As aplicações de ACTH ou placebo, durante o desafio, foram realizadas após a coleta de sangue do “Tempo 0”. Nos intervalos das coletas, os animais permaneciam em suas baias, a fim de influenciarmos o mínimo possível seu estresse, causado por toda a operação de colheita.

Figura 4. Procedimento de coleta de sangue e aplicação de ACTH/Placebo durante os dias de desafio.

3.3.4 Análises de Metabólitos e Hormônios

A partir das amostras de sangue coletadas, foi possível analisar as concentrações plasmáticas dos metabólitos (proteína total e glicose) e dos hormônios (IGF-1 e CORT).

As amostras de sangue recolhidas em tubos heparinizados, eram mantidas resfriadas. Ao final da colheita de sangue, os tubos com as amostras eram centrifugados a 3000 rpm, à 15 °C, durante 17 minutos para obtenção do plasma.

As mensurações de glicose e proteína total no plasma sanguíneo foram realizadas em kits de dosagens enzimáticas específicas (Laborlab) e executadas no Laboratório de Fisiologia Animal da FZEA/USP. A curva padrão de cada um destes metabólitos foi determinada utilizando-se 5 pontos. A leitura dos resultados foi feita em espectrofotômetro utilizando comprimento de onda de 505 nm para análise de glicose e 540 nm para análise de proteína total. A unidade de medida utilizada para as duas análises foi mg/dL.

As análises de IGF-1 e CORT plasmático, também, foram realizadas com kits imunoenzimáticos (Diagnostic Systems Laboratory Inc) e executadas no Laboratório de Fisiologia Animal da FZEA/USP. Para mensuração do IGF-1 uma curva padrão foi determinada utilizando-se 5 pontos com as concentrações variando de 0,5 a 580 ng/mL, a leitura dos resultados foi feita no mesmo aparelho, utilizado o mesmo comprimento de onda. Para mensuração do CORT uma curva padrão foi determinada utilizando-se 7 pontos com concentrações variando de 5 a 600 ng/mL, a leitura dos resultados foi feita em leitor do tipo Elisa (Multiscan MS, Labsystem) utilizando comprimento de onda de 450 nm. A unidade de medida utilizada na análise de IGF-1 e CORT foi ng/mL.

Os coeficientes intra e interensaio foram calculados para glicose, proteína total, IGF-1 e CORT. Todas as amostras foram analisadas em duplicatas e quando houve diferença superior a 10% entre seus valores individuais a amostra em questão foi analisada novamente.

3.3.5 Medidas de Teto

As medidas morfométricas de tetos foram realizadas 15 dias após o término do tratamento com GH, quando as cabritas estavam com ± 239 dias de idade.

Uma das técnicas de mensuração utilizadas foi a mensuração de imagens obtidas por ultra-sonografia, que possibilitou a realização de mensurações de estruturas anatômicas externas e internas de tetos. Com o intuito de padronizar as mensurações, todas as imagens foram obtidas do teto direito das cabritas.

Após testes com vários tipos de probe e diversas frequências, foi possível observar melhores imagens com o uso da probe retal linear e em frequência de 5 MHz. A técnica de ultra-sonografia foi semelhante à realizada por BRUCKMAIER & BLUM (1992).

A técnica consistiu em mergulhar o teto direito do animal dentro de um recipiente plástico e cilíndrico repleto de água, tentando manter o teto mais ao centro possível do recipiente. O contato da probe com o recipiente foi melhorado com o uso de gel, que proporcionou a obtenção de imagens mais nítidas, devido ao aumento da base de contato entre ambos. A probe foi mantida em posição perpendicular ao solo. Desta forma foi possível a coleta de imagens do teto inteiro dos animais.

Como os tamanhos das imagens são diretamente proporcionais à distância da probe ao teto, e nem sempre é possível mantê-la idêntica em todas as ultra-sonografias, foi realizada uma correção das medidas. Estas foram corrigidas de acordo com o comprimento de teto medido com o paquímetro externamente, e considerando a diferença entre as medidas por imagens de ultra-som e as medidas externas, foi possível corrigir o erro causado por diferentes distâncias da probe ao teto, durante a obtenção das imagens. Para as medições das imagens foi utilizado o programa Universal Desktop Ruler®, sendo possível a medição de comprimentos, diâmetros, espessuras e áreas de cisternas dos tetos nas imagens. A unidade de medida apresentada pelo programa foi o *pixel* (menor unidade de uma Imagem). As medidas realizadas foram descritas no Quadro 2.

Quadro 2. Resumo explicativo das medidas em imagens de ultra-som.

Medidas de Teto	Descrição
Comprimento	Distância da inserção do teto no úbere à sua extremidade.
Diâmetro	Diâmetro medido na metade do comprimento do teto.
Espessura de Parede	Distância entre a extremidade interna e externa da parede do teto.
Comprimento de Canal	Distância entre a extremidade interna e externa do canal do teto.
Área de Cisterna	Área de menor concentração de tecido no interior do teto.

Além da morfometria com imagens de ultra-som, também foi realizada a morfometria tradicional, realizada com medições externas. Estas mensurações foram realizadas com fita métrica para as medidas que se esperavam resultados maiores que dez centímetros, e paquímetro para as medidas cujos resultados esperados eram menores a dez centímetros. As medidas realizadas por morfometria externa foram descritas no Quadro 3.

Tanto as medidas realizadas a partir de imagens de ultra-som, quanto às realizadas com fita métrica e paquímetro, foram baseadas em medidas comumente utilizadas em pesquisas para avaliação de desenvolvimento de teto e úbere (MANFREDI et al. 2001).

Quadro 3. Resumo explicativo das medidas e instrumentos utilizados para morfometria.

Medidas de Teto	Descrição
Comprimento ^{PQ}	Distância da inserção do teto no úbere à sua extremidade.
Diâmetro ^{PQ}	Diâmetro medido na metade do comprimento do teto.
Entre Tetos ^{FM}	Distância entre inserção de um teto à inserção do outro.
Teto ao Solo ^{FM}	Distância da extremidade do teto ao solo, formando um ângulo reto.

^{PQ}: medidas realizadas com o auxílio de paquímetro, sendo a unidade de medida utilizada o milímetro.

^{FM}: medidas realizadas com o auxílio de fita métrica, sendo a unidade de medida utilizada o centímetro.

3.3.6 Análises Estatísticas

Para a análise dos resultados das concentrações plasmáticas de proteína, glicose, CORT e IGF-1; o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com 4 grupos (4 tratamentos), 9 ou 10 repetições, 5 tempos de coletas (-20, 0, 60, 120 e 300) e 3 dias de coleta. Para a morfometria foram considerados 4 grupos com 9 e 10 repetições.

Para as análises estatísticas dos resultados utilizou-se o PROC MIXED do SAS (SAS, 2003), através de análise de variância (ANOVA) e para os contrastes entre as

médias, utilizou-se o teste de Tukey. O nível de significância utilizado no experimento foi de 5%; todos os resultados experimentais foram apresentados com médias e erro padrão médios (S.E.M.).

3.4 DETALHAMENTO DA 2ª FASE EXPERIMENTAL – GESTAÇÃO

Para a realização desta fase e da 3ª Fase (lactação), foi necessário realizar a reprodução dos animais experimentais. Assim, todas as cabritas utilizadas na fase anterior e aptas a reprodução, foram submetidas a um manejo reprodutivo de cobertura natural controlada.

Após a confirmação de 24 cabritas prenhes, foi iniciada a 2ª Fase do experimento. Os animais iniciaram esta fase com idade média de 366 ± 28 dias e peso médio de $47,6 \pm 4$ kg. Os tratamentos experimentais utilizados na 2ª Fase foram idênticos aos utilizados na fase anterior, porém cada grupo experimental possuía apenas 6 animais. Esta fase foi iniciada em setembro e finalizada em dezembro de 2007.

3.4.1 Medidas de Teto e Úbere

A fim de comparar o desenvolvimento de tetos e úberes ao longo da gestação dos animais nos diferentes grupos, foram realizadas medidas que indicam o desenvolvimento de úbere e teto. A mensuração externa e por ultra-sonografia foi realizada mensalmente, ao longo dos quatro primeiros meses de gestação.

Os métodos de mensuração utilizados foram os mesmos descritos para a 1ª Fase (por ultra-sonografia e mensuração externa). Em função das mudanças morfológicas ocorridas desde a 1ª Fase, foi possível realizar as medidas de úbere, e por esta razão foram necessárias algumas mudanças na técnica de obtenção de imagens por ultra-sonografia. A frequência utilizada, nesta fase, para as imagens foi de 7,5 MHz. O modelo de probe foi o mesmo utilizado na fase anterior, contudo o recipiente que conteve a água, para imersão dos tetos e úbere também necessitou ser substituído por um maior.

Como nesta fase foi possível realizar a medida de área de úbere, foram realizadas duas gravações de imagens por animal. A primeira imagem era a do teto, na qual foi possível observar da extremidade do teto até o início da cisterna de úbere. A segunda imagem obtida era a de úbere, sendo possível observar do final da cisterna de teto até o final da cisterna do úbere (Figura 5).



Com o ultra-som conectado a um computador foi possível realizar a importação e gravação das imagens.



O procedimento foi realizado com o teto e úbere imerso em um recipiente plástico completo de água, evitando deformação do mesmo e possibilidade de obtenção de imagens com as paredes do teto e úbere nítidas.



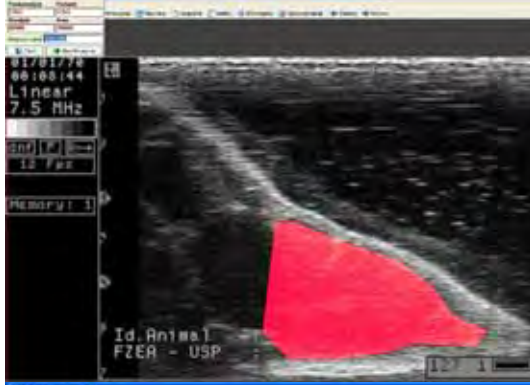
As imagens sempre foram realizadas no teto direito do animal. A probe foi mantida na posição perpendicular ao chão e a direção de leitura da probe foi caudal - cranial.



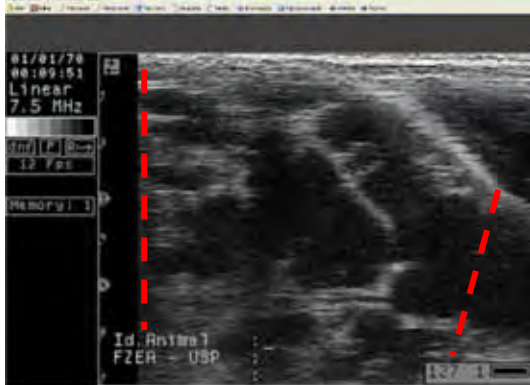
As imagens puderam ser observadas na tela do próprio ultra-som. Ao visualizar uma imagem nítida, esta era gravada no computador.



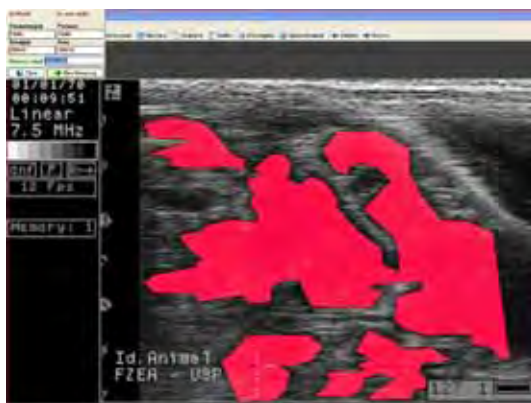
As imagens gravadas no computador apresentaram melhor qualidade do que a observada na tela do próprio ultra-som. Ao lado podemos observar uma imagem coletada no 4º mês de gestação.



Utilizando o programa Universal Desktop Ruler® foi possível realizar todas as mensurações. Ao lado podemos observar a figura representativa da mensuração de área de cisterna de teto de uma imagem na 2ª Fase do experimento.



Como podemos observar ao lado, na extremidade direita da imagem (linha pontilhada), está o final da cisterna de teto e na extremidade esquerda (linha pontilhada) o final da cisterna de úbere.



As mensurações de área foram realizadas nas regiões mais escuras da imagem, sem considerar como área de cisterna de úbere o final da cisterna de teto.

Figura 5. Fotos e figuras de imagens de ultra-sonografias.

Os resultados das mensurações foram corrigidos de acordo com o comprimento de teto medido com o paquímetro externamente, assim como na fase anterior, tornando os resultados mais precisos. Novamente o programa utilizado foi o Universal Desktop Ruler®, sendo a unidade de medida o *pixel*.

As medidas morfométricas realizadas, na fase em questão, com o auxílio do ultra-som, foram descritas no Quadro 4.

Quadro 4. Resumo explicativo das medidas em imagens de ultra-som.

Medidas de Teto	Descrição
Comprimento	Distância da inserção do teto no úbere à sua extremidade.
Diâmetro	Diâmetro medido na metade do comprimento do teto.
Espessura de Parede	Distância entre a extremidade interna e externa da parede do teto.
Comprimento de Canal	Distância entre a extremidade interna e externa do canal do teto.
Área de Cisterna	Área de menor concentração de tecido no interior do teto.
Medidas de Úbere	
Área de Cisterna	Área de menor concentração de tecido no interior do úbere.

As mensurações externas foram realizadas de maneira semelhante à realizada na 1ª Fase. Contudo, no segundo mês de gestação foi possível realizar as medidas de

úbere: perímetro e profundidade de úbere. Tais medidas não foram possíveis de realização anteriormente, pois as cabritas apresentavam úberes muito pequenos.

Todas as mensurações foram descritas no Quadro 5.

Quadro 5. Resumo explicativo das medidas e instrumentos utilizados nas mensurações externas.

Medidas de Teto	Descrição
Comprimento ^{PQ}	Distância da inserção do teto no úbere à sua extremidade.
Diâmetro ^{PQ}	Diâmetro medido na metade do comprimento do teto.
Entre Tetos ^{FM}	Distância entre inserção de um teto à inserção do outro.
Teto ao Solo ^{FM}	Distância da extremidade do teto ao solo, formando um ângulo reto.
Medidas de Úbere	
Perímetro de Úbere ^{FM}	Distância necessária para circundar o úbere
Profundidade de Úbere ^{FM}	Distância entre a inserção do úbere e a extremidade final do úbere formando um ângulo reto com o solo.

^{PQ}: medidas realizadas com o auxílio de paquímetro, sendo a unidade de medida utilizada o milímetro.

^{FM}: medidas realizadas com o auxílio de fita métrica, sendo a unidade de medida utilizada o centímetro.

3.4.2 Análises Estatísticas

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com 4 grupos (3 tratamentos e 1 controle) e 6 repetições. Para as análises estatísticas dos resultados utilizou-se o PROC MIXED do SAS (SAS, 2003), através de análise de variância (ANOVA) e para os contrastes entre as médias utilizou-se o teste de Tukey. O nível de significância utilizado no experimento foi de 5%, todos os resultados experimentais foram apresentados com a respectiva média e erro padrão médio (S.E.M.).

3.5 DETALHAMENTO DA 3ª FASE EXPERIMENTAL – LACTAÇÃO

Após o parto das 24 cabras Saanen, que participaram da 2ª Fase deste experimento, foi iniciada a 3ª Fase - Lactação. Os mesmos grupos da 2ª Fase foram mantidos, ou seja, 4 grupos com 6 animais em cada um deles. Estes animais experimentais apresentavam idade média de 495 ± 28 dias e peso médio de $49,7 \pm 4,7$ kg. O início desta fase foi em 8 de janeiro e terminou em 15 de junho de 2008.

3.5.1 Ordenha

Logo após o parto, as cabras foram separadas definitivamente de seus respectivos cabritos e submetidas a uma ordenha mecanizada diária (às 6 horas) ao longo de toda a lactação. A ordenhadeira mecanizada foi regulada para manter um nível de vácuo de 48 KPa e uma taxa de pulsação de 120 ciclos / minuto. Uma mesma equipe de ordenhadores efetuou todas as ordenhas. A mesma rotina foi seguida e a seguinte seqüência foi adotada como tarefa de ordenha padrão: o ordenhador realizou o teste de mastite, lavou e secou os tetos da cabra, realizou o *pré-dipping*, colocou o copo das teteiras da ordenhadeira, realizou o *pós-dipping*. O ordenhador não realizou nenhum tipo de estímulo manual sobre o úbere, em casos de queda de teteira o ordenhador colocou-a novamente no teto (NEGRÃO, 1996).

3.5.2 Tratamento com bST

O bST foi administrado quinzenalmente, sempre as terças-feiras. A dosagem de bST administrada foi de 125mg/animal, sendo esta aplicada via subcutânea. Esta dosagem de bST foi escolhida em função de pesquisas anteriores, que demonstraram a

eficiência do tratamento quinzenal com doses maiores que 90mg/animal (GALLO et al., 1997).

O tratamento com bST (GH) ou placebo (óleo de gergelim) teve duração de 4 semanas, assim, cada animal recebeu 3 aplicações do bST ou placebo. Todas as aplicações foram realizadas após possíveis ordenhas e/ou coletas de sangue, que fossem realizadas neste mesmo dia, a fim de não comprometer os resultados das análises de sangue. As cabras foram pesadas quinzenalmente para o acompanhamento do crescimento.

3.5.3 Desafio

O desafio com a administração de ACTH ou placebo, foi semelhante ao realizado na 1ª Fase do experimento. As aplicações de ACTH ou placebo foram realizadas no mesmo dia, horário, condições ambientais e de modo a minimizar ao máximo o estresse causado pelo procedimento de aplicação da solução em si.

Os animais dos grupos experimentais 1 e 3 foram submetidos a um estresse agudo padrão, via administração exógena de ACTH (Sigma®). Estas cabritas receberam via intravenosa 0,5 µg de ACTH/kg de PV (FULKERSON & JAMIESON, 1982) e os grupos experimentais 2 e 4 receberam uma solução placebo (soro fisiológico).

O desafio com ACTH ou placebo foi realizado 23 dias após o início do tratamento com GH, este desafio foi acompanhado de coletas de sangue (-20, 0, 60, 120 e 300 min), do mesmo modo como ocorrido na 1ª Fase do experimento.

3.5.4 Coleta de Dados

Na 3ª Fase do experimento foram realizadas duas colheitas de sangue no 1º e no 23º dia após o início do tratamento com GH. No dia 1 foi colhida uma única amostra

de sangue (já que não houve desafio com ACTH/placebo), enquanto no dia 23 foram colhidas 5 amostras antes e após a administração de ACTH, nos tempos (-20, 0, 60, 120 e 300 min).

3.5.5 Análises de Metabólitos e Hormônios

Nesta fase, também foram analisados os níveis de proteína total, glicose, IGF-1 e cortisol. Sendo que, todo o procedimento, métodos, kits e equipamentos utilizados para as análises foram descritos no “Material e Métodos” referentes à 1ª Fase do experimento.

3.5.6 Coleta de Leite

A ordenha durante toda a 3ª Fase do experimento foi realizada em ordenhadeira mecanizada do Laboratório de Fisiologia Animal da FZEA/USP. Esta ordenhadeira é equipada com medidores individuais de leite, do tipo proveta, que possibilitam colher amostras individuais de leite e mensurar a produção de leite diária de cada animal experimental.

A partir do parto a produção leiteira das cabras foi mensurada diariamente. Já a composição e CCS do leite foram realizadas quinzenalmente. Para tanto, o leite foi colhido em frascos contendo pastilhas de bronopol (2-bromo-2-nitropropano- 1,3 – diol).

As amostras de leite coletadas foram resfriadas até o envio para a “Clínica do Leite” (ESALQ/USP). O conteúdo em proteína, gordura, lactose e sólidos totais do leite amostrado foram determinados por infravermelho (BENTLEY, 2000), já a contagem de células somáticas foi determinada por citometria de fluxo (SOMACOUNT 300, 1995).

3.5.7 Análises Estatísticas

Para a análise dos resultados dos níveis plasmáticos de proteína, glicose, CORT e IGF-1; o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com 4 grupos (4 tratamentos), 6 repetições, 5 tempos de (-20, 0, 60, 120 e 300) e dois dias de coletas. Para a análise de produção e composição do leite o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com 4 grupos (3 tratamentos e 1 controle) e 6 repetições (produção de leite - coletas diária por 15 semanas) ou (composição do leite - 5 coletas quinzenais).

Para as análises estatísticas dos resultados utilizou-se o PROC MIXED do SAS (SAS, 2003), através de análise de variância (ANOVA) e para os contrastes entre as médias utilizou-se o teste de Tukey. O nível de significância utilizado no experimento foi de 5% e todos os resultados experimentais foram apresentados com médias e o erro padrão médio (S.E.M.).

IV RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 HORMÔNIOS E METABÓLITOS – TRATAMENTOS COM GH/PLACEBO

4.1.1 IGF-1

Tanto na 1ª, quanto na 3ª Fase não houve efeito das datas de coletas ($p=0,064$) e da interação de grupos e datas de coletas ($p>0,05$), para os níveis de IGF-1. Porém, foi observado efeito de grupos para as concentrações de IGF-1 ($p<0,05$). Ainda que não tenha havido efeito das datas de coleta sobre os resultados, podemos observar diferença numérica entre as primeiras coletas e a última de cada fase (Tabela 1).

Como podemos observar na Tabela 2, os níveis de IGF-1 encontrados no sangue das fêmeas caprinas dos grupos G1 e G2 (durante a 1ª e 3ª Fase), tratadas com GH, foram numericamente superiores aos grupos das fêmeas não tratadas (G3 e G4). Contudo, somente o resultado do grupo G1 foi estatisticamente diferente dos grupos G3 e G4. Tal diferença era esperada, pois animais tratados com GH apresentam maior transcrição de mRNA pelo tecido adiposo e maior número de moléculas de GH ligadas aos receptores do fígado, estimulando a liberação de IGF-1 por este órgão (BAUMAN, 1992; DISENHAUS et al., 1995; ETHEERTON & BAUMAN, 1998).

Tabela 1. Concentrações médias de hormônios e metabólitos de fêmeas caprinas tratadas com GH/Placebo, média por coleta, na 1ª e 3ª Fase.

Hormônios e Metabólitos	Coletas				
	1ª Fase			3ª Fase	
	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª
IGF-1 (ng/mL)	408,33 ± 49,35 a	409,71 ± 63,06 a	503,31 ± 69,56 a	366,16 ± 55,31 a	422,91 ± 91,23 a
CORT (ng/mL)	6,68 ± 0,50 b	8,15 ± 0,68 a	9,25 ± 0,53 a	7,76 ± 0,64 a	7,64 ± 0,61 a
Glicose (mg/dL)	73,31 ± 2,58 b	78,02 ± 2,58 b	86,93 ± 2,58 a	93,54 ± 3,26 a	81,12 ± 3,26 b
Proteína (mg/dL)	7,00 ± 0,24 a	6,69 ± 0,25 a	4,61 ± 0,27 b	7,88 ± 0,38 a	7,02 ± 0,41 a

Letras minúsculas iguais, não diferem entre si ($p>0,05$). Coletas realizadas na 1ª Fase do experimento: “1ª” coleta realizada no 30º dia de tratamento com GH/Placebo, “2ª” coleta realizada no 38º dia de

tratamento e “3ª” coleta realizada no 84º dia de tratamento. Coletas realizadas na 3ª Fase do experimento: “1ª” coleta realizada no dia de início do tratamento com GH/Placebo e “2ª” coleta realizada no 23º dia de tratamento.

Tabela 2. Concentrações médias de hormônios de fêmeas caprinas tratadas com GH/Placebo e desafiadas com ACTH/Placebo, média por grupo, na 1ª e 3ª Fase.

Hormônios	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
IGF-1 (ng/mL)	495,35 ± 30,09 a	430,50 ± 31,00 ab	371,53 ± 31,23 b	390,95 ± 30,44 b
CORT (ng/mL)	9,12 ± 0,48 a	6,78 ± 0,51 b	8,34 ± 0,50 a	7,35 ± 0,49 ab

G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH). Letras minúsculas iguais, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

4.1.2 CORT

Não houve efeito da interação entre grupos e datas de coletas ($p>0,05$). Contudo, houve efeito de grupos e datas de coletas ($p<0,05$).

As concentrações médias de CORT observadas em todos os grupos e coletas foram basais (Tabela 1 e 2), considerando que concentrações de CORT de até 18 ng/mL são consideradas como basais, em fêmeas caprinas, segundo PINEDA & DOOLEY (1999). Em cabritos, DAVIS et al., (1999), encontraram níveis basais de CORT de 10 ng/mL. O grupo G1 e G3, desafiados com ACTH, tiveram maiores concentrações de CORT plasmático, quando comparados aos grupos G2 e G4, desafiados com placebo. Provavelmente as médias dos níveis de CORT destes dois grupos foram influenciadas pelo desafio com ACTH (Tabela 2), ocorrido após a 2ª coleta da 1ª Fase. O desafio com ACTH realizado na 3ª Fase ocorreu após a última coleta, por isso não pôde ter influenciado as médias de CORT dos grupos. O menor nível de CORT apresentado pelo G2, pode ter ocorrido em função da ação inibidora do GH ao CORT, que será detalhada adiante.

4.1.3 Glicose

Não houve efeito de grupos e da interação entre grupos e datas de coletas nas concentrações de glicose dos animais experimentais ($p>0,05$), tanto na 1ª Fase, quanto na 3ª Fase.

Concentrações iguais de glicose entre cabras tratadas e não tratadas com GH, também foram reportados por BAUMAN et al. (1988), DISENHAUS et al. (1995) e AMORIM et al. (2006).

Ainda que os animais tratados com GH atingissem maiores concentrações de IGF-1 no sangue, e conseqüentemente maiores concentrações de glicose, esta é rapidamente absorvida pela glândula mamária em animais com melhor aptidão leiteira e pelas células musculares em animais em desenvolvimento ou com melhor aptidão para o corte (BAUMAN, 1992; JONES & CLEMMONS, 1995). Deste modo, o aumento na disponibilidade de glicose é suprimido pela maior absorção de glicose pela glândula mamária ou células musculares, que terão maior aporte para o incremento na produção de leite e carne (GONZÁLEZ et al., 2000).

Entretanto houve o efeito de datas de coletas ($p<0,05$) em ambas as fases em que se realizaram as análises metabólicas (Tabela 1).

Observou-se aumento ($p<0,05$) das concentrações de glicose entre a 1ª coleta de sangue e a 3ª coleta da 1ª Fase do experimento (Tabela 1), quando os animais estavam em desenvolvimento. Nesta primeira coleta, realizada na 1ª Fase, os animais estavam com 134 dias de idade e na terceira coleta com 209 dias de idade, em início da puberdade; estágio fisiológico no qual ocorrem grandes variações fisiológicas e aumento do metabolismo dos animais (SWENSON & REECE, 1996; SAKURAI et al., 2004). Um dos hormônios mais importantes nesta fase e que tem sua concentração aumentada ao longo da puberdade é o IGF-1 (COPELAND et al., 1982; HANDELSMAN et al., 1987), que diminui a ação da insulina em estimular a lipogênese e em inibir a gliconeogênese, permitindo maiores concentrações de glicose no plasma sangüíneo destes animais (BAUMAN, 1992; SAKURAI et al., 2004). Durante este período, entre essas duas coletas, os animais ganharam em média 5,2 kg (iniciaram o tratamento com

peso médio de 20,1kg e atingiram 25,3kg aos 75 dias de tratamento com GH) o que evidenciou o aumento de metabolismo e necessidade de disponibilidade energética.

Na 3ª Fase do experimento as concentrações de glicose diminuíram a partir do início do tratamento com GH (Tabela 1). Tal resultado é controverso aos estudos realizados com vacas, que demonstraram concentrações semelhantes de glicose ao longo de toda a lactação (CHAIYABUTR et al., 2005). Contudo, em experimento realizado com cabras foi observada a diminuição na concentração de glicose ao longo das 4 semanas logo após o pico de lactação (DISENHAUS et al., 1995).

Possivelmente, as maiores concentrações de glicose observadas foram decorrentes de uma tentativa de reversão do déficit energético comumente observado próximo ao pico de lactação, com uma alimentação mais energética, além do metabolismo mais acelerado dos animais em função do pico de lactação.

4.1.4 Proteína

Durante o tratamento com GH dos animais experimentais na 1ª Fase (desenvolvimento) do experimento não houve efeito de grupos e interação entre grupos e datas de coletas ($p>0,05$) nos teores de proteína no sangue. No entanto, houve o efeito de datas de coletas ($p<0,05$), sendo observada uma diminuição dos teores de proteína ao longo do tratamento com GH/Placebo (Tabela 1). Esta redução, dos teores de proteína, coincide com o aumento da glicose e uma possível aceleração do metabolismo das cabritas que atingiam a puberdade. Como citado no item anterior, este aumento de metabolismo nos animais púberes, com o aumento das concentrações de IGF-1, modulam o direcionamento de energia e proteína para o maior metabolismo muscular (BAUMAN, 1992; JONES & CLEMMONS, 1995). Assim, ocorre maior absorção de proteína e queda dos teores séricos, sendo necessário um aumento das concentrações de proteína não degradáveis no rúmen na alimentação do animal, para a manutenção dos teores séricos de proteína e melhores respostas a aumentos dos teores de IGF-1 (MOALLEM et al., 2004).

Na 3ª Fase do experimento não houve variações das concentrações séricas de proteína ($p>0,05$), como podemos verificar na Tabela 1. O tratamento com GH não alterou os teores de proteína dos animais em lactação (CHAIYABUTR et al., 2005; AMORIM et al., 2006). Estes resultados demonstraram que a proteína, nesta fase, não foi um fator limitante para a síntese de IGF-1 (MCGUIRE et al., 1995).

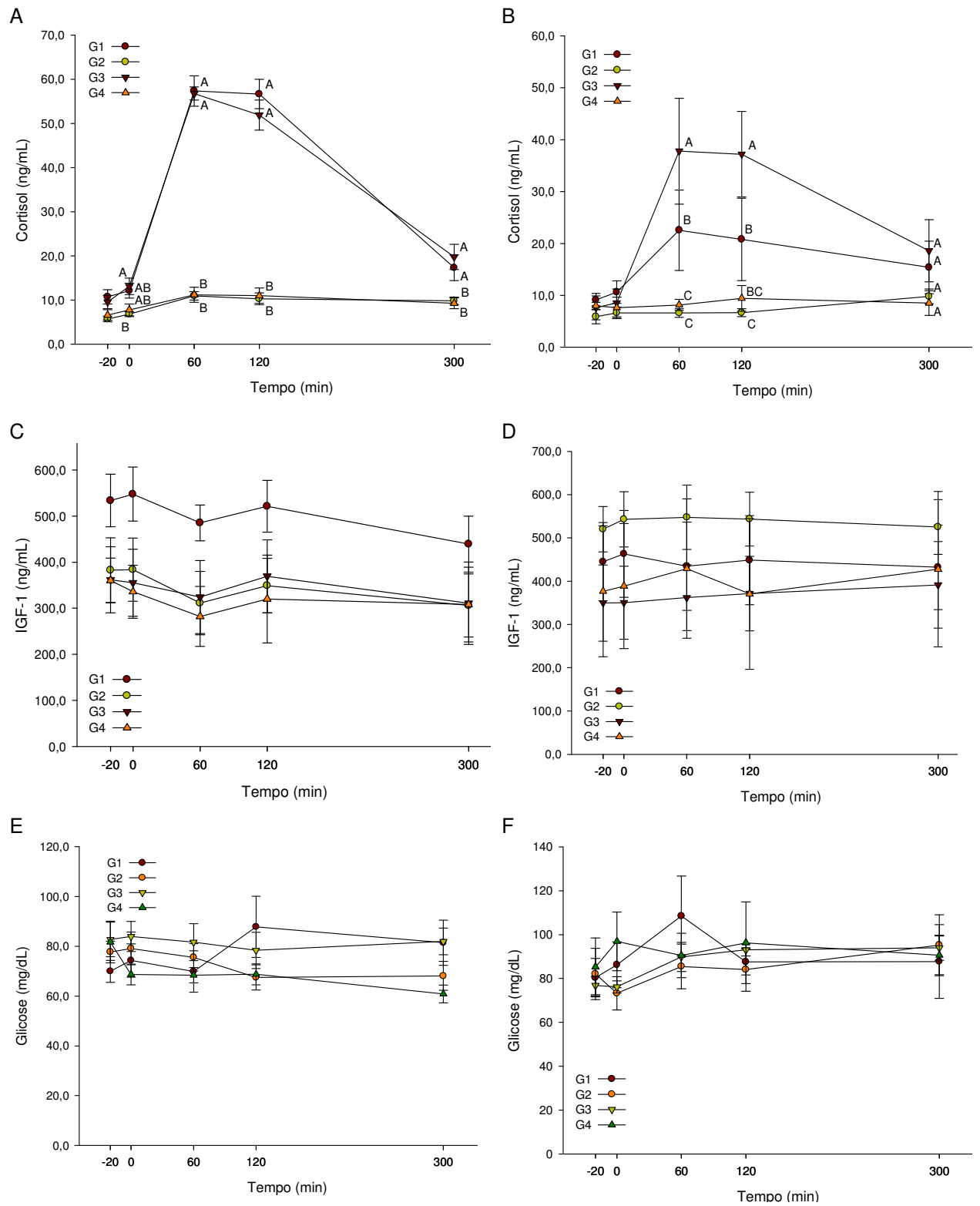
4.2 HORMÔNIOS E METABÓLITOS – DESAFIOS COM ACTH

4.2.1 IGF-1

Na 1ª Fase as concentrações de IGF-1 no sangue das cabritas não variaram ao longo do desafio (efeito de tempos) ($p>0,05$), independente dos tratamentos (efeito de grupos) ($p>0,05$), não havendo interação entre grupos e tempos ($p>0,05$), como podemos observar na Figura 6C. O grupo G1, tratado com GH, apresentou maior concentração ($p<0,05$) de IGF-1 ($505, 47 \pm 28,8$ ng/mL) que os demais grupos. Contudo, o grupo G2 não diferiu ($p>0,05$) dos grupos G3 e G4.

Os níveis de IGF-1 observados nas fêmeas caprinas em desenvolvimento (1ª Fase) e em lactação (3ª Fase), independente de grupo, são superiores aos níveis médios relatados por outros autores (DISENHAUS et al., 1995; DAVIS et al., 1999; ACUTTI et al., 2008). Contudo, SHEN et al. (2004) apresentam em seu trabalho, alta concentração de IGF-1 ($>300,0$ ng/mL) no plasma de caprinos jovens alimentados com dieta de alta concentração energética e protéica, sendo esta uma possível justificativa para alta concentração de IGF-1 no sangue das cabritas e cabras. As concentrações de IGF-1 dos grupos tratados com GH foram semelhantes às relatadas por (DISENHAUS et al., 1995; DAVIS et al., 1999).

Não houve efeitos de grupos, tempos e interação entre os grupos e tempos ($p>0,05$), durante as coletas realizadas no desafio com ACTH, da 3ª Fase do experimento (Figura 6D). Mesmo os níveis de IGF-1 sendo maiores numericamente nos grupos tratados com GH (G1 e G2), quando comparados com os grupos não tratados (G3 e G4), não houve diferença ($p>0,05$), já que a variação dos resultados dentro dos grupos foi alta. Como ocorrem importantes variações de GH ao longo da lactação de ruminantes (HERBEIN et al., 1985), é possível que esta grande variação nas concentrações de IGF-1 dentro dos grupos seja em função da diferença de dias de lactação entre as cabras, além de outras diferenças inerentes aos indivíduos.



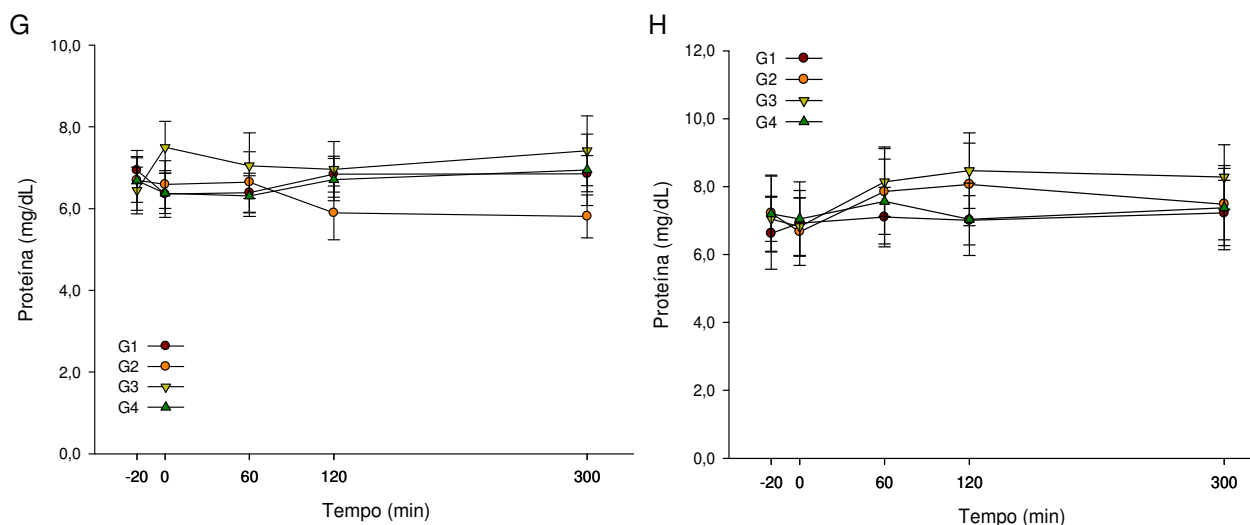


Figura 6. Gráficos das concentrações médias dos hormônios GH e ACTH, e dos metabólitos Glicose e Proteína, do sangue de cabritas e cabras tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo. Resultados das colheitas realizadas durante os desafios da 1ª e 3ª Fase respectivamente: A e B – Cortisol; C e D – IGF-1; E e F – Glicose; G e H – Proteína. G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH). Letras iguais, não diferem entre si ($p>0,05$).

4.2.2 CORT

No desafio realizado na fase de “Desenvolvimento” (1ª Fase), não houveram diferenças estatísticas ($p>0,05$), nas concentrações de CORT, entre os grupos desafiados com ACTH (G1 e G3), como podemos observar na Figura 6A; resultado semelhante ao descrito por DAVIS et al. (1999), no qual não houve diferença nas concentrações basais de CORT de cabritos tratados com GH em relação aos não tratados.

Nos tempos -20 e 0, por nenhum grupo ter recebido ACTH até então, todos apresentaram concentrações basais de CORT, sendo os resultados encontrados, semelhantes a outros trabalhos e indicam que estas cabritas não sofreram estresse antes da aplicação do ACTH/Placebo (DUVAUX-PONTER et al. 2003; CANAES, 2007).

Contudo, a partir do tempo 60, foi possível observar concentrações de CORT maiores ($p<0,05$) nos grupos que receberam o ACTH (G1 e G3), quando comparados aos grupos que não receberam ACTH (G2 e G4), efeitos da interação entre grupos e

tempos (Figura 6A). Aos 60 minutos pós-aplicação do ACTH, os animais dos grupos G1 e G3 atingiram as maiores concentrações de CORT entre todos os tempos. E somente na colheita realizada 300 minutos após a aplicação do ACTH, os níveis de CORT dos animais dos grupos G1 e G3 diminuíram ($p < 0,05$) a valores próximos dos iniciais, sendo, contudo, o nível de CORT do G1 igual ($p > 0,05$) ao do grupo controle; enquanto os animais dos grupos (G2 e G4, que receberam placebo) não tiveram variações significativas em seus níveis de CORT ($p > 0,05$) ao longo de todo o desafio. Estes animais mantiveram concentrações basais de CORT durante todo o desafio. Isto, pois não houve estímulo da adrenal, pelo ACTH ou outro tipo de agente estressor, para que houvesse a liberação de CORT (PINEDA & DOOLEY, 1999).

Os perfis das curvas de concentrações de CORT dos grupos G1 e G3 foram semelhantes aos resultados de TOERIEN et al. (1999), os quais também demonstraram, concentrações máximas de CORT atingidos por volta de 60 minutos pós aplicação, e retorno as concentrações de CORT iniciais (tempos 0 e -20) em torno de 300 minutos após a aplicação do ACTH.

Assim como o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) dos caprinos adultos, que responde a estímulos de ACTH exógeno ou a agentes estressores, liberando maiores quantidades de CORT no sangue (NWE et al., 1996; KATOH et al., 2004); o HPA de caprinos jovens, também, respondem de forma muito semelhante, liberando altas concentrações de CORT após administração de ACTH e/ou a ação de outros estresses (TOERIEN et al., 1999; DUVAUX-PONTER et al. 2003).

Na 3ª Fase do experimento, anteriormente a aplicação do ACTH/Placebo, tempos -20 e 0, não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os níveis de CORT dos grupos (Figura 3B). Neste desafio com ACTH/Placebo da 3ª Fase, os animais dos grupos G2 e G4 (desafiados com Placebo), apresentaram menores concentrações plasmáticas de CORT ($p < 0,05$) que os animais dos outros grupos, permanecendo ao longo de todo desafio com níveis basais de CORT. A resposta das cabras, tratadas com Placebo e desafiadas com ACTH (G3), foi maior entre todos os grupos, nos tempos 60 e 120, retornando a níveis basais no tempo 300.

O perfil da curva e comportamento de níveis de CORT no sangue são coincidentes aos descritos por ESCOBAR et al. (1998), que desafiaram cabras adultas não lactantes com ACTH. Porém, as concentrações durante o pico de CORT são inferiores as encontradas pelo autor.

A resposta do grupo tratado com GH e desafiado com ACTH (G1) foi maior ($p<0,05$) que a observada nos grupos que não receberam ACTH (G2 e G4), no tempo 60, entretanto foi menor ($p<0,05$) que a resposta do grupo G3. No tempo 120, a resposta do grupo G1, foi igual estatisticamente à resposta do grupo controle (G4). SILENCE & ETHERTON (1987), relataram redução dos níveis de CORT no soro de suínos após desafio com pGH. Segundo GELDING et al. (1998) e WEAVER et al. (1994) em estudos com humanos adultos, o tratamento com GH causou redução das concentrações de CORT sangüíneo, provavelmente por ação direta na enzima 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-1 no fígado ou em outro local, já que esta enzima é necessária para redução da cortisona em CORT e na ausência da mesma a produção de CORT se torna comprometida (TRAINER et al., 2001).

A resposta da adrenal, sintetizando CORT, ao desafio com ACTH nas fêmeas caprinas em lactação (3ª Fase) foi marcadamente menor quando comparada à resposta das fêmeas em desenvolvimento (1ª Fase). Estas respostas menos agudas ao estresse de fêmeas lactantes, foram relatadas, também, em ratas, ovelhas e vacas, principalmente após a amamentação (WAGNER & OXENREIDER, 1972; ATKINSON & WADDEL, 1995; COOK, 1997; TILBROOK et al., 2006); Pois com estímulos táteis, visuais, sonoros e/ou olfativos relacionados à amamentação ou ordenha, ocorre maior liberação de ocitocina, que promove um *feedback* negativo no hipotálamo e conseqüente redução da liberação de CORT, como resposta a um estresse (WINDLE et al., 1997; GIMPL & FAHRENHOLZ, 2001; AMICO et al., 2004). Outra hipótese considerada por alguns autores, é que em fêmeas não lactantes há maior transcrição de CRH e AVP (vasopressina), hormônios estimulantes da hipófise, que quando estimulada libera o ACTH e que, conseqüentemente, ativará a liberação de CORT pela adrenal (SHANKS et al., 1999). KHAN & LUDRI (2002), em trabalho com cabras em

estágio pré e pós-parto, observaram concentrações basais de cortisol menores em cabras pós-parto.

Porém, o desafio realizado com ACTH e a resposta da adrenal, não envolvem o eixo HPA por completo, já que o ACTH administrado na veia jugular das cabritas e cabras estimula apenas a adrenal a liberar o CORT, não havendo estímulo ou participação do hipotálamo, do CRH, da AVP e da hipófise (AXELROD & REISINE, 1984; MOSTL & PALME, 2002). Assim, a maior liberação e níveis basais de ocitocina mais altos não justificam menores níveis de CORT como resposta ao desafio. Contudo durante a lactação, há uma maior exigência da adrenal para a liberação de CORT, que ocorre comumente ao início das ordenhas (GOREWIT et al., 1992, TANCIN et al., 1995, NEGRÃO et al., 2006b). As reservas de CORT, cortisonas, que são metabolizadas, reduzidas e liberadas como CORT diariamente, são utilizadas constantemente. Deste modo sugerimos que as menores concentrações de CORT, encontradas em cabras lactantes, como resposta ao desafio com ACTH, podem ser decorrentes de menores níveis de cortisona armazenadas pela adrenal, que não libera CORT suficiente para atingir o patamar de concentrações que fêmeas não lactantes alcançaram. Tal diminuição de reservas adrenais é muito comum em animais e seres humanos em estado de estresse crônico. KIRSCHBAUM et al. (1994) demonstraram que a resposta de CORT ao estresse diminuiu após o primeiro dia de uma série de cinco dias consecutivos, em experimento realizado com humanos. RAMPACEK et al. (1984), também, relatou respostas de CORT menores, a aplicações de ACTH, em marrãs com concentrações basais de CORT mais altas. Esta diferença de intensidade das respostas das fêmeas na 1ª Fase do experimento e na 3ª Fase ao desafio com ACTH, pode ter sido suficiente para que o GH inibisse apenas a resposta menos intensa, ocorrida na 3ª Fase do experimento.

4.2.3 Glicose

Ao longo dos desafios com ACTH realizados na primeira e terceira fase do experimento, não houve efeito de grupos, tempos de coletas ou interação entre ambos ($p>0,05$).

As concentrações de glicose não se alteraram ao longo do desafio ($p>0,05$), permanecendo iguais durante o desafio, em ambas as fases, como apresentado nas Figuras 6E e 6F.

Tanto os teores de glicose observados nas cabritas (1ª Fase), quanto o observado nas cabras ao longo do desafio (3ª Fase), foram superiores às concentrações relatadas por outros autores. Segundo SAHLU et al. (1992), cabritas lactentes Saanen apresentam teores basais de glicose próximos a 88,5 mg/dL, enquanto que DAVIS et al. (1999) demonstraram valores basais de glicose de 61,2 mg/dL em cabritos desmamados e 62,7 mg/dL em cabritos desmamados e tratados com GH. Entretanto, cabras lactantes possuem menores concentrações basais de glicose, em média 52,6 mg/dL (MUNDIM et al., 2007).

Provavelmente os níveis de ACTH administrados não foram suficientes para um aumento de insulina necessário para a alteração das concentrações de glicose dos animais desafiados, já que eles se encontravam em estágios fisiológicos de metabolismo acelerado, puberdade e pico de lactação.

4.2.4 Proteína

Não houve alteração nas concentrações de proteína ao longo dos desafios com ACTH ($p>0,05$) e também, não houve diferença entre os grupos ($p>0,05$), em ambas as fases do experimento (Figuras 6G e 6H). Estes resultados corroboram com os encontrados por (CANAES, 2007), que observou aumento dos níveis de CORT após o transporte de cabras lactantes, porém sem o aumento dos teores de proteína.

Em ambos os desafios, tanto da primeira, quanto da terceira fase, as concentrações de proteína foram de aproximadamente 7,0 mg/dL, valor este, que não extrapola os valores mínimos (6,10 mg/dL) e máximos (8,40mg/dL) considerados normais por MUNDIM et al., (2007) em experimento com cabras Saanen.

4.3 COMPOSIÇÃO E PRODUÇÃO DE LEITE

4.3.1 Lactose

Não foi observado efeito do tratamento (grupos) com GH no teor de lactose do leite das cabras ($p>0,05$), como apresentado na Tabela 3. Outros trabalhos demonstram aumento dos níveis de lactose no leite de cabras tratadas com GH (CHADIO et al., 2000), porém grande parte dos estudos relata níveis semelhantes deste componente, entre animais tratados e não tratados com GH. Segundo BAUMAN (1992), vacas tratadas com GH não apresentaram variação na porcentagem de lactose no leite. Em experimento com cabras tratadas com GH, durante o início e o meio da lactação, DAVIS et al. (1999) não observou diferença significativa entre os teores de lactose no leite dos animais tratados e não tratados. E no período final de lactação, o tratamento com GH, também, não apresentou efeito sobre a concentração de lactose no leite das cabras, em relação aos animais não tratados (BALDI et al., 2002). Estes resultados evidenciam a lactose como o componente mais estável do leite, isto, pois ela é responsável por 50% da pressão osmótica do leite, sendo sua concentração estabilizada pelo volume de água necessário para que o leite seja isotônico ao citoplasma celular. Assim, mesmo com a maior disponibilidade de glicose no sangue e, conseqüente, aumento na síntese de lactose, não haverá aumento da concentração deste componente no leite e sim aumento do volume de leite produzido (GONZÁLEZ & CAMPOS, 2003).

Não houve efeito de semanas de tratamento (Tabela 4) e interação entre grupos e semanas de tratamento ($p>0,05$), como demonstrado na Figura 7D. Tais resultados coincidem com os encontrados por QUEIROGA et al. (2007), em experimento realizado com cabras Saanen, nos quais não houve qualquer diferença entre as concentrações de lactose no leite das cabras experimentais ao longo de toda a lactação.

As concentrações médias de lactose no leite das cabras do presente experimento (Tabelas 3 e 4) foram muito semelhantes às encontradas por PRATA et al.

(1998), que apresentou média de 4,35% de lactose no leite de cabras Saanen criadas na região sudeste do Brasil.

Tabela 3. Composição do leite, por grupo, de cabras tratadas com GH/Placebo e desafiadas com ACTH/Placebo.

Componentes	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
Gordura (%)	3,16 ± 0,18 a	2,38 ± 0,22 b	3,20 ± 0,19 a	3,50 ± 0,19 a
Proteína (%)	3,04 ± 0,05 a	2,79 ± 0,06 b	2,83 ± 0,06 b	2,93 ± 0,06 ab
CCS (* 1000 células/mL)	492,69 ± 152,71 a	447,26 ± 185,15 a	696,77 ± 164,95 a	678,70 ± 164,95 a
Lactose (%)	4,57 ± 0,06 a	4,47 ± 0,08 a	4,61 ± 0,07 a	4,43 ± 0,07 a
Sólidos Totais (%)	11,75 ± 0,24 a	10,25 ± 0,29 b	11,63 ± 0,26 a	11,83 ± 0,26 a

G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH). Letras minúsculas iguais, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Tabela 4. Composição do leite, por semana, de cabras tratadas com GH/Placebo e desafiadas com ACTH/Placebo.

Componentes	Semanas de Tratamento com GH/Placebo				
	1 ^a	3 ^a	5 ^a	7 ^a	9 ^a
Gordura (%)	3,23 ± 0,22 a	3,15 ± 0,22 a	2,36 ± 0,24 b	3,00 ± 0,22 ab	3,56 ± 0,22 a
Proteína (%)	2,80 ± 0,06 a	2,88 ± 0,06 a	2,98 ± 0,07 a	2,83 ± 0,06 a	2,99 ± 0,06 a
CCS (*1000 células/mL)	348,78 ± 107,09 a	611,53 ± 185,73 a	1042,95 ± 286,50 a	589,21 ± 151,36 a	301,79 ± 144,67 a
Lactose (%)	4,66 ± 0,08 a	4,51 ± 0,08 a	4,47 ± 0,08 a	4,49 ± 0,08 a	4,48 ± 0,08 a
Sólidos Totais (%)	11,67 ± 0,29 a	11,52 ± 0,29 a	10,38 ± 0,30 b	11,27 ± 0,29 a	11,99 ± 0,29 a

Letras minúsculas iguais, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

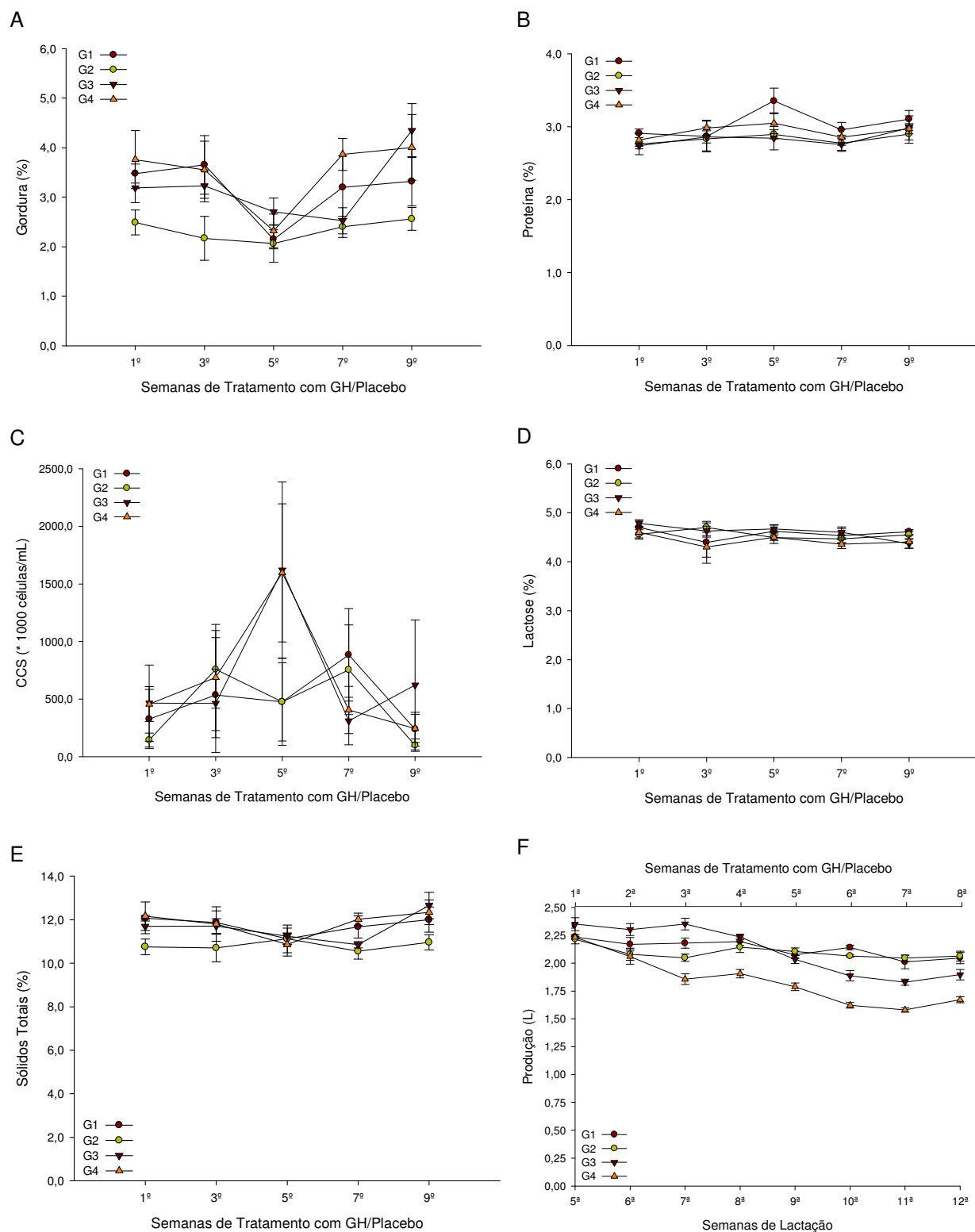


Figura 7. Gráficos das concentrações médias dos componentes e produção do leite de cabras tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo. A – Gordura; B – Proteína; C – CCS; D – Lactose; E – Sólidos

Totais; e F – Produção. G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH).

4.3.2 CCS

Não houve efeito dos grupos (Tabela 3), semanas de tratamento (Tabela 4) e interação entre ambos (Figura 7C), sobre a CCS no leite ($p>0,05$) dos animais experimentais. Esta igualdade entre a contagem de células somáticas no leite de caprinos tratados com GH ou Placebo, é controverso aos resultados relatados por BALDI et al. (2002), que verificou menor CCS no leite de animais tratados com GH em final de lactação. Contudo, CHADIO et al., (2000), demonstrou que a maior CCS ocorreu no leite de cabras tratadas com GH.

Porém, em fêmeas ovinas e caprinas tratadas com GH em início e meio de lactação, não foram observadas diferenças na CCS em relação ao grupo controle (DULIN et al., 1983; BOSCOS et al., 1996; BROZOS et al., 1998; DAVIS et al., 1999). O tratamento com GH também não apresentou efeito sobre a incidência de mastite ou na contagem de bactérias no leite de ovelhas (BROZOS et al., 1998).

As médias de CCS apresentadas neste trabalho são todas muito inferiores as encontradas por ANDRADE et al. (2001), em cabras da raça Alpina de alta produção e semelhantes as CCS no leite de cabras Saanen criadas na região sul do Brasil (ZAMBOM et al., 2005), indicando, assim, que a ordenha e o manejo dos animais foram realizados de forma adequada e que o tratamento com GH não influencia a contagem de CCS do leite.

4.3.3 Gordura

A concentração de gordura no leite sofreu efeito de grupos e efeito de semanas de tratamento ($p<0,05$), entretanto, não houve efeito da interação de grupos e semanas

de tratamento ($p>0,05$). O grupo G2 apresentou a menor concentração de gordura no leite entre todos os grupos (Tabela 3).

Durante a lactação ocorre variação dos teores de gordura no leite de cabras Saanen, porém o teor de gordura no leite varia entre 2,9% e 3,5% (QUEIROGA et al., 2007). ZAMBOM et al. (2005) testaram a alimentação de cabras Saanen com várias relações de concentrado/volumoso, encontrando variação de 2,9% a 3,6% de gordura no leite. Mesmo a gordura sendo o componente mais variável do leite e sofrendo importante influência da nutrição e das condições ambientais (GONZÁLEZ, 2001), no presente experimento não houveram variações das concentrações de gordura do leite dos animais dos grupos G1 (veja Tabela 3), G3 e G4 ($p>0,05$), estando estas médias de acordo com os estudos citados anteriormente.

Pela grande variação dos teores de gordura no leite, este componente apresenta variadas concentrações em animais tratados com GH. Alguns trabalhos demonstraram diminuição nos teores de gordura em animais tratados com GH (BOUTINAUD, 2003), enquanto outros experimentos demonstram resultados inversos, no qual houve aumento na concentração de gordura no leite em animais tratados com GH (CHADIO, 2000). Tais resultados demonstraram que durante o tratamento, os teores de gordura no leite dos animais do grupo G2 podem ter sido influenciados por fatores, não associado ao tratamento com GH.

Também ocorreu diminuição no teor de gordura do leite na quinta semana de tratamento com GH/placebo (Tabela 4). Como podemos observar na Figura 7A, na quinta semana de tratamento com GH/placebo apenas o teor de gordura do grupo G2 não diminuiu, provavelmente por já estar em teores muito baixos. Uma possível explicação, para esta diminuição de gordura no leite, seria a influência de fatores ambientais e climáticos que influenciaram na composição do leite de todos os tratamentos.

4.3.4 Sólidos Totais

Os resultados de sólidos totais do leite dos animais experimentais foram diferentes entre os grupos ($p < 0,05$) e ao longo do tratamento com GH/placebo ($p < 0,05$) também. Tais resultados foram apresentados nas Tabelas 3 e 4 respectivamente. Não houve interação entre grupos e semanas de tratamento ($p > 0,05$), como é possível observar na Figura 7E.

As variações de sólidos totais no leite acompanharam o comportamento da concentração de gordura, já que os sólidos totais do leite apresentam uma correlação muito alta (0,82) com os teores de gordura em leite de cabras (ZENG, et al., 1997).

4.3.5 Proteína

Não houve qualquer variação ($p > 0,05$) na concentração de proteína do leite dos animais experimentais ao longo do experimento (Tabela 4). Também não houve efeito da interação entre grupos e semanas de tratamento (Figura 7B), sobre a concentração de proteína no leite dos animais experimentais ($p > 0,05$).

A proteína é um dos componentes do leite que apresentam concentração mais estável e não apresentam grandes variações ao longo de toda a lactação, (QUEIROGA et al. 2007), permanecendo sua concentração por volta de 2,97% em cabras Saanen (PRATA et al., 1998).

No presente experimento as cabras Saanen tratadas com GH e desafiadas com ACTH (G1), apresentaram concentrações de proteína no leite semelhantes ao grupo controle, G4 (Tabela 3), estes resultados são semelhantes aos encontrados por CHADIO et al. (2000), em experimento com cabras cruzadas Alpinas tratadas com GH. Como o tratamento com GH, não afetou os teores de aminoácidos no plasma dos animais, (DAVIS et al., 1999) e são estes aminoácidos as fontes para síntese de proteínas pelas células da glândula mamária, os teores de proteína no leite de animais tratados e não tratados com GH não diferiram entre si.

4.3.6 Produção de Leite

O tratamento com GH realizado na primeira fase do experimento não influenciou a produção de leite na 3ª Fase, pois até os 35 dias de lactação não houve diferença na produção de leite ($p>0,05$) das cabras dos grupos G1 e G2, tratados com GH (Figura 7F).

Aparentemente, não houve efeito do desafio com ACTH/Placebo sobre a produção de leite dos animais experimentais (Figura 7F), pois não houve mudanças no perfil de curva da lactação após o desafio com ACTH/Placebo (o desafio foi realizado entre a 4ª e 5ª semana de tratamento).

Como é possível observar na Figura 7F e na Tabela 5, houve efeito da interação de grupos e semanas de tratamento na produção de leite das cabras ($p<0,05$). Os grupos tratados com GH (G1 e G2) apresentaram maior persistência de produção ao longo das semanas (Figura 8), em relação aos grupos não tratados (G3 e G4). Este tipo de gráfico permite a comparação dos efeitos do GH mesmo com animais que iniciaram o experimento com produções de leite diferentes ($p<0,05$).

A partir da 6ª semana de tratamento os grupos tratados com GH apresentaram produção de leite maior que os grupos não tratados ($p<0,05$), além de uma mudança visível no perfil da curva de lactação dos animais tratados. Estes resultados contrariam os resultados do experimento de BARBOSA et al. (2002), que não obtiveram diferentes produções de leite entre cabras Alpinas tratadas e não tratadas com GH. Porém, podemos encontrar um grande número de publicações que observaram efeitos galactopoiéticos positivos em cabras tratadas com GH (GALLO et al., 1997; CHADIO et al., 2000; CASTILLO & GUESTA, 2008). DISENHAUS et al. (1995) atingiram maiores produções de leite com cabras Saanen e Alpinas tratadas com GH. BALDI et al. (2002) trataram cabras em estágio final de lactação com GH, sendo que estas apresentaram maior produção de leite.

Ainda que haja estudos que comprovem receptores de GH na glândula mamária (AKERS et al., 2000) e possíveis efeitos diretos, os principais efeitos do tratamento de GH sobre a produção de leite são mediados pelo IGF-1, liberado principalmente pelo

fígado (GRANNER, 1996), após receber estímulo do GH (AKERS, 2006). O IGF-1 desencadeia uma série de processos, que promovem o aumento de produção de leite, como aumento do aporte de metabólitos e minerais para a glândula mamária, maior fluxo sangüíneo (DAVIS et al., 1988; CHAIYABUTR et al., 2005), menor apoptose de células secretoras de leite (BALDI et al., 2002), e outras mudanças no metabolismo energético dos animais (BINES & HART, 1982; BAUMAN 1992). Estudos recentes também demonstram importante ação de proteínas de ligação (IGFPB) ao IGF-1, que desta forma modulam as concentrações de IGF-1 livre no sangue e assim diminuem o número de moléculas de IGF-1 que possam se ligar as células da glândula mamária (CHAIYABUTR et al., 2005). Justificando, desta maneira, a maior produção de leite atingida pelas cabras em lactação tratadas com GH.

Tabela 5. Produção média diária de leite de cabras tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo ao longo das 8 semanas de tratamento.

Grupos	Semanas de Tratamento com GH/Placebo							
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a
G1	2,24 ABa	2,17 Aab	2,18 Bab	2,19 Aab	2,07 Abc	2,14 Aab	2,01 Abc	2,05 Ac
G2	2,21 Ba	2,08 Bb	2,05 Cb	2,14 Aa	2,10 Aa	2,06 Ab	2,05 Ab	2,06 Ab
G3	2,35 Aa	2,30 Aa	2,35 Aa	2,24 Aab	2,03 Ab	1,89 Bc	1,83 Bc	1,90 Bc
G4	2,23 ABa	2,06 Bb	1,86 Dc	1,91 Bc	1,79 Bc	1,62 Cd	1,58 Cd	1,67 Cd

G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH). Letras minúsculas iguais na mesma linha, não diferem entre si ($p>0,05$). Letras maiúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si ($p>0,05$).

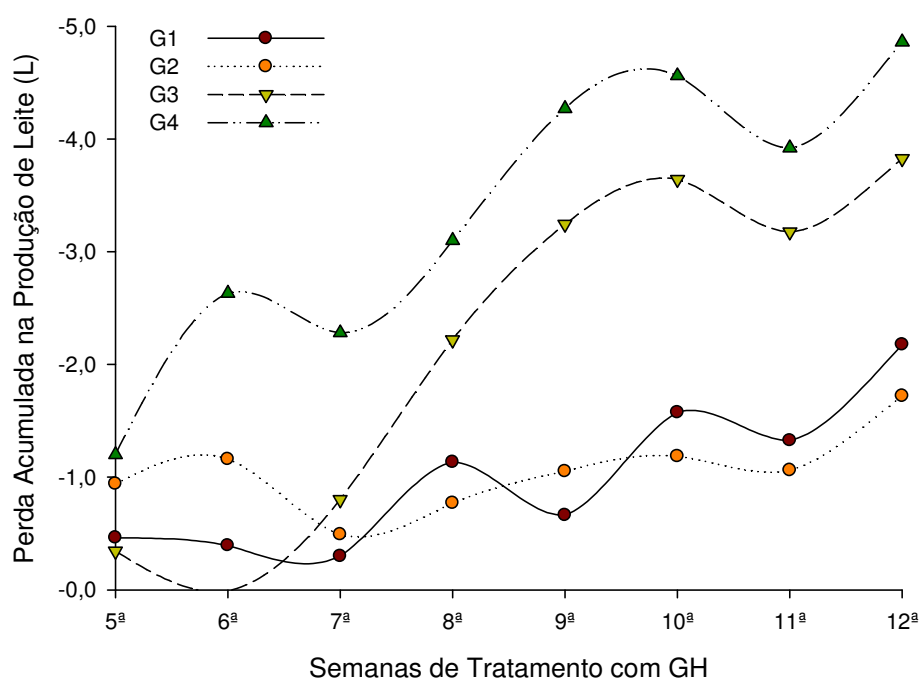


Figura 8. Queda de produção de leite de cabras tratadas com GH/Placebo.

4.4 MORFOMETRIA EXTERNA E INTERNA DE TETO E ÚBERE NO DESENVOLVIMENTO (1ª FASE)

A única medida realizada, que apresentou diferença entre os grupos ($p < 0,05$) foi a “Distância do Teto ao Solo”, como podemos notar na Figura 9. Contudo, os animais do grupo G3 tiveram maior distância do teto ao solo que os animais do grupo G4 ($p < 0,05$). Como esta distância tende a diminuir com o maior desenvolvimento de úbere e teto, é possível que os animais do grupo G4 tenham atingido a puberdade mais cedo que os animais do G3, e por consequência tenham alcançado maior desenvolvimento na época desta medida. Porém, são inúmeros os fatores que influenciam os resultados desta medida, como a altura do animal, comprimento de teto, posição dos animais no momento da mensuração, sendo difícil fazer tal afirmação considerando apenas esta distância.

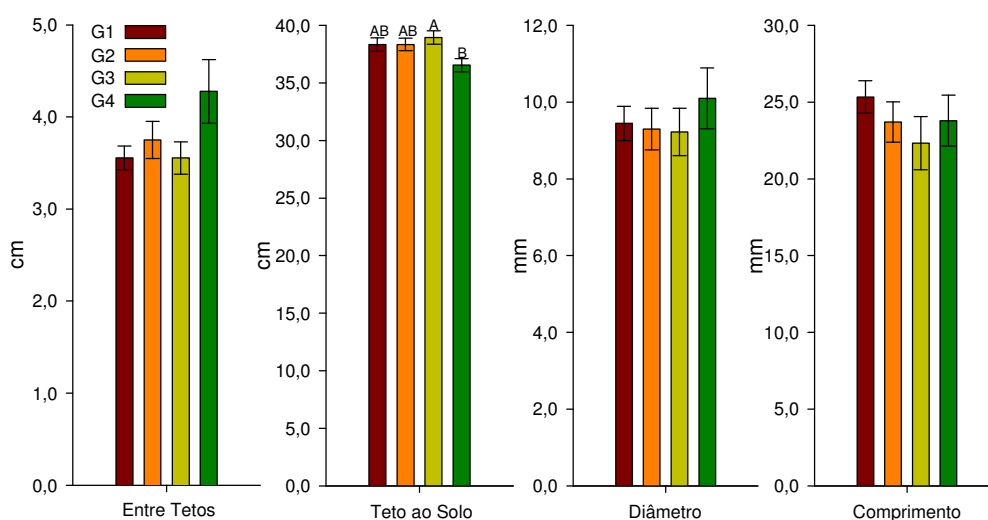


Figura 9. Medidas externas realizadas ao final do tratamento com GH/placebo de cabritas da raça Saanen. Letras iguais, não diferem entre si ($p > 0,05$).

O único parâmetro interno que apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) foi o de “Espessura de Parede de Teto” (Figura 10). Esta medida é muito utilizada como indicativo de deformação de teto em função de diferentes modos de ordenha (WEISS et al., 2004; MARNET et al., 2005). A espessura de parede de teto dos grupos tratados com GH (G1 e G2) foram maiores que as dos grupos tratados com placebo (G3 e G4), entretanto, apenas a diferença entre o grupo G1 e G4 foi estatística ($p < 0,05$). Não houve diferença ($p > 0,05$) entre as médias de espessura de parede de teto dos grupos G2 e G3. Este maior espessamento de parede de teto pode ter ocorrido em função da hipertrofia das células, que ocorre em animais tratados com GH (KNIGHT & WILDE, 1993).

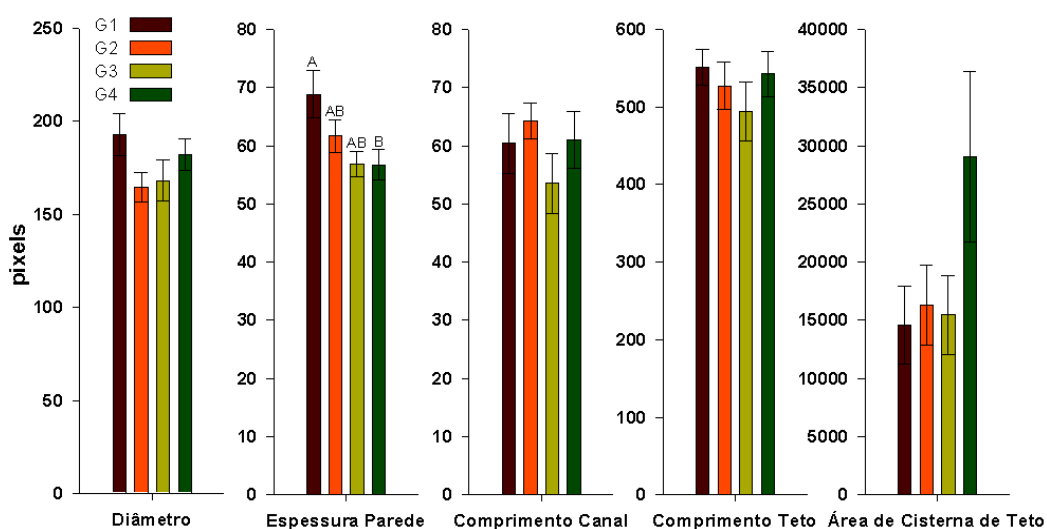


Figura 10. Medidas de imagens de ultra-som realizadas ao final do tratamento com GH/placebo de cabritas da raça Saanen. Letras iguais, não diferem entre si ($p > 0,05$).

4.5 MORFOMETRIA EXTERNA DE TETO E ÚBERE NA GESTAÇÃO (2ª FASE)

Na morfometria desta fase não houve efeito da interação entre os grupos e os meses de gestação ($p>0,05$), sobre qualquer parâmetro mensurado, (Figura 11). O tratamento com GH realizado durante o desenvolvimento dos caprinos não promoveu maior crescimento de úbere e tetos ($p>0,05$), como demonstrado nas Tabelas 6 e 7. O tratamento com GH não promoveu a hiperplasia, ou aumento mitótico das células secretoras da glândula mamária (aumento da síntese de DNA), porém estimulou a hipertrofia das mesmas e foi possível observar diminuição na taxa de apoptose destas células (KNIGHT & WILDE, 1993). Após o pico de lactação, cabras apresentam significativa diminuição na síntese de DNA e, conseqüente, diminuição da produção de leite. Contudo as cabras tratadas com GH mantêm o mesmo número de células, ou seja, apresentam menos apoptose e podem manter alta produção de leite após o pico de lactação (KNIGHT & WILDE, 1993). RADCLIFF et al. (2000) experimentando o tratamento com GH em novilhas pré-púberes alimentadas com concentrado altamente energético e protéico, demonstraram que o GH permitiu a produção de leite mais precocemente e sem prejuízos na produção, já que o GH diminuiu a lipogênese que ocorre em detrimento do tecido secretório, em novilhas que recebem alimentação super concentrada. Assim, podemos notar que mesmo que o GH tenha diminuído o acúmulo de tecido adiposo, não pudemos verificar estes efeitos, já que a ultra-sonografia de glândula mamária não permite esta diferenciação.

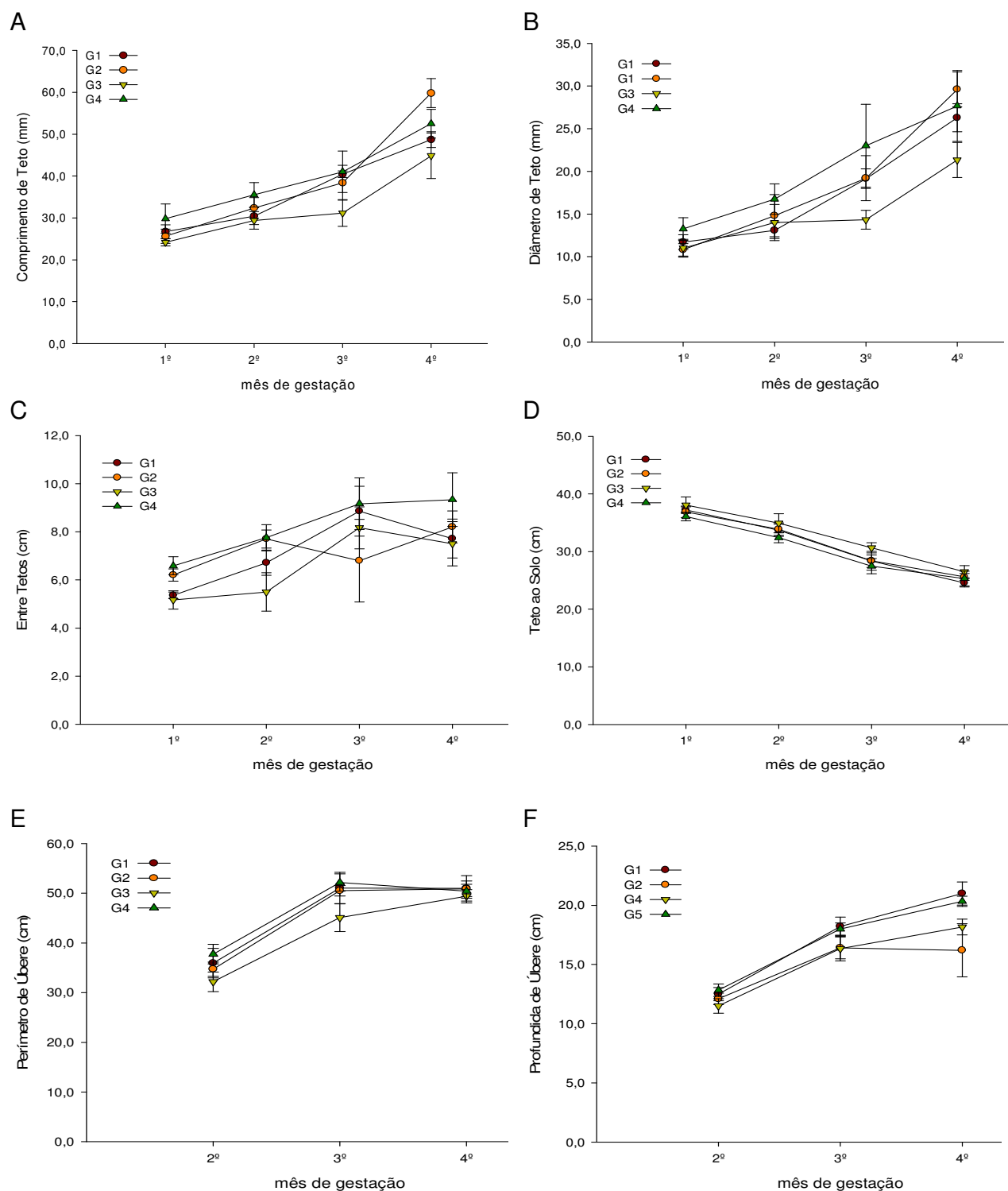


Figura 11. Gráficos das morfometrias externas realizadas durante a gestação das cabritas tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo. A – Comprimento de Teto; B – Diâmetro de Teto; C – Distância Entre Tetos; D – Distância do Teto ao Solo; E – Perímetro de Úbere; e F – Profundidade de

Úbere. G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH).

Tabela 6. Medidas de Teto realizadas durante a gestação de cabras Saanen tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo, média total dos grupos.

Medidas de Teto	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
Comprimento (mm)	36,57 ± 1,38 a	39,05 ± 1,63 a	32,40 ± 1,49 b	39,71 ± 1,49 a
Diâmetro de Teto (mm)	17,55 ± 1,01 ab	18,60 ± 1,20 a	15,17 ± 1,09 b	20,17 ± 1,09 a
Entre Tetos	7,16 ± 0,37 ab	7,22 ± 0,44 ab	6,58 ± 0,40 b	8,21 ± 0,40 a
Teto ao Solo (cm)	30,96 ± 0,60 b	31,20 ± 0,60 ab	32,54 ± 0,54 a	30,33 ± 0,54 b

G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH). Letras minúsculas iguais, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Tabela 7. Medidas de Úbere realizadas durante a gestação de cabras Saanen tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo, média total dos grupos.

Medidas de Úbere	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
Perímetro (cm)	46,00 ± 1,21 a	45,37 ± 1,43 a	42,23 ± 1,35 a	46,78 ± 1,31 a
Profundidade (cm)	17,24 ± 0,47 a	14,90 ± 0,56 b	15,33 ± 0,53 b	17,06 ± 0,51 a

G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH). Letras minúsculas iguais, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Com o decorrer da gestação as cabritas Saanen apresentaram desenvolvimentos importantes nos parâmetros medidos (Tabelas 8 e 9). Em todas as medidas realizadas podemos notar maiores medidas no quarto mês e menores medidas nos dois primeiros meses ($p<0,05$). O único parâmetro mensurado que exhibe redução de medidas ao longo da gestação foi o de “Distância do Teto ao Solo”, porém a diminuição das medidas deste parâmetro, ao longo da gestação, é esperada.

Durante a gestação, ocorrem os principais desenvolvimentos da glândula, úbere e tetos (TUCKER, 1987; FONSECA, 1995), assim sendo, os resultados de morfometria encontrados no presente experimento coincidem com a literatura científica.

No quarto mês de gestação, o comprimento médio de teto encontrado (Tabela 8), foi semelhante ao relatado por MANFREDI et al. (2001), que em cabras Saanen de primeira lactação observaram comprimento médio de teto de $5,8 \text{ cm} \pm 1,56$. Porém, LE DU & BENMEDERBEL (1984), em pesquisa com cabras Saanen, encontraram média de comprimento de teto de $3,12 \text{ cm} \pm 0,83$. Esta diferença nos resultados se deve ao uso de diferentes técnicas de mensuração, sendo a técnica usada no presente trabalho a mesma utilizada por MANFREDI et al. (2001) para a mensuração de comprimento de teto.

Em experimento com cabras Alpinas multíparas, FREIRIA (2003) encontrou diâmetro médio de tetos entre $8,0 \text{ cm}$ e $4,3 \text{ cm} \pm 0,14$ aos 150 dias de lactação. Porém, cabras Saanen apresentam diâmetro de teto menor, em relação a fêmeas Alpinas. A média de diâmetro de teto no quarto mês de gestação, das cabritas experimentais foi de $2,6 \text{ cm}$, pouco menor do que relatado por MANFREDI et al. (2001) que observaram médias de comprimento de teto de $2,95 \text{ cm} \pm 0,92$ em cabras Saanen, ao longo da lactação. O diâmetro de teto possui alta herdabilidade (LUO et al., 1997), sendo um importante parâmetro para a seleção de animais.

A distância entre tetos, que as cabritas experimentais apresentaram no segundo mês de lactação foi de $6,91 \text{ cm}$, sendo foi semelhante à observada em cabritas nulíparas da raça Murciano-Granadina, dias antes ao parto (SALAMA et al., 2007).

Não houve diferença na distância média entre tetos dos grupos ($p>0,05$), assim como, não observamos diferença de produção de leite entre os tratamentos ao início da lactação ($p>0,05$). Segundo CAPOTE et al. (2006), existe uma alta correlação ($0,77$) da distância entre tetos e a produção de leite de cabra, correlação muito próxima à encontrada entre volume de úbere e produção de leite em cabras Alpinas (GALL, 1980).

A distância do teto ao solo ao longo da gestação foi decrescente, havendo grande diferença das medidas realizadas mensalmente. A distância média do teto ao solo das cabritas Saanen no quarto mês gestação (Tabela 8) corroboram com os resultados encontrados por LE DU & BENMEDERBEL (1984), em cabras Saanen no início de lactação. Este mesmo resultado foi menor do que o observado em cabras da raça Alpina (aproximadamente $27,8 \text{ cm}$) em início de lactação (FREIRIA, 2003). Estes

mesmos animais, do experimento de FREIRIA (2003), também apresentaram produção de leite inferior (<1,5 L) as cabras estudadas no experimento em questão (>2,25 L) ao 30º e 35º dia de lactação, respectivamente. Esta correlação negativa entre distância do teto ao solo e a produção de leite é atribuída a maior elasticidade necessária para o armazenamento de um maior volume de leite pelos animais mais produtivos (LE DU & BENMEDERBEL, 1984).

Tabela 8. Medidas de teto realizadas durante a gestação de cabras Saanen tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo, média total dos meses.

Medidas de Teto	Meses de Gestação			
	1º	2º	3º	4º
Comprimento (mm)	26,58 ± 1,50 d	31,94 ± 1,50 c	37,75 ± 1,55 b	51,46 ± 1,50 a
Diâmetro de Teto (mm)	11,69 ± 1,13 c	14,65 ± 1,08 c	18,92 ± 1,10 b	26,22 ± 1,10 a
Entre Tetos (cm)	5,83 ± 0,40 b	6,91 ± 0,41 b	8,25 ± 0,44 a	8,19 ± 0,41 a
Teto ao Solo (cm)	37,07 ± 0,50 a	33,74 ± 0,55 b	28,73 ± 0,67 c	25,50 ± 0,55 d

Letras minúsculas iguais, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Tabela 9. Medidas de úbere realizadas durante a gestação de cabras Saanen tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo, média total dos meses.

Medidas de Úbere	Meses de Gestação		
	2º	3º	4º
Perímetro (cm)	35,14 ± 1,17 b	49,70 ± 1,14 a	50,43 ± 1,14 a
Profundidade (cm)	12,23 ± 0,46 c	17,24 ± 0,45 b	18,92 ± 0,45 a

Letras minúsculas iguais, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Não foi encontrado efeito de grupos sobre o perímetro de úbere ($p>0,05$), como o apresentado na Tabela 7. Ao longo dos meses de gestação ocorreu aumento do perímetro de úbere ($p<0,05$) (Tabela 9), resultado esperado, já que nesta fase observamos o maior desenvolvimento da glândula mamária (ANDERSON et al., 1981). Em cabras Mohair com 45 dias de lactação, ŞİMŞEK et al. (2005) encontraram um perímetro médio de úbere de 44,33 cm e CAPOTE et al. (2006) encontraram 43,1 cm de perímetro de úbere em cabras Tinerfeña em início da lactação. O perímetro de úbere mensurado no último mês de gestação foi coerente com os resultados desses autores,

pois as raças, por eles estudadas, são animais menos produtivos, que os da raça Saanen e que, portanto, possuem úberes menores.

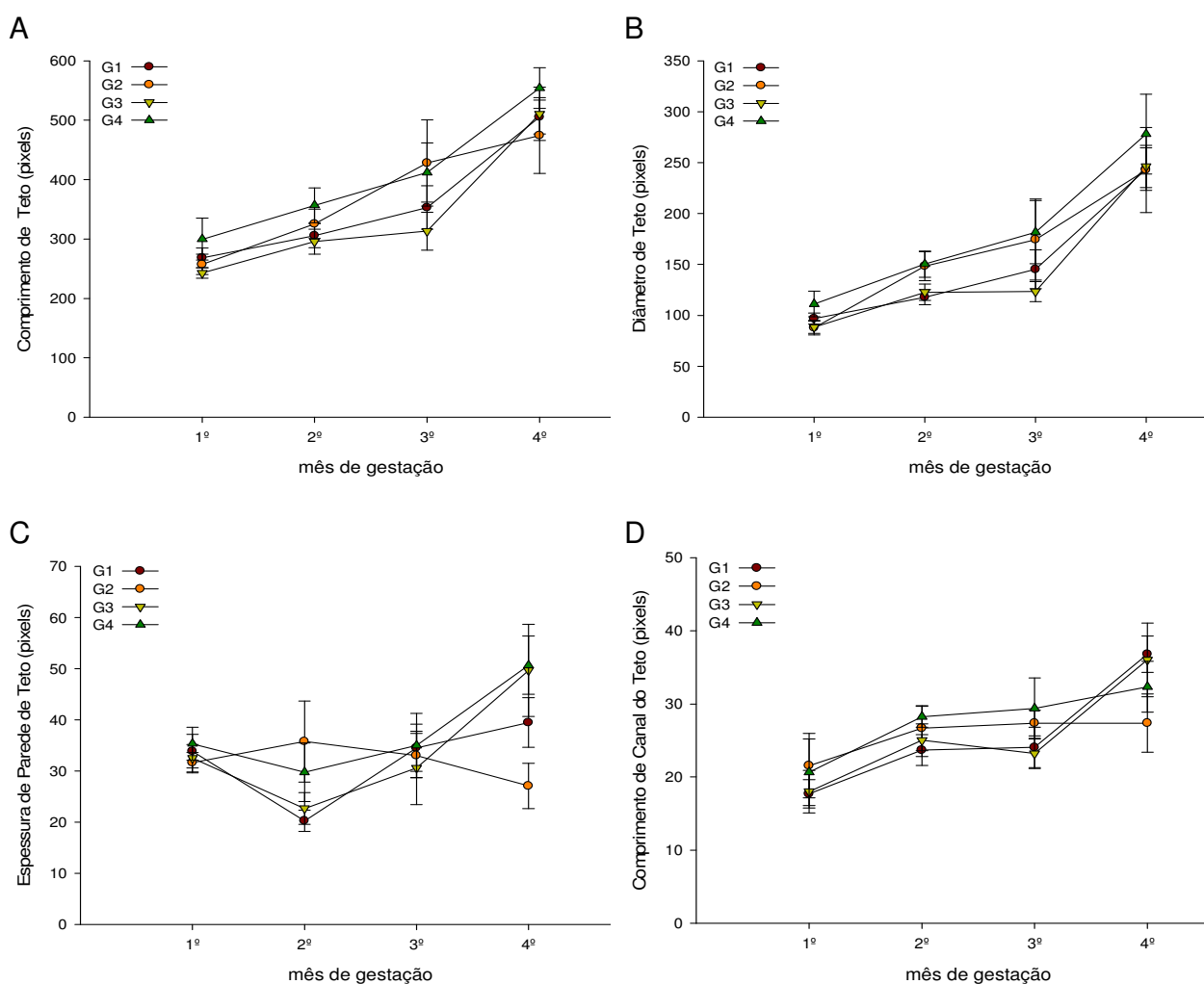
A profundidade de úbere foi crescente ao longo do 2º, 3º e 4º mês de gestação ($p < 0,05$), como podemos observar na Tabela 9. Este tipo de característica é um importante indicador da produção dos animais, por apresentar alta correlação com a produção leiteira de cabras (GALL, 1980). Além de apresentar 0,33 de herdabilidade, valor considerado alto (LUO et al., 1997). Em cabras Tinerfeña em início de lactação, CAPOTE et al. (2006), demonstraram profundidade de úbere de 21,4 cm, sendo que estas foram ordenhadas apenas uma vez por dia e 18,2 cm em cabras da mesma raça ordenhadas três vezes por dia. Em cabras Murciano-Granadina nulíparas, a profundidade encontrada foi de 14,1 cm (SALAMA et al., 2007). Considerando a diferença de porte entre as raças e estágios fisiológicos, os resultados encontrados no presente experimento são semelhantes aos observados por outros autores.

As medidas de úbere, como profundidade, perímetro e forma, em ovelhas, possuem alta correlação entre si (FERNÁNDEZ et al., 1997; MILERSKI et al., 2006). Podemos observar em nossos resultados de perímetro e profundidade de úbere, durante os 3 meses intermediários de gestação, que houve o maior desenvolvimento do 2º para o 3º mês, e um crescimento menos acentuado do 3º para o 4º mês, evidenciando uma alta correlação entre as duas características.

Estes resultados demonstraram que estes parâmetros utilizados como indicadores de desenvolvimento de glândula mamária são eficientes, porém não indicam diferenciação dos tecidos.

4.6 MORFOMETRIA DE TETO E ÚBERE NA GESTAÇÃO (2ª FASE) POR ULTRA-SONOGRAFIA

Não houve efeito de grupos e da interação de grupos com meses de gestação (Figura 12) sobre os parâmetros mensurados ($p>0,05$) por meio das imagens de ultrassom.



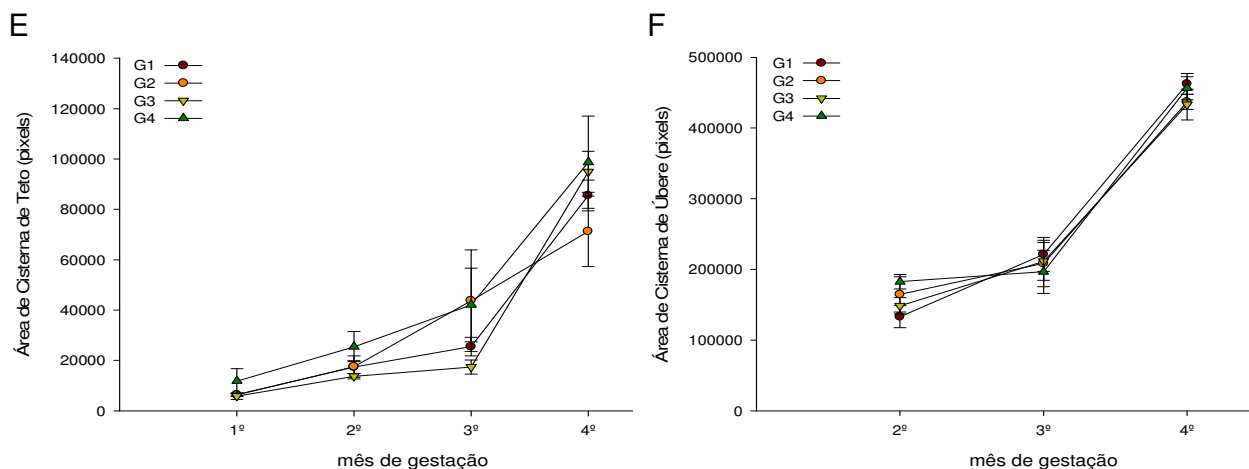


Figura 12. Gráficos das morfometrias, por ultra-sonografia, realizadas durante a gestação das cabritas tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo. A – Comprimento de Teto; B – Diâmetro de Teto; C – Espessura de Parede de Teto; D – Comprimento de Canal de Teto; E – Área de Cisterna de Teto; e F – Área de Cisterna de Úbere. G1 – Tratado com GH e ACTH; G2 – Tratado com GH e Placebo; G3 – Tratado com Placebo e ACTH; e G4 - Tratado com Placebo (GH) e Placebo (ACTH).

Porém, todos os parâmetros mensurados apresentaram resultados crescentes ao longo da gestação das cabritas ($p < 0,05$), exceto os resultados da espessura de parede de teto que não foram significativos ($p > 0,05$), como descritos nas Tabelas 10 e 11. Também pudemos observar um maior desenvolvimento dos parâmetros mensurados do 3º para o 4º mês, no qual ocorreu maior desenvolvimento da glândula mamária dos caprinos, maior síntese de DNA, RNA e aumento do peso da glândula mamária (ANDERSON et al., 1981; TUCKER, 1987; DIJKSTRA et al., 1997), sendo neste período também, que se observa maior mitose de tecido parenquimatoso. CAJA et al. (2004) em experimento com vacas avaliaram a área de cisterna ao longo da lactação, concluindo que ocorreu diminuição da área com o avanço do tempo de lactação, nesta fase também, se observa diminuição da síntese de DNA (TUCKER, 1987). Tais relações entre os resultados da síntese de DNA e da área de cisterna podem ser indicativos de uma correlação entre ambos indicadores.

A área de cisterna mensurada por meio da ultra-sonografia apresentou alta correlação com a fração de leite cisternal (0,76) e com o leite total (0,70), em cabras da

raça Murciano-Granadina, 8h. após a ordenha (SALAMA et al., 2004) e correlações maiores ainda (0,82), foram descritas por NUDDA et al. (2000) em ovelhas da raça Sarda, 24h. após a ordenha. As áreas de cisterna de úbere e tetos, apresentaram o mesmo perfil de curva de crescimento entre si, sendo estas semelhantes ao perfil da curva de síntese de DNA em cabras prenhes, no mesmo período (TUCKER, 1987).

Tabela 10. Medidas de teto realizadas durante a gestação de cabras Saanen tratadas com GH/Placebo e ACTH/Placebo. Medidas realizadas a partir de imagens de ultra-sonografia, média total dos meses.

Medidas de Teto (pixels)	Meses de Gestação			
	1º	2º	3º	4º
Comprimento	267,03 ± 18,97 c	308,16 ± 18,64 c	383,29 ± 19,30 b	511,10 ± 18,97 a
Diâmetro	96,09 ± 10,86 c	129,52 ± 10,66 b	159,70 ± 11,05 b	252,63 ± 11,12 a
Espessura de Parede	32,74 ± 4,41 a	31,86 ± 5,89 a	33,84 ± 4,88 a	43,42 ± 4,38 a
Comprimento de Canal	19,48 ± 1,88 c	27,31 ± 1,88 b	26,63 ± 2,01 b	33,13 ± 2,07 a
Área de Cisterna	7613,5 ± 4448,96 c	17640,0 ± 4793,04 c	32959,0 ± 5093,41 b	87628,0 ± 5088,57 a

Letras minúsculas iguais, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Tabela 11. Médias mensais das Áreas de Cisterna de Úbere (pixels) de cabras Saanen tratadas com GH/Placebo e com ACTH/Placebo.

	Meses de Gestação		
	2º	3º	4º
Área de Cisterna	150689,0 ± 11138,0 c	212720,0 ± 11538,0 b	447324,0 ± 11752,0 a

Letras minúsculas iguais, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

As imagens obtidas com o ultra-som e mensuradas por programa de computador apresentaram grande variação entre os resultados apresentados pelos pesquisadores. Isto, pois, há muitas variantes que influenciam as medidas: frequência do ultra-som, modelo de probe, tamanho da imagem em que se realiza a medida, unidade de medida, tamanho do recipiente utilizado para conter a água e tamanho do monitor. PERÉZ et al. (2002) em experimento com cabras Alpinas Francesas apresentaram médias de área de cisterna de úbere de $59,59 \pm 15,27 \text{ cm}^2$, enquanto que SALAMA et al. (2004) mensurou $28,3 \text{ cm}^2$ de área de cisterna de úbere em cabras Murciano-Granadina, após

24h. da última ordenha. WÓJTOWSKI et al., (2006) que desenvolveu e aprimorou a técnica de imagens de ultra-som em úberes e tetos de cabras imersos na água, encontrou áreas de cisternas de úbere de 38,91 cm² em animais da raça Polish White. No entanto, este método é muito eficiente para realizar comparações entre grupos, ao longo de estágios fisiológicos ou tratamentos, pois se torna possível à utilização da mesma técnica e equipamentos para realizar as medidas.

Os resultados das medidas de comprimento de teto e diâmetro foram semelhantes aos resultados encontrados na morfometria externa deste mesmo experimento (Tabela 8). Tais medidas estão relacionadas ao melhor acoplamento de teteiras de ordenhadeiras mecanizadas, sendo atualmente inúmeros os estudos que consideram estas medidas como índices para programas de melhoramento genético (MARNET et al., 2005). Podemos observar nos resultados de comprimento de canal de teto, que houve o alongamento do canal durante a gestação. Este resultado coincide com o relato de WÓJTOWSKI et al. (2006), que demonstraram que o comprimento de canal de teto aumentou com a idade e com o número de lactações em ovinos, além de manter uma correlação positiva com as medidas externas de comprimento e diâmetro de teto em vacas (HEBEL, 1978 citado por WEISS et al., 2004). O comprimento de canal é uma importante medida, já que maiores comprimentos de canal de teto de ovelhas estão relacionados a um maior número de células somáticas no leite produzido (FRANZ et al., 2003).

Este foi o primeiro experimento que avaliou o desenvolvimento de úbere e tetos em cabritas por meio de imagens de ultra-som. Desta forma, não foi possível realizar comparações com outros trabalhos semelhantes.

V CONCLUSÕES

Geral – O tratamento com GH em cabritas Saanen não alterou o desenvolvimento da glândula mamária durante a fase pré-púbere e de gestação; o GH diminui o estresse de cabras lactantes e aumenta a persistência de produção de leite, sem afetar a composição e qualidade do leite.

1ª Fase - Desenvolvimento – O tratamento com GH não inibiu a resposta de cortisol nas cabritas desafiadas com ACTH. Cabritas Saanen desafiadas com ACTH respondem com a maior produção de cortisol, de forma semelhante à animais adultos.

É possível realizar a morfometria por ultra-sonografia em cabritas pré-púberes.

2ª Fase – Gestação – O tratamento com GH, realizado anteriormente a gestação, não altera o desenvolvimento da glândula mamária ao longo deste período. É possível utilizar a ultra-sonografia como ferramenta de medição de desenvolvimento da glândula mamária em cabritas.

3ª Fase – Lactação – Cabras tratadas com GH apresentam maior persistência na produção de leite, sem alteração da composição e contagem de células somáticas. O tratamento com GH diminui a resposta de cortisol em cabras desafiadas com ACTH.

VI REFERÊNCIAS

ACUTI, G.; TODINI, L.; Malfatti, A.; Antonini, M.; Barbatoand, O.; Trabalza-MarinuCCI, M. Effects of field bean (*Vicia faba* L. var. minor) dietary supplementation on plasma thyroid hormones, insulin, insulin-like growth factor-1 concentrations and mohair characteristics in growing Angora goat kids. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)**., p. 1-11, 2008.

AFRC. Technical Committee on Responses to Nutrients, Report n.10. The nutrition of goats. **Nutrition Abstracts and Reviews (series B)**, v.67, n.11, p.765-830, 1997.

AGANGA, A.A.; AMARTEIFIO, J.O.; NKILE, N. Effect of stage of lactation on nutrient composition of Tswana sheep and goat's milk. **J. Comp. Analysis**, v. 15, n. 5, p. 533-543, 2002.

AKERS, R.M.; MCFADDEN, T.B.; PURUP, S.; VESTERGAARD, M.; SEJRSEN, K.; CAPUCO, A.V. Local IGF-1 axis in peripubertal ruminant mammary development. **J. Mammary Gland Biol. Neoplasia**, v. 5, p. 43-51, 2000.

AKERS, R.M. Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 89, p. 1222-1234, 2006.

AMICO, J.A.; MANTELLA, R.C.; VOLLMER R.R.; LI, X. Anxiety and stress responses in female oxytocin deficient mice. **J. Neuroendocrinol.**, v. 16, p. 319-324, 2004.

AMORIM, E.A.M.; TORRES, C.A.A.; BRUSCHI, J. H.; FONSECA, J.F.; GUIMARÃES, J.D.; CECON, P.R.; CARVALHO, G.R. Produção e composição do leite, metabólitos sangüíneos e concentração hormonal de cabras lactantes da raça Toggenburg tratadas com somatotropina bovina recombinante. **R. Bras. Zootec.**, v.35, n.1, p.147-153, 2006.

ANDRADE, L.P.; RHIND, S.M.; WRIGHT, I.A.; MCMILLEN, S.R.; GODDARD, P.J.; BRAMLEY, T.A. Effects of bovine somatotrophin (bST) on ovarian function in post-partum beef cows. **Rep. Fert. Dev.**, v.8, p. 951-960, 1996.

ANDRADE, P.V.D.; SOUZA, M.R.; BORGES, I.; PENNA, C. Contagem de células somáticas em leite de cabra. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** , Belo Horizonte, v. 53, n. 3, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010209352001000300021&lng=&nrm=iso>. Acesso em: 11 2008. doi: 10.1590/S0102-09352001000300021.

ARMSTRONG, D.V. Heat stress interaction with shade and cooling. **J. Dairy Sci.**, v. 77, p.2044-2050, 1994.

ASIMOV, G.J.; KROUZE N.K. The lactogenic preparations from the anterior pituitary and the increase of milk yield in cows. **J. Dairy Sci.**, v. 20, p.289, 1937.

ATKINSON, H.C.; WADDELL, B.J. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in rat pregnancy and lactation: circadian variation and interrelationship of plasma adrenocorticotropin and corticosterone. **Endocrinol.**, v. 136, p. 512-520, 1995.

AXELROD, J.; REISINE, T.D. Stress hormones: their interaction and regulation. **Science**, v. 224, n. 4, p. 452-459, 1984.

AYADI, M.; CAJA, G.; SUCH, X.; KNIGHT, C.H. Use of ultrasonography to estimate cistern size and milk storage at different milking intervals in the udder of dairy cows. **J. Dairy Res.**, v. 70, p. 1-7, 2003.

BALDI, A. Manipulation of milk production and quality by use of somatotropin in dairy ruminants other than cow, **Dom. Anim. Endoc.**, v. 17, n. 2-3, p. 131-137, 1999.

BALDI, A.; MODINA, S.; CHELI, F.; GANDOLFI, F.; PINOTTI, L.; SCESI L.B.; FANTUZ, F.; DELL'ORTO, V. Bovine somatotropin administration to dairy goats in late lactation: effects on mammary gland function, composition and morphology. **J. Dairy Sci.**, v. 85, p. 1093-1102, 2002.

BARBOSA, P.G.; GONÇALVES, H.C.; WECHSLER, F.S.; RESENDE K. T.; SARTORI, D. R DA S.; PAULI, L. F. C.; PULZ, L. M.; LOSI T. C. Uso da somatotropina bovina recombinante – r-bST como alternativa para produção de leite de cabra na entressafra. **Rev. Bras. Zoot.**, v.31, p.2011-2023, 2002.

BAUMAN, D.E.; DEGEETER, M.J.; PEEL, C.J.; LANZA, G.M.; GOREWIT, R.C.; HAMMOND, R.W. Effect of recombinantly derived bovine growth hormone (bGH) on lactational performance of high yielding dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 65 (Suppl. 1), p.121, 1982.

BAUMAN, D.E.; MCCUTCHEON, S.N.; STEINHOOR, W.D., EPPARD, P.J.; SECHEN, S. J. Sources of variation and prospects for improvement of productive efficiency in the dairy cow: a review. **J. Anim. Sci.**, v. 60, p. 583, 1985.

BAUMAN, D.E.; DUNSHEA, F.R.; BOISCLAIR, Y.R.; MCGUIRE, M.A.; HARRIS, D.M.; HOUSEKNECHT, K.L. Regulation of nutrient partitioning: homeostasis, homeorhesis and exogenous somatotropin. Page 306 in 7th Int. Conf. Prod. Dis. Farm Anim. F. A. Kallfelz, ed. Cornell Univ., Ithaca, NY. 1989.

BAUMAN, D.E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. **J. Dairy Sci.**, v. 75, p. 3432-3451, 1992.

BAUMAN, D.E.; PEEL, C.J.; STEINHOOR, W.D; REYNOLDS, P.J.; TYRRELL, H.F.; BROWN, A.C.B.; HAALAND, G.L. Effect of bovine somatotropin on metabolism of

lactating dairy cows: Influence on rates of irreversible loss and oxidation of glucose and nonesterified fatty acids. **J. Nutr.**, v. 118, p. 1031, 1998.

BAUMAN, D. E. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application **Dom. Anim. Endoc.**, v. 17, n. 2-3, p. 101-116, 1999.

BENTLEY INSTRUMENTS. *Bentley 2000 Operator's Manual*. Chaska. p.77, 1995.

BINES, J.A.; HART, I.C. Metabolic limits to milk production, especially roles of growth hormone and insulin. **J. Dairy Sci.**, v. 65, p. 1375-1389, 1982.

BOSCOS, C.; STEFANAKIS, A.; ALEXOPOULOS, C.; SAMARTZI, F. Prevalence of subclinical mastitis and influence of breed, parity, stage of lactation and mammary bacteriological status on Coulter Counter Counts and California Mastitis Test in the milk of Saanen and autochthonous Greek goats. **Small Rumin. Res.**, v. 21, p. 139-147, 1996.

BROOM, D.M. Animal-welfare: concepts and measurements. **J. Anim. Sci.**, v. 69, n. 10, p. 4167-4175, 1991.

BROZOS, C.; SARATSIS, P.H.; BOSCOS, C.; KYRIAKIS, S.C.; TSAKALOF, P. Effects of long-term recombinant bovine somatotropin bST administration on milk yield, milk composition and mammary gland health of dairy ewes. **Small Rumin. Res.**, v. 29, p. 113-120, 1998.

BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.W. B-mode ultrasonography of mammary glands of cows, goats and sheep during a- and b-adrenergic agonist and oxytocin administration. **J. Dairy Res.**, v. 59, p. 151-159, 1992.

BRUCKMAIER, R.M.; SCHAMS, D.; BLUM, J.W. Milk removal in familiar and unfamiliar surroundings: concentration of oxytocin, prolactin, cortisol, and b-endorphin. **J. Dairy Res.**, v. 60, p. 449-456, 1993.

CAJA, G.; AYADI, M.; KNIGHT, C.H. Changes in cisternal compartment based on stage of lactation and time since milk ejection in the udder of dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 87, p. 2409-2415, 2004.

CANAES, T.S. Produção e composição do leite de cabras Alpinas submetidas ao transporte, à mudança de local de ordenha e à administração de ACTH. 2007. 70f. Dissertação (mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

CANT, J.P.; QIAO, F.; TOERIEN, C.A. Regulation of mammary metabolism. Pages 203–219 in Proceedings of the 8th International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition. EAAP Publication No. 96. G. E. Lobley, A. White, and J. C. MacRae, eds. Wageningen Press, Wageningen, The Netherlands. 1999.

CAPOTE, J.; ARGÜELLO, A.; CASTRO, N.; LÓPEZ, J.L.; CAJÁ, G. Short communication: correlations between udder morphology, milk yield, and milking ability with different milking frequencies in dairy goats. **J. Dairy Sci.**, v. 89, p. 2076-2079, 2006.

CAPUCO, A.V.; WOOD, D.L.; BALDWIN, R.; MCLEOD, K.; PAAPE, M.J. Mammary cell number, proliferation, and apoptosis during a bovine lactation: relation to milk production and effect of bST. **J. Dairy Sci.**, v. 84, p. 2177-2187, 2001.

CASTILLO, L.H.; GUESTA, M.M. Producción y composición de la leche, consumo y eficiencia alimentar de cabras lecheras cuando tratadas con la somatotropina bovina recombinante (rbst). Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goyatacazes. Disponível em <<http://64.233.179.104/scholar?hl=pt->

BR&lr=&q=cache:EmA5WsXF-

sAJ:www.exopol.com/general/seoc/comunicaciones/26_18.pdf+CASTILLO+L+H+++GIE STA,+M+M>. Acesso em: 10 out 2008.

CASTRO-MAGANA, M.; MADDIAH, V.T.; COLLIPP, P.J.; ANGULO, M. Synergistic effects of growth hormone therapy on plasma levels of 11-deoxycortisol and cortisol in growth hormone deficient children. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 56, p. 662-667, 1983.

CHADIO, S.; GZERVAS, E.; KIRIAKOU, K.; GOULAS, C.; MENEGATOS, J. Effects of recombinant bovine somatotropin administration to lactating goats. **Small Rumin. Res.**, v. 35, p. 263-269, 2000.

CHAIYABUTR, N.; THAMMACHAROEN, S.; KOMOLVANICH, S.; CHANPONGSANG, S. Effects of long-term administration of recombinant bovine somatotropin on milk production and plasma insulin-like growth factor and insulin in crossbred Holstein cows. **J. Agric. Sci.**, v. 143, p. 311-318, 2005.

COOK, C.J. Oxytocin and prolactin suppress cortisol responses to acute stress in both lactating and non-lactating sheep. **J. Dairy Sci.**, v. 64, p. 327-339, 1997.

COPELAND, K.C.; KUEHL, T.J.; CASTRACANE, V.D. Pubertal endocrinology of the baboon: Elevated somatomedin-C/insulin-like growth factor 1 at puberty. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 55, p. 1198-1201, 1982.

DAVIS, S.R.; COLLIER, R.J.; MCNAMARA, J.P.; HEAD, H.H.; SUSSMAN, W. Effect of growth hormone on milk yields and related physiological functions of Holstein cows exposed to heat stress. Effects of thyroxine and growth hormone treatment of dairy cows on milk yield, cardiac output and mammary blood flow. **J. Anim. Sci.**, v. 66, p. 70-79, 1988.

DAVIS, J.J.; SAHLU, T.; PUCHALA, R.; HERSELMAN, H; HART, S.P.; ESCOBAR, E.N.; COLEMAN, S.W. Effect of bovine somatotropin and ruminally undegraded protein on feed intake, live weight gain, and mohair production by yearling Angora wethers. **J. Anim. Sci.**, v. 77, p. 1029-1036, 1999.

DIJKSTRA, J.; FRANCE, J.; DHANOA, M.S.; MAAS, J.A.; HANIGAN, M.D.; ROOK, A.J.; BEEVER, D.E. A model to describe growth patterns of the mammary gland during pregnancy and lactation. **J. Dairy Sci.**, v. 80, p. 2340-2354, 1997.

DISENHAUS, C.; HERVIEU, J.; TERNOIS, F.; JAMMES, H.; KANN, G.; SAUVANT, D. Influence d'injections quotidiennes de somatotropine bovine recombinée (rbST) sur la production laitière, l'ingestion et l'état nutritionnel de la chèvre en lactation. **Annales de zootechnie**, v. 41, p. 109-110, 1992.

DISENHAUS, C.; JAMMES, H.; HERVIEU, J.; TERNOIS, F.; SAUVANT, D. Effects recombinant bovine somatotropin on goat milk yield, composition and plasma metabolites. **Small Rum Res**, v.15, p. 139-148, 1995.

DULIN, A.M.; PAAPE, M.J.; BERKOW, S.; HAMOSH, M.; HAMOSH, P. Comparison of total somatic cells and differential cellular composition in milk from cows sheep goats and humans. **Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.**, v. 42, p. 1331, 1983.

DUVAUX-PONTER, C.; ROUSSEL, S.; TESSIER, J.; SAUVANT, D.; FICHEUX, C.; BOISSY, A. Physiological effects of repeated transport in pregnant goats and their offspring. **Anim. Res.**, v. 52, p. 553-566, 2003.

ELI LILLY AND COMPANY (Indianapolis, USA). Ferguson, T.H.; Harrison, R.G.; Moore, D.L. Injectable Sustained Release Formulation, United States Patent, n. 4,997,140; 1990.

ETHERTON, T.D.; BAUMAN, D.E. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. **Physiol. Rev.**, v. 78, p. 745-761, 1998.

ELVINGER, F.; NATZKE, R.P.; HANSEN, P.J. Interactions of heat stress and bovine somatotropin affecting physiology and immunology of lactating cows. **J. Dairy Sci.**, v. 75, p. 449-462, 1992.

ESCOBAR, C.J.; BASRUR, P.K.; GARTLEY, C.; LIPTRAP, R.M. Acomparison of the adrenal cortical response to ACTH stimulation in angora and non-angora goats. **Vet. Res. Commun.**, v. 22, p. 119–129, 1998.

FAULKNER, A.; PEAKER, M. The mammary gland. Regulation of mammary glucose metabolism in lactation. New York: Plenum, 1987. p. 535-562. (Eds M. C. Neville and C. W. Daniel).

FERNÁNDEZ, G.; BARO, J.A.; DE LA FUENTE, L.F.; SAN PRIMITIVO, F. Genetic parameters for linear udder traits of dairy ewes. **J. Dairy Sci.**, v. 80, p. 601-605, 1997.

FONSECA, F.A. **Fisiologia da lactação**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1995. 137p.

FRANZ, S.; HOFMANN-PARISOT, M.; GÜTLER, S.; BAUMGARTNER, W. Clinical and ultrasonographic findings in the mammary gland of sheep. Short communication. **N.Z. Vet. J.**, v. 51, n. 5, p. 238-243, 2003.

FREIRIA, M.S. Estudo sobre a aptidão e adaptação à ordenha de cabras da raça alpina (Mestrado em Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2003, p. 46-52.

FULKERSON, W.J.; JAMIESON, P.A. Pattern of cortisol release in sheep following administration of synthetic ACTH or imposition of various stressor agents. **Aust. J. Biol. Sci.**, v. 35, n. 2, p. 215- 222, 1982.

FURTADO, M.M.; WOLFSCHOON-POMBO, A.F. Leite de cabra: composição e industrialização. **Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes**, v.33, p. 15-17, 1978.

GALL, C. Relationship between body conformation and production in dairy goats. **J. Dairy Sci.**, v. 63, p. 1768-1781, 1980.

GALLO, L.; BAILONI L.; SCHIAVON S.; CARNIER P.; RAMANZIN, M.; ANDRIGHETTO, I.; BITTANTE, G. Effect of slow-release Somatotropin on the pattern of milk yield between and within injection intervals. **J. Dairy Sci.**, v. 80, p. 46-51, 1997.

GELDING, S.V.; TAYLOR, N.F.; WOOD, P.J.; NOONAN, K.; WEAVER, J.U.; WOOD, D.F.; MONSON, J.P. The effect of growth hormone replacement therapy on cortisol-cortisone interconversion in hypopituitary adults: evidence for growth hormone modulation of extrarenal 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity. **Clin. Endocrinol.**, v. 48, p. 153-162, 1998.

GIMPL, G.; FAHRENHOLZ, F. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. **Physiol. Rev.**, v. 81, p. 629-683, 2001.

GONZÁLEZ, F.H.D. Uso do perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: UFRGS, p. 63-74, 2000.

GONZÁLEZ, F.H.D.; CAMPOS, R. Indicadores metabólico-nutricionais do leite. In: González, F. H. D.; Campos, R. (ed.): Anais do I Simpósio de Patologia Clínica

Veterinária da Região Sul do Brasil. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 31-47, 2003.

GOREWIT, R.C.; SVENNERSTEN, K.; BUTLER, W.R.; UVNAS-MORBERG, K. Endocrine responses in cows milked by hand and machine. **J. Dairy Sci.**, v. 75, n. 2, p. 443-448, 1992.

GRANNER, D.K. Hormones of the pancreas and gastrointestinal tract. In Harper's Biochemistry, 24^a ed. (Eds R. K. Murray, D. K. Granner, R. A. Mayes and V.W. Rodwell), p. 581-589. Connecticut : Appleton and Lange, 1996.

GUIMARÃES, M.P.M.P.; CLEMENTE, W.T.; SANTOS, E.C. Caracterização de alguns componentes celulares e físico-químicos do leite para o diagnóstico da mastite caprina. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, Belo Horizonte, 41(2): 129-142. 1989.

HANDELSMAN, D.J.; SPALIVIERO, J.A.; SCOTT, C.D.; BAXTER, R.C. Hormonal regulation of the penpubertal surge of insulin-like growth factor-1 in the rat. **Endocrinol.**, v. 120, p. 491-496, 1987.

HARN, N.R.; JENG, Y.N.; KOSTELC, J.G.; MIDDAUGH, C.R. Spectroscopic analysis of highly concentrated suspensions of bovine somatotropin in sesame oil. **J. Pharm. Sci.**, v. 94, n. 11, p. 2487-2495, 2005.

HENDERSON, A.J.; PEAKER, M. Effect of removing milk from the mammary ducts and alveoli, or of diluting stored milk, on the rate of milk secretion in the goat. **Q. J. Exp. Physiol.**, v. 72, p. 13-19, 1987.

HERBEIN, J.H.; AIELLO, R.J.; ECKLE, L.I.; PEARSON, R.E.; AKERS, R.M. Glucagon, insulin, growth hormone, and glucose concentrations in blood plasma of lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 68, p. 320–325, 1985.

HOLZENBERGER, M. The GH/IGF-1 axis and longevity. **Eur. J. Endoc.**, v. 151, p. S23-S27, 2004.

JENNESS, R. Composition and characteristics of goat milk: Review 1968-1979. **J. Dairy Sci.**, v. 63, p. 1605-1630, 1980.

JONES, J.I.; CLEMMONS, D.R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological functions. **Endocr. Rev.**, v. 16, p. 3-34, 1995.

KATOH, K.; SHIMOGUCHI, R.; ISHIWATA, H.; OBARA, Y. Rapid suppressing action of insulin-like growth factor-I (IGF-1) on GH release from anterior pituitary cells of goats. **Dom. Anim. Endocrinol.**, v. 26, p. 177–188, 2004.

KHAN, J.R.; LUDRI, R.S. Hormone profile of crossbred goats during the periparturient period. **Trop. Anim. Heal. Prod.**, v.34, p.151-162, 2002.

KIRSCHBAUM, C.; PRUESSNER, J.; STONE, A.A.; FEDERENKO, I.; GAAB, J.; LINTZ, D.; SCHOMMER, N.; HELLHAMMER, D.H. Persistent high cortisol responses to repeated psychological stress in a subpopulation of healthy men. **Psychosom. Med.**, v. 57, p. 468-74, 1995.

KNIGHT, C.H.; FOWLER, P.A.; WILDE, C.J. Galactopoietic and mammogenic effects of long-term treatment with bovine growth hormone and thrice daily milking in goats. **J. Endoc.**, v. 127, p. 128-138, 1990.

KNIGHT, C.H.; WILDE, C.J. Mammary cell changes during pregnancy and lactation. **Liv. Prod. Sci.**, v. 35, p. 3-19, 1993.

KNIGHT, C.H.; DEWHURST, R.J. Once daily milking of dairy cows: relationship between yield loss and cisternal milk storage. **J. Dairy Res.**, v. 61, p. 441-449, 1994.

LE DU, J.; BENMEDERBEL, B. Aptitude des chèvres de race Saanen à la traite mécanique. Relations avec les caractéristiques physiques du trayon. **Annales de Zootechnie**, v. 33, p. 375-384, 1984.

LUCY, M. C.; HAUSER, S. D.; EPPARD, P. J.; KRIVI, G. G.; CLARK, J. H.; BAUMAN, D. E.; COLLIER, R. J. Variants of somatotropin in cattle: gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production. **Dom. Anim. Endoc.**, v. 10, n. 4, p. 325-333, 1993.

LUO, M.F.; WIGGANS, G.R.; HUBBARD, S.M. Variance component estimation and multitrait genetic evaluation for type traits of dairy goats. **J. Dairy Sci.**, v. 80, n. 3, p. 594-600, 1997.

MACUHOVÁ, J.; TANCIN, V.; KRAETZL, W.-D.; MEYER, H. H. D.; BRUCKMAIER, R. M. Inhibition of oxytocin release during repeated milking in unfamiliar surroundings: the importance of opioids and adrenal cortex sensitivity. **J. Dairy Res.**, v. 69, p. 63-73, 2002.

MANFREDI, E.; PIACERE, A.; LAHAYE, P.; DUCROCQ, V. Genetic parameters of type appraisal in Saanen and Alpine goats. **Liv. Prod. Sci.**, v. 70, n. 3, p. 183-189, 2001.

MARNET, P.G.; NEGRÃO J.A. The effect of a mixed-management system on the release of oxytocin, prolactin, and cortisol in ewes during sucking and machine milking. **Rep. Nut. Dev.**, v. 40, p. 271-281, 2000.

MARNET, P.G.; McKUSICK, B.C. Regulation of milk ejection and milkability in small ruminants. **Liv. Prod. Sci.**, v. 70, n. 1–2, p. 125-133, 2001.

MARNET, P.G.; BILLON, P.; SINAPIS, E.; PONTE, P. DA; MANFREDI, E. Machine milking ability in goats: genetic variability and physiological basis of milk flow rate. In: International Committee for Animal Recording (ICAR) Technical Series Nº 10 - Machine milking ability in goats Conference on "Physiological and technical aspects of machine milking", p. 15-24, 2005.

MAYER, H.K.; LEFCOURT, A.M. Failure of cortisol injected prior to milking to inhibit milk ejection in dairy cattle. **J. Dairy Res.**, v. 54, n. 2, p. 173-177, 1987.

MCGUIRE, M.A.; BAUMAN, D.E.; DWYER, D.A.; COHICK, W.S. Nutritional modulation of the somatotropin/insulin-like growth factor system: response to feed deprivation in lactating cows. **J. Nutr.**, v.125, p. 493-502, 1995.

MEPHAN, T.B.; LAWRENCE, A.R.; PETERS, A.R.; HART, I.C. Effects of exogenous growth hormone on mammary function in lactating goats. **Horm. Metabol. Res.**, v. 16, p. 253-284, 1984.

MILERSKI, M.; MARGETÍN, M.; APOLEN, D.; CAPISTRÁK, A.; SPÁNIK, J. Udder cistern size and milkability of ewes of various genotypes. In: International Committee for Animal Recording (ICAR) Technical Series Nº 10 - Machine milking ability in goats Conference on "Physiological and technical aspects of machine milking", p. 63-69, 2005.

MILERSKI, M.; MARGETÍN, M.; CAPISTRÁK, A.; APOLEN, D., SPÁNIK, J.; ORAVCOVÁ, M. Relationships between external and internal udder measurements and

the linear scores for udder morphology traits in dairy sheep. **Czech J. Anim. Sci.**, v. 51, p. 383-390, 2006.

MOALLEM, U.; DAHL, G.E.; DUFFEY, E.K.; CAPUCO, A.V.; ERDMAN, R.A. Bovine somatotropin and rumen-undegradable protein effects on skeletal growth in prepubertal dairy heifers. **J. Dairy Sci.**, v. 87, p. 3881-3888, 2004.

MOBERG, G.P. A model for assessing the impact of behavioral stress on domestic animals. **J. Anim. Sci.**, v. 65, n. 5, p. 1228-1235, 1987.

MÖSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. **Dom. Anim. Endoc.**, v. 23, p. 67-74, 2002.

MUNDIM, A.V.; COSTA, A.S.; MUNDIM, S.A.P.; GUIMARÃES, E.C.; ESPINDOLA, F.S. Influence of parity and stage of lactation on the blood biochemical profile of Saanen goats. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 59, n. 2, 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352007000200006&lng=&nrm=iso. Acesso em: 28 set 2008. doi: 10.1590/S0102-09352007000200006.

NEGRÃO, J.A. Reponse endocrine lors de l'adaptation a la traite mecanique chez les brebis laitière. (Doutorado em Fisiologia Animal) - Ecole National Superiere Agronomique de Rennes, Rennes, p. 133, 1996.

NEGRÃO, J.A.; MARNET, P.G. Cortisol, adrenalin, noradrenalin and oxytocin release and milk yield during first milkings in primiparous ewes. **Small Rum. Res.**, v. 47, n. 1, p. 69-75, 2003.

NEGRÃO, J.A.; PORCIONATO, M.A.F.; De PASSILLÉ, A.M.; RUSHEN, J. Cortisol in saliva and plasma of cattle after ACTH administration and milking. **J. Dairy Sci.**, v. 87, n. 6, p. 1713-1718; 2004.

NEGRÃO, J.A.; PORCIONATO, M.A.F.; De PASSILLÉ, A.M.; RUSHEN, J. Behavioural responses of heifers to ACTH injections. **AP Anim. Behav.**, no prelo, 2006 a.

NEGRÃO, J.A.; MARNET, P.G. Milk yield, residual milk, oxytocin and cortisol release during machine milking in Gir, Gir x Holstein and Holstein cows. **Rep. Nut. Dev.**, v. 46, n. 1, p. 77-85; 2006 b.

NEIJENHUIS, F.; KLUNGEL, G.H.; HOGVEEN, H. Recovery of Cow Teats after Milking as Determined by Ultrasonographic Scanning. **J. Dairy Sci.**, v. 84, p. 2599-2606, 2001.

NIELSEN, M.O.; JAKOBSEN, K. Changes in mammary glucose and protein uptake in relation to milk synthesis during lactation in high- and low-yielding goats. **Comp. Bioch. Physiol.**, v. 106A, p. 359-365, 1993.

NIELSEN, M.O.; SKAKKEBÆK, N.E.; GIWERCMAN, A. Insulin-like growth factor 1 (somatomedin C) in goats during normal lactation and in response to somatotropin treatment. **Comp. Bioch. Physiol.**, v. 95A, p. 303-306, 1990.

NUDDA, A.; PULINA, VALLEBELLA, R.; BENCINI, R.; ENNE, R. Ultrasound technique for measuring mammary cistern size of dairy ewes. **J. Dairy Res.**, v. 67, p. 101-106, 2000.

NWE, T.M.; HORI, E.; MANDA, M.; WATANABE, S. Significance of catecholamines and cortisol levels in blood during transportation stress in goats. **Small Rum. Res.**, v. 20, p. 129-135, 1996.

PEAKER, M. The effect of raised intra-mammary pressure on mammary function in the goat in relation to the cessation of lactation. **J. Physiol.**, v. 301, p. 415-428, 1980.

PÉREZ, M; DE LUCAS, J; GARCÍA, E; SALVADOR, O. Evaluación preliminar mediante el uso del ultrasonido de la relación área de la ubre con la producción de leche en cabras de la raza alpina francesa. APPA, ALPA, Cusco, Perú, 2007.

PINEDA, M.H.; DOOLEY, M.P. McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction. 4º ed., p. 175-203, 597. Blackwell Publishing, 1999.

PORCIONATO, M.A.F. Adaptação de vacas das raças Holandesas e Girolando à ordenha. 2005. 75f. Tese (doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

PRASAD, H.; SENGAR, O.P.S. Milk yield and composition of the Barbari goat breed and its cross with Jamunapari, Beetal and Black Bengal. **Small Rumin. Res.**, v. 45, p. 79-83, 2002.

PRATA, L.F.; RIBEIRO, A.C.; REZENDE, K.T.; CARVALHO, M.R.B.; RIBEIRO, S.D.A.; COSTA, R.G. Composição, perfil nitrogenado e características do leite caprino (Saanen): Região Sudeste, Brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 18, n. 4, 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010120611998000400014&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 11 Sep 2008.

QUEIROGA, R.C.R.E.; COSTA, R.G.; BISCONTINI, T.M.B.; MEDEIROS, A.N.; MADRUGA, M.S.; SCHULER, A.R.F. Influência do manejo do rebanho, das condições higiênicas da ordenha e da fase de lactação na composição química do leite de cabras Saanen. **Rev. Bras. Zoot.**, v.36, n.2, p. 430-437, 2007.

RADCLIFF, R.P.; VANDEHAAR, M.J.; SKIDMORE, A.L.; CHAPIN, L.T.; RADKE, B.R.; LLOYD, J.W.; STANISIEWSKI, E.P.; TUCKER, H.A. Effects of diet and bovine somatotropin on heifer growth and mammary development. **J. Dairy Sci.**, v. 80, p. 1996-2003, 1997.

RADCLIFF, R. P.; MCCORMACK, B. L.; CROOKER, B. A.; LUCY, M. C. Plasma hormones and expression of growth hormone receptor and insulin-like growth factor-i mrna in hepatic tissue of periparturient dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 86, p. 3920-3926, 2003.

RAMPACEK, G.B.; KRAELING, R.R.; FONDA, E.S. Comparison of physiological indicators of chronic stress in confined and nonconfined gilts. **J. Anim. Sci.**, v. 58, p. 401-408, 1984.

RENNAVILLE, R.; VAN EENAEME, C.; BREIER, B. H.; VLEURICK, L.; BERTOZZI, C.; GENGLER, N.; HORNICK, J. L.; PARMENTIER, I.; ISTASSE, L.; HAEZEBROECK, V.; et al. Feed restriction in young bulls alters the onset of puberty in relationship with plasma insulin-like growth factor-I (IGF-1) and IGF-binding proteins. **Dom. Anim. Endoc.**, v. 18, n. 2, p. 165-176, 2000.

RENNAVILLE, R.; HAMMADI, M.; PORTETELLE, D. Role of the somatotropic axis in the mammalian metabolism. **Dom. Anim. Endoc.**, v. 23, n. 1-2, p. 351-360, 2002.

RESENDE, K.T. Distribuindo os partos ao longo do ano: o sistema da Unesp – Jaboticabal. Capritec, Espírito Santo do Pinhal, out. 2002. Seção Textos Técnicos e Artigos. Disponível em: www.capritec.com.br. Acesso em: 08 out. 2002.

RICHARDSON, K.C. Contractile tissues in the mammary gland, with special reference to myoepithelium in the goat. **Proc. Roy. Soc. B.** v. 136, p. 30-45, 1947.

ROGERS, G.W.; SPENCER, S.B. Relationship among udder and teat morphology and milking characteristics. **J. Dairy Sci.**, v. 74, p. 4189-4194, 1991.

RUBERTE, J.; CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ, F.; NAVARRO, M.; CAJA, G.; KIRCHNER, F.; SUCH, X. Ultrasound mammography in the lactating ewe and its correspondence to anatomical section. **Small Rumin. Res.**, v. 13, p. 199-204, 1994.

RUSHEN, J.; MUNKSGAARD, L.; MARNET, P.G.; DE PASSILÉ, A.M. Human contact and the effects of acute stress on cows at milking. **AP Anim. Behav.**, v. 73, p. 1-14, 2001.

SAHLU, T.; CARNEIRO, H.; EL SHAER, H.M.; FERNANDEZ, J.M. Production Performance and Physiological Responses of Angora Goat Kids Fed Acidified Milk Replacer. **J. Dairy Sci.**, v. 75, p. 1643-1650, 1992.

SAKURAI, K.; OHKURA, S.; MATSUYAMA, S.; KATOH, K.; OBARA, Y.; OKAMURA, H. Body growth and plasma concentrations of metabolites and metabolic hormones during the pubertal period in female Shiba goats. **J. Reprod. Dev.**, v. 50, p. 197-205, 2004.

SALAMA, A.A.K.; CAJA, G.; SUCH, X.; PERIS, S.; SORENSEN, A.; KNIGHT, C.H. Changes in cisternal udder compartment induced by milking interval in dairy goats milked once or twice daily. **J. Dairy Sci.**, v. 87, p. 1181-1187, 2004.

SALAMA, A.A.K.; CAJA, G.; ALBANELL, E.; CARNE, S.; CASALS, R.; SUCH, X. Mammogenesis and induced lactation with or without reserpine in nulliparous dairy goats. **J. Dairy Sci.**, v. 90, p. 3751-3757, 2007.

SAS, Institute Inc. (2003) SAS/STAT[®] User's Guide, Version 9.1 SAS Institute Inc., Cary, NC.

SECHEN, S.J.; MCCUTCHEON, S.N.; BAUMAN, D.E. Response to metabolic challenges in early lactation dairy cows during treatment with bovine somatotropin. **Dom. Anim. Endoc.**, v. 6, n. 2, p. 141-154, 1989.

SETTIVARI, R.S.; SPAIN, J.N.; ELLERSLECK, M.R.; BYATT, J.C.; COLLIER, R.J.; SPIERS, D. R. Relationship of thermal status to productivity in heat-stressed dairy cows given recombinant bovine somatotropin. **J. Dairy Sci.**, v.90, p. 1265-1280, 2007.

SHANKS, N.; WINDLE, R.J.; PERKS, P.; WOOD, S.; INGRAM, C.D.; LIGHTMAN, S.L. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to endotoxin is attenuated during lactation. **J. Neuroendocrinol.**, v. 11, p. 857-865, p. 1999.

SHEN, Z.; SEYFERT, H-M.; LOHRKE, B.; SCHNEIDER, F.; ZITNAN, R.; CHUDY, A.; KUHLA, S.; HAMMON, H.M.; BLUM, J.W.; MARTENS, H.; HAGEMEISTER, H.; VIOGT, J. An energy rich diet causes rumen papillae proliferation associated with more IGF type 1 receptors and increased plasma IGF-1 concentrations in young goats. **J. Nutr.**, v. 134, p. 11-17, 2004.

SILLENCÉ, M.N.; ETHERTON, T.D. Determination of the temporal relationship between porcine growth hormone, serum IGF-1 and cortisol concentrations in pigs. **J. Anim. Sci.**, v. 64, p 1019-1023, 1987.

ŞİMŞEK, U.G.; BAYRAKTAR, M.; GÜRSES, M. ÇİFTLİK KOŞULLARINDA KIL KEÇİLERİNE AİT BAZI VERİM ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI. **F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi**, v. 20, n. 3, p. 221-227, 2006.

SOMACOUNT 300. Operator's manual. Chaska: Bentley Instruments, 1995.

STELWAGEN, K.; GRIEVE, D. G.; WALTON, J. S.; BALL, J. L.; MCBRIDE, B. W. Effect of Prepartum Bovine Somatotropin in Primigravid Ewes on Mammogenesis, Milk Production, and Hormone Concentrations. **J. Dairy Sci.**, v. 76, p. 992-1001, 1993.

SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **DUKES - Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 856p. 1996.

TANCIN, V.; HARCEK, L.; BROUCEK, J.; UHRINCAT, M.; MIHINA, S. Effect of suckling during early lactation and changeover to machine milking on plasma oxytocin and cortisol levels and milking characteristics in Holstein cows. **J. Dairy Res.**, v. 62, p. 249-256, 1995.

TEODORO, R.L.; VERNEQUE, R.S.; MARTINEZ, M.L. Estudo de características do sistema mamário e suas relações com a produção de leite em vacas da raça Gir. **Rev. Bras. Zoot.**, v. 29, n. 1, p. 131-135, 2000.

TILBROOK, A.J.; TURNER, A.I.; IBBOTT, M.D.; CLARKE I.J. Activation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis by isolation and restraint stress during lactation in ewes: effect of the presence of the lamb and suckling. **Endocrinol.**, v. 147, n. 7, p. 3501-3509, 2006.

TOERIEN, C.A.; PUCHALA, R.; MCCANN, J.P.; SAHLU, T.; GOETSCH, A.L. Adrenocortical response to ACTH in Angora and Spanish goat wethers. **J. Anim. Sci.**, v. 77, p. 1558-1564, 1999.

TONNER, E.; BARBER, M.C.; TRAVERS, M.T.; LOGAN, A.; FLINT, D.J.; Hormonal control of insulin-like growth factor-binding protein-5 production in the involuting mammary gland of the rat. **Endocrinol.**, v. 138, p. 5101-5107, 1997.

TRAINER, P.J.; DRAKE, W.M.; PERRY, L.A.; TAYLOR, N.F.; BESSER, G.M.; MONSON, J.P. Modulation of cortisol metabolism by the growth hormone receptor antagonist pegvisomant in patients with acromegaly. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 86, p. 2989-2992, 2001.

TRENKLE, A. Relation of hormonal variations to nutritional studies and metabolism of ruminants. **J. Dairy Sci.**, v. 61, p. 281-293, 1978.

TRENKLE, A. Relation of hormonal variations to nutritional studies and metabolism of ruminants. **J. Dairy Sci.**, v. 61, p. 281-293, 1978.

TUCKER, H.A. Quantitative estimates of mammary growth during various physiological states: A review. **J. Dairy Sci.**, v. 70, p. 1958-1966, p. 1987.

VEGA, J.R.; GIBSON, C.A.; SKAAR, T.C.; HADSELL, D.L.; BAUMRUCKER, C.R. Insulin-like growth factor (IGF) 1 and 2 and IGF binding proteins in serum and mammary secretions during the dry period and early lactation in dairy cows. **J. Anim. Sci.**, v. 69, p. 2538-2547. 1991.

WAGNER, W.C.; OXENREIDER, S.L. Lactation and neurohypophyseal hormones adrenal function in the cow. Diurnal changes and the effects of. **J. Anim. Sci.**, v. 34, p. 630-635, 1972.

WEAVER, J.U.; THEVENTHIRAN, L.; NOONAN, K.; BURRIN, J.M.; TAYLOR, N.F.; NORMAN, M.R.; MONSON, J.P. The effect of growth hormone replacement on cortisol metabolism and glucocorticoid sensitivity in hypopituitary adults. **Clin. Endocrinol.**, v. 41, n. 5, p. 639-648, 1994.

WEISS, D.; WEINFURTNER, M.; BRUCKMAIER, R.M. Teat anatomy and its relationship with quarter and udder milk flow characteristics in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 87, p. 3280-3289, 2004.

WEST, J.W. Interactions of energy and bovine somatotropin with heat stress. **J. Dairy Sci.**, v. 77, p.2091-2102, 1994.

WINDLE, R.J.; SHANKS, N.; LIGHTMAN, S.L.; INGRAM, C.D. Central oxytocin administration reduces stress-induced corticosterone release and anxiety behavior in rats. **Endocrinology**, v. 138, p. 2829-2834, 1997.

WÓJTOWSKI, J.; ŚLÓSZARZ, P.; GÓRECKI, M.; MALECHA, W. Ultrasound measurements of goat's mammary gland cisterns during lactation. (in Polish with English summary). **Med. Wet.**, v. 58, p. 977-980, 2002.

WÓJTOWSKI, J.; ŚLÓSZARZ, P.; BIELIŃSKA, S.; NOWICKI, S.; GUT, A.; DANKÓW, R. Ultrasound image of morphological changes of teat end in sheep caused by machine milking. **Arch. Tierz.**, v. 49, special issue, p. 231-237, 2006.

ZAMBOM, M.A.; ALCALDE, C.R.; SILVA, K.T.; MACEDO, F.A.F.; SANTOS, G.T.; BORGHI, E.L.; BARBOSA, E.D. Ingestão, digestibilidade das rações e produção de leite em cabras Saanen submetidas a diferentes relações volumoso: concentrado na ração. **R. Bras. Zootec.**, v. 34, n. 6, p. 2505-2514, 2005.

ZAMBOM, M.A.; ALCALDE, C.R.; MARTINS, E.N.; SANTOS, G.T.; MACEDO, F.A.F.; HORST, J.A.; VEIGA, D.R. Curva de lactação e qualidade do leite de cabras Saanen recebendo rações com diferentes relações volumoso:concentrado. **R. Bras. Zootec.**, v.34, n.6, p.2515-2521, 2005 (supl.).

ZENG, S.S.; ESCOBAR, E.N.; POPHAM, T. Daily variations in somatic cell count, composition, and production of Alpine goat milk. **Small Rumin. Res.**, v. 26, p. 251-258, 1997.