



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

WANESKA STÉFANI SPINELLI FRIZZARINI

**Efeitos da cabergolina nas alterações microbiológicas no
leite e na concentração sérica de cálcio e hormônios**

Araçatuba

2019

WANESKA STÉFANI SPINELLI FRIZZARINI

**Efeitos da cabergolina nas alterações microbiológicas no
leite e na concentração sérica de cálcio e hormônios**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina Veterinária – UNESP, Campus
de Araçatuba, como parte das exigências
para a obtenção do título de Mestre em
Ciência Animal (Medicina Veterinária
Preventiva e Produção Animal).

Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Paula
Nogueira

Coorientador: Prof. Dr. Alicio Martins
Júnior

Araçatuba

2019

F921e

Frizzarini, Waneska Stéfani Spinelli

Efeitos da cabergolina nas alterações microbiológicas no leite e na concentração sérica de cálcio e hormônios / Waneska Stéfani Spinelli Frizzarini. -- Araçatuba, 2019

64 p. + 1 CD-ROM

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba

Orientador: Guilherme de Paula Nogueira

Coorientador: Alicio Martins Júnior

1. Vacas de leite. 2. Período Seco. 3. Cabergolina. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

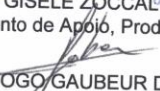
Título: Efeitos da cabergolina nas alterações microbiológicas no leite e na concentração sérica de cálcio e hormônios

AUTORA: WANESKA STÉFANI SPINELLI FRIZZARINI
ORIENTADOR: GUILHERME DE PAULA NOGUEIRA
COORIENTADOR: ALICIO MARTINS JÚNIOR

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. GUILHERME DE PAULA NOGUEIRA
Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP


Profa. Dra. GISELE ZOCCAL MINGOTI
Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba/UNESP


Prof. Dr. DIOGO GAUBEUR DE CAMARGO
Curso de Medicina Veterinária / Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium - UNISALESIANO/Araçatuba

Araçatuba, 02 de agosto de 2019.

A Deus, por sempre ter guiado meus passos para que este momento chegasse. Aos meus pais que tornaram tudo possível. Ao meu marido por sempre estar comigo. Aos amigos que sempre me apoiaram.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela vida, dificuldades e alegrias, todas estas, oportunidades de crescimento, evolução e formação de caráter.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na pessoa do diretor da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba Prof. Titular Iveraldo dos Santos.

Aos meus pais, Cláudio e Sandra, pelo incondicional amor, por não medirem esforços pra eu chegar até aqui e me ensinarem o caminho do bem. Fui criada com todo amor e carinho do mundo e tenho muito orgulho de ser filha de vocês. Obrigada por todos os sacrifícios, por se dedicarem e abdicarem de tempo e projetos pessoais para que eu pudesse chegar até aqui Tudo o que me tornei foi graças a vocês. Nunca conseguirei compensar tudo o que vocês fazem por mim. Amo demais vocês.

Ao meu marido e melhor amigo, Stephano, pelas conversas, risadas, confidências e parceria inacabável. Obrigada por sempre acreditar em mim, principalmente quando eu mesma não pude acreditar. Sem o seu apoio nada disso seria possível, te amo muito.

Aos meus sogros, Miriam e Maurício, por todo apoio e suporte. Obrigada por todo amor e por me receberem como filha.

Aos amigos e familiares, por todo apoio emocional.

Ao meu orientador Prof. Dr. Guilherme de Paula Nogueira, por ter me aceitado como orientada, pela oportunidade de crescimento, e por me permitir explorar as minhas capacidades em todo momento. Muito obrigado.

À Fazenda São Judas e São Jorge, em especial ao senhor Jorge e Bruno por me receberem tão bem e a todos os funcionários envolvidos nos trabalhos, Sandro, Cláudia, Luiz Fernando, Gisele, seu Zé, Paulinho, Jhonatas, Vitória, Aguinaldo, Sandra, por proporcionarem a realização desse projeto. Vocês se tornaram grandes amigos, que levarei comigo no meu coração. Obrigada por me permitir fazer parte da vida de vocês e por me receberem de braços abertos. Ficarei agradecida para sempre.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos durante os primeiros meses de mestrado.

Ao Dr. Alexandre Souza e à empresa Ceva, Saúde Animal, pela oportunidade de desenvolvermos este projeto.

À Prof. Adjunto Elisa Helena Giglio Ponsano e Prof. Adjunto Márcia Marinho por terem participado da banca de qualificação e pelas contribuições, muito obrigada.

À Prof Adjunto Gisele Zoccal Mingoti e ao Prof. Dr. Diogo Gaubeur de Camargo por aceitarem participar da banca de defesa, muito obrigada.

À equipe do Laboratório de Endocrinologia Animal, por me ajudarem sempre que possível, com muita paciência e amizade. À Devani por dosar com tanto carinho as minhas amostras e por se tornar mais do que uma grande amiga, você é a minha figura materna em Araçatuba. Ao Marcos Maioli pelos ensinamentos. À Tâmilis por toda ajuda, amizade, risadas e conversas que levarei para sempre. À Ana Flávia pela ajuda no laboratório, nos trabalhos de campo e na vida, você é um ser humano iluminado, não existem palavras que possam descrever meu carinho e admiração por você! Estarei agradecida sempre.

Ao Laboratório de Microbiologia da FMVA, por me ensinarem e me ajudarem. À professora Márcia Marinho por todo apoio durante meu experimento. À Cilene, Laura, Haruê, Letícia, Andrey, Idemar, Jaqueline e Matheus por toda paciência e ajuda. Serei eternamente grata a cada um de vocês.

Aos graduandos Lucas Alzamora e Eliana Taricano, por ajudarem nos trabalhos de campo e de laboratório.

"A vida sem luta é um mar morto no centro do organismo universal."

Machado de Assis

FRIZZARINI, W. S. S. **Efeitos da cabergolina nas alterações microbiológicas no leite e na concentração sérica de cálcio e hormônios.** 2019. 61f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2019.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi comparar as concentrações séricas de cálcio, progesterona e fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I) e a ocorrência de crescimento microbiano no leite e de retenção de placenta antes da secagem e após o parto de vacas de alta produção tratadas ou não com cabergolina. Foram utilizadas 48 vacas multíparas, das raças holandesas, girolandas ou jersolandas no final da lactação (aproximadamente 60 dias antes do parto), com produção acima de 14 L/dia. Os animais foram divididos em grupo controle e grupo tratado, recebendo 5,6 mg de cabergolina via I.M. As coletas de sangue para mensuração das concentrações de progesterona, IGF-I e de cálcio sérico foram realizadas no dia da secagem (antes da aplicação da cabergolina), um dia após a secagem, sete dias após a secagem, de quinze a sete dias antes do parto e sete dias após o parto; no dia do parto e um dia após o parto foi feita apenas a dosagem de cálcio. Para análise microbiológica foi coletado leite sete dias antes da secagem, no dia da secagem e no dia do parto e foi observada a ocorrência de retenção de placenta. Não foi observada diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$) na ocorrência de infecção da glândula mamária, nas concentrações séricas de cálcio e hormônios, exceto nas amostras coletadas uma semana após o parto, quando a concentração de cálcio foi superior no grupo tratado quando comparado ao controle ($11,10 \pm 1,751$ vs. $9,610 \pm 2,212$ mg/dL, $p = 0,03$). A ocorrência de retenção de placenta foi menor no grupo tratado do que no controle (2/22 vs 8/16, $p = 0,0068$). Concluiu-se que o uso da cabergolina não induziu a hipocalcemia, não interferiu nas concentrações séricas dos hormônios analisados, e não interferiu nos casos de infecção intra-mamária e retenção de placenta em vacas de leite.

Palavras chave: Vacas de leite. Glândula mamária. Período seco. Cabergolina. Mastite. Bem-estar animal.

FRIZZARINI, W. S. S. **Effects of cabergoline on microbiological changes in milk and serum calcium and hormone concentration.** 2019. 61f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2019.

ABSTRACT

The objective of this study was to compare the serum concentrations of calcium, progesterone, insulin-like growth factor-1 (IGF-I), occurrence of milk microbiological growth and of retained placenta before drying off and after parturition in high production dairy cows treated or not with cabergoline. A total of 48 multiparous Holstein, Gyr x Holstein and Jersey x Holstein cows at the end of lactation period (approximately 60 days before partum) were used, with production above 14L/day and sorted into control and treated group receiving 5.6 mg of cabergoline via I.M. Blood samples for serum concentrations of progesterone, IGF-I and calcium were drawn on the day of drying off (before cabergoline injection), one day after drying off, seven days after drying off, between fifteen and seven days before partum and seven days postpartum; on the day of parturition and one day postpartum only calcium was measured. For microbiological analysis, milk samples were collected seven days before drying off, on the day of drying off and on the day of partum. In addition, occurrence of retained placenta were recorded. No significant difference was observed between the groups ($p > 0.05$) in the occurrence of mammary gland infection, calcium and hormones serum concentrations, except in the samples collected one week after calving, when the calcium concentration was higher in the treated group compared to the control group (11.10 ± 1.751 vs. 9.610 ± 2.212 mg/dL, $p = 0.03$). The occurrence of placental retention was lower in the treated group than in the control (2/22 vs 8/16, $p = 0.0068$). It was concluded that the use of cabergoline neither induce hypocalcemia, nor interfere in the serum concentrations of the hormones analyzed and did not interfere in the occurrence of intra-mammary infection or placenta retention in dairy cows.

Key words: Dairy cows. Mammary gland. Dry period. Cabergoline. Animal welfare.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama indicando a funções de barreira e de cerca da tight junction	18
Figura 2 - Ilustração da homeostase do cálcio durante o parto na vaca	26
Figura 3 - Ilustração esquemática da incidência de novas infecções intramamárias durante o ciclo da lactação	29
Figura 4 - Concentração plasmática de prolactina (ng/mL) em vacas tratadas com placebo (CTRL; barras pretas) e vacas tratadas com cabergolina (CAB; barras cinzas) na secagem	35
Figura 5 - Ilustração do delineamento experimental adotado na Fazenda São Jorge (A) e na Fazenda São Judas (B)	39
Figura 6 - Gráfico da comparação do crescimento microbiológico entre o GT e GC	47
Figura 7 - Comparação da ocorrência de retenção de placenta entre os grupos.	48
Figura 8 - Ocorrência de retenção de placenta em relação a concentração de cálcio no dia do parto	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição dietária dos animais da Fazenda São Jorge	38
Tabela 2 -Concentração de cálcio, IGF-I e progesterona nos grupo tratado e controle na secagem, um dia e sete dias após a secagem, quinze a sete dias antes do parto, no dia do parto, um dia e sete dias após o parto. Dados apresentados com média (DP)	44

LISTA DE ABREVIATÖES

%	porcentagem
1,25(OH) ₂ D ₃	1,25 diidroxivitamina D ₃
µL	microlitro
Ca	cálcio
CA	controle alto
CB	controle baixo
dL	decilitro
DNA	ácido desoxirribonucleico
DP	desvio padrão
FDN	fibra em detergente neutro
g	gramas
GC	grupo controle
GH	hormônio de crescimento
GnRh	hormônio liberador de gonadotrofinas
GT	grupo tratado
IGF-I	fator de crescimento semelhante à insulina tipo I
IGFBP-5	proteína de ligação ao fator de crescimento semelhante à insulina 5
IM	intramuscular
Kg	quilograma
L	litros
LH	hormônio luteinizante
mEq	miliequivalente
mg	miligrama
mL	mililitro
mM	milimol
MS	matéria seca

ng	nanograma
P4	progesterona
PTH	paratormônio
RER	retículo endoplasmático rugoso
RNA _m	RNA mensageiro
TGF-β1	fator de crescimento transformador β1
TJ	<i>tight junctions</i>
UFC	unidades formadoras de colônias
VDR	receptor intracelular do hormônio 1,25(OH) ₂ D ₃

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Histologia das células mamárias	18
2.2 Mudanças morfológicas e estruturais durante o período seco	19
2.3 Regulação hormonal da glândula mamária	20
2.3.1 Prolactina	21
2.3.2 Hormônio do Crescimento (GH)	22
2.3.3 IGF-I	23
2.3.4 Progesterona	24
2.4 Metabolismo do cálcio	25
2.4.1 Retenção de Placenta	28
2.5 Infecções intramamárias durante o período seco	29
2.6 Importância do período seco	32
2.6.1 Métodos de secagem	33
3 OBJETIVO E HIPÓTESES	36
4 MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 Animais e Delineamento	37
4.2 Exame Microbiológico	39
4.3 Dosagem de hormônios e cálcio	40
4.4 Análise estatística	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 Análises séricas	43
5.1.1 Cálcio	43
5.1.2 IGF-I	45
5.1.3 Progesterona	46
5.2 Análises microbiológicas	46
5.3 Ocorrência de retenção de placenta	48

6 CONCLUSÕES	51
7 SUGESTÕES	52
REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

O gado leiteiro tem passado por um longo processo de seleção genética para aumentar a produção de leite no pico de lactação e a persistência da lactação. Um momento muito importante para esses animais é o período seco, intervalo de tempo em que o úbere se regenera para que continue produzindo grandes quantidades de leite na lactação seguinte (FORSYTH, 1996; ACCORSI et al., 2002). É também um momento muito delicado, pois a produção desses animais ainda é alta, ocorrendo frequentemente o gotejamento de leite, o que aumenta a susceptibilidade em adquirir infecções intra-mamárias (LACASSE et al., 2012).

Na América do Norte, 20% das vacas produzem mais de 22 kg de leite por dia no momento da secagem, enquanto que na década de 90 o pico de lactação não excedia 25 kg por dia (SCHUTZ et al., 1990; BERTULAT et al., 2013). Os métodos de secagem comumente utilizados não foram atualizados de acordo com o melhoramento genético dos animais e a maioria dos produtores ainda adota a secagem abrupta ou gradual da ordenha (NEWMAN et al., 2010; BERTULAT et al., 2013). Desenvolver um método que diminua a produção de leite antes da secagem é muito importante para manter a saúde e o bem estar desses animais (LACASSE et al., 2012). Os principais métodos de secagem utilizados devem ser reavaliados, pois eles envolvem o acúmulo de leite no úbere, provocando dor e estresse nos animais (BERTULAT et al., 2013).

A cabergolina é um derivado do ergot com alta afinidade aos receptores de dopamina, que age inibindo a secreção de prolactina pela hipófise (ROMAGNOLI et al., 2009; BERTULAT; FISCHER-TENHAGEN; HEUWIESER, 2015). A administração desse produto mostrou-se eficaz em diminuir o ingurgitamento do úbere logo após a secagem e em o reduzir gotejamento de leite, consequentemente diminuindo a incidência de infecções intra-mamárias durante o período seco (BACH; DE-PRADO; ARIS, 2015; BOUTINAUD et al., 2016).

O Velactis® (Ceva Santé Animale, Libourne, França), medicamento a base de cabergolina utilizado em vacas leiteiras, é relativamente novo, ele foi lançado no mercado em 2015. Em 2016, na Dinamarca, alguns animais apresentaram reações

adversas (decúbito, hipocalcemia e morte) após a utilização deste medicamento, o que fez com que sua venda fosse suspensa durante algum tempo na União Européia (CALDEIRA, 2016).

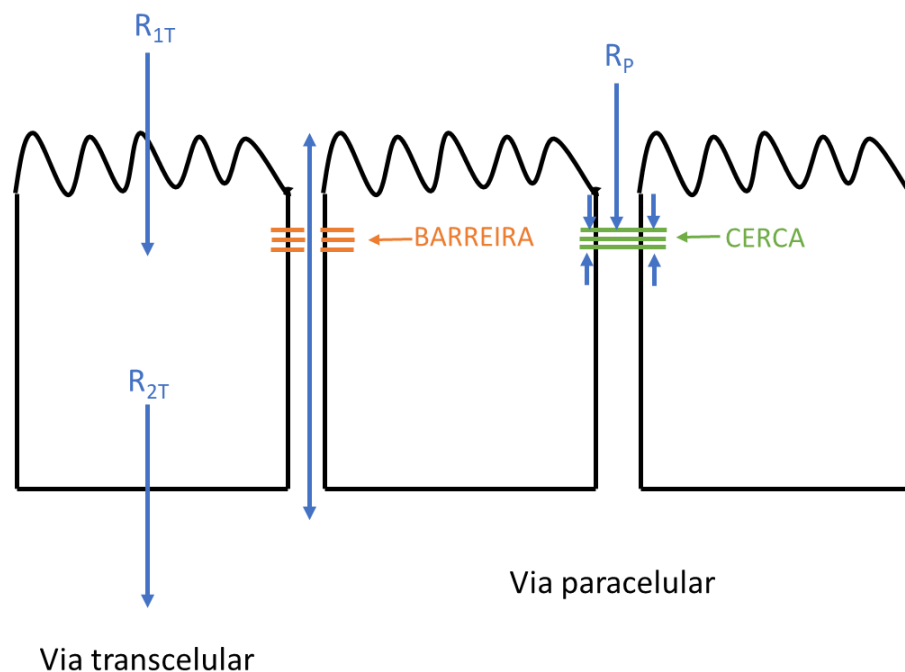
Por esses motivos comparou-se as concentrações séricas de cálcio entre os animais tratados ou não com a cabergolina. Além disso, comparou-se as concentrações de IGF-I, progesterona, crescimento microbiológico no leite antes da secagem e após o parto e a ocorrência de retenção de placenta, entre os animais tratados ou não. A hipótese é de que esse medicamento não interfere nas concentrações séricas de cálcio, IGF-I e progesterona e na ocorrência de retenção de placenta, além de reduzir a ocorrência de infecções intra-mamárias.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histologia das células mamárias

A produção de leite depende do número de células secretoras presentes na glândula mamária e a atividade metabólica delas (KNIGHT; WILDE, 1987). A formação de uma barreira entre sangue e leite é essencial para o funcionamento da glândula mamária, pois previne a passagem de íons e moléculas entre esses dois meios. Essa barreira é constituída por desmossomos, junções aderentes e junções “fechadas” (tight junctions - TJ) (KESSLER, et al., 2019). As TJ são estruturas que cercam as células epiteliais e endoteliais próximas aos seus ápices, podendo funcionar como barreira ou cerca, e são responsáveis pela seleção e regulação da passagem de solutos pela via paracelular, mantendo assim a formação da secreção presente no alvéolo, como pode ser observado na Figura 1 (SCHNEEBERGER; LYNCH, 1992; STELWAGEN, et al., 1997; STELWAGEN; SINGH, 2014).

Figura 1 - Diagrama indicando a funções de barreira e de cerca da tight junction



Na função de barreira, as TJ permitem a passagem de íons e solutos pequenos, enquanto que na função de cerca previne a mistura de moléculas dos domínios apicais com as das membranas basolaterais. As membranas plasmáticas apicais (R_{1T}) e basolaterais (R_{2T}) formam dois resistores em paralelo que impedem a passagem de corrente pela via transcelular. Ao contrário, no caminho paracelular, as TJ formam um resistor único (R_P). Adaptado de: SCHNEEBERGER; LYNCH, 1992.

A função de barreira das TJ no epitélio mamário previne a passagem de componentes do leite para o líquido intersticial e vice e versa (STELWAGEN, et al., 1997). O colostro possui maior concentração de sódio e cloro e menos lactose e potássio do que o leite, essas diferenças ocorrem devido ao fechamento dessas junções entre as células do epitélio mamário (NGUYEN; NEVILLE, 1998). Durante o período de involução ou inflamação da glândula mamária, essas junções tornam-se fracas, diminuindo a secreção de leite, o contrário ocorre no periparto, quando elas se tornam mais fechadas (STELWAGEN, et al., 1997; STELWAGEN, 2001).

O mecanismo de fechamento e abertura das TJ ocorre devido a alterações hormonais e está relacionado com alterações estruturais (NGUYEN; NEVILLE, 1998). Pitelka e colaboradores (1978) mostraram que em ratas durante a gestação as TJ eram mais desorganizadas e com menos intercomunicações, facilitando a passagem de moléculas.

A função de barreira das TJ inicia-se durante a lactogênese, mesmo período em que ocorrem grandes alterações hormonais (STELWAGEN; MCFADDEN; DEMMER, 1999). A progesterona que se mantém em altas concentrações durante a gestação previne a diferenciação das células mamárias e inibe o fechamento das TJ, enquanto que a sua diminuição durante a lactogênese permite a formação da barreira (NGUYEN; NEVILLE, 1998). Em estudo *in vitro* realizado por Stelwagen, McFadden e Demmer (1999) com células mamárias de ratas, mostrou que a prolactina estimulou a formação das TJ, mas seu efeito foi muito maior quando houve a associação com glicocorticoides, evidenciando um efeito sinérgico entre esses hormônios.

2.2 Mudanças morfológicas e estruturais durante o período seco

Durante esse período a glândula mamária passa por diferentes estados funcionais, inicialmente ocorre o período de involução ativa, seguida pela involução estacionária e por fim a lactogênese e colostrogênese (SMITH; TODHUNER, 1982). O evento morfológico mais importante durante o período de involução ativa é formação de grandes vacúolos dentro das células epiteliais alveolares,

desenvolvidos a partir do segundo dia após a última ordenha e desaparecem depois de 2 a 3 semanas, sendo formados pela fusão das vesículas secretoras e das gotículas de lipídios. O citoplasma dessas células passa a ocupar uma fina camada ao redor dos vacúolos e o núcleo desloca-se para a extremidade basal, essas alterações ocorrem devido ao crescimento acelerado dessa estrutura (HOLST; HURLEY; NELSON, 1987).

Algumas organelas das células da glândula mamária também sofrem alterações durante o início do período seco, principalmente o retículo endoplasmático rugoso (RER), o complexo de Golgi e as vesículas secretoras, que são responsáveis pela síntese e secreção da proteína do leite, enquanto que as organelas responsáveis pelo metabolismo celular mantêm-se intactas, preservando assim a sua funcionalidade. Os lisossomos foram mais frequentemente encontrados em células epiteliais mamárias apenas durante a involução, auxiliando no processo de reestruturação citoplasmática (HOLST; HURLEY; NELSON, 1987).

Estudo realizado em cabras mostrou que o número de células do parênquima mamário aumenta durante a gestação e início da lactação, e durante a lactação a hipertrofia das células secretórias garantem a persistência da lactação. Após o pico de lactação ser atingido, ocorre uma grande perda de células, que é responsável pela diminuição na produção de leite, porém a atividade por célula se mantém (FORSYTH, 1996). Essa apoptose é regulada pelo sistema endócrino, principalmente pela prolactina, pois a ausência desse hormônio resultou em diminuição na produção de leite e perda de células secretórias (FLINT; KNIGHT, 1997).

2.3 Regulação hormonal da glândula mamária

As células epiteliais mamárias têm sua proliferação e apoptose moderados por fatores locais (proteína de ligação ao fator de crescimento semelhante à insulina 5 - IGFBP5 - e o fator de crescimento transformador $\beta 1$ - TGF- $\beta 1$) e sistêmicos (hormônios galactopoiéticos e lactogênicos, fatores de crescimento semelhante à insulina, glicocorticóides e progesterona) (COLLIER; ANNEN-DAWSON; PEZESHKI, 2011). O IGFBP5, assim como o TGF- $\beta 1$ estimulam a apoptose dessas células (TONNER, et al., 1997; WILDE, KNIGHT, FLINT, 1999). Já os hormônios

galactopoiéticos, lactogênicos, fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I), hormônio do crescimento (GH), glicocorticóides estimulam a proliferação e manutenção das células mamárias ou podem auxiliar na síntese de leite (FENG et al., 1995; WILDE, KNIGHT, FLINT, 1999).

Após a interrupção da ordenha ocorre a diminuição na liberação dos hormônios galactopoiéticos, com acúmulo de leite e parada da sua produção pela menor expressão dos genes responsáveis pela sua síntese (LAMOTE et al., 2004). Imediatamente após a parada da ordenha, os níveis plasmáticos de prolactina, GH e IGF-I diminuem abruptamente, fazendo com que ocorra a apoptose das células epiteliais mamárias, culminando com a involução da glândula (ACCORSI et al., 2002; LAMOTE et al., 2004).

2.3.1 Prolactina

A prolactina é sintetizada e secretada pelos lactotrofos da hipófise, embora seu mRNA tenha sido encontrado no cérebro e em outros tecidos (FREEMAN et al., 2000). Sua secreção é estimulada pela sucção ou ordenha e é inibida pela dopamina que é secretada pelo hipotálamo (CARON et al., 1978; FREEMAN et al., 2000; LACASSE et al., 2016). Durante a sucção as concentrações de dopamina diminuem e a parada desse estímulo interrompe a secreção da prolactina e a taxa com que sua concentração plasmática diminui é proporcional ao seu *clearance* metabólico (FREEMAN et al., 2000).

Na glândula mamária a prolactina estimula seu crescimento e desenvolvimento (mamogênese), síntese do leite (lactogênese) e manutenção da secreção do leite (galactopoiese). No entanto nenhuma dessas funções ocorre devido apenas a prolactina, mas sim a uma combinação de diversos hormônios (insulina, glicocorticoides, progesterona) e fatores de crescimento (FREEMAN et al., 2000).

O crescimento e desenvolvimento lóbulo-alveolar da glândula necessitam da prolactina, estradiol, progesterona e glicocorticoides. Durante a gestação, a ramificação dos ductos e crescimento dos alvéolos ocorre devido à presença de prolactina e progesterona (FREEMAN et al., 2000). Além disso, a prolactina previne a apoptose das células epiteliais mamárias por diminuir a expressão do mRNA de

IGFBP-5, aumentando a quantidade de IGF-I disponível, o que favorece a sobrevivência dessas células (FLINT; KNIGHT, 1997; ACCORSI et al., 2002).

Em estudo realizado por Flint e Gardner (1994) com ratas, a secreção de prolactina foi inibida por meio da administração de bromocriptina (derivado do ergot com afinidade aos receptores dopaminérgicos), resultando em diminuição na secreção de leite e aumento na permeabilidade do epitélio mamário (evidenciado pelo aumento na concentração de sódio no leite). Esses autores concluíram que a prolactina atua na manutenção do epitélio mamário, pois além dos resultados citados eles evidenciaram diminuição no DNA mamário, sugerindo perda celular na ausência desse hormônio.

Durante a lactação ocorre constantemente a proliferação das células secretórias de leite na glândula mamária. O início do período seco caracteriza-se também pela redução da concentração de prolactina que está relacionada com a redução da população dessas células, com a involução da glândula e com a interrupção da produção de leite. A deficiência da prolactina por 48 horas resultou na redução da produção de leite e perda de 20 a 25% das células secretórias da glândula mamária. Essa perda celular está relacionada com o aumento de IGFBP-5 e consequente diminuição de IGF-I que era responsável por manter a atividade mitogênica dessas células. (FLINT; KNIGHT, 1997).

2.3.2 Hormônio do Crescimento (GH)

Estruturalmente o GH e a prolactina são hormônios similares, além de interagirem com receptores pertencentes à mesma superfamília, por esse motivo exercem ações semelhantes na glândula mamária, envolvendo as mesmas vias de sinalização intracelular (FLINT; KNIGHT, 1997). O GH tem um importante papel na glândula mamária, afetando seu crescimento e função. Quando administrado em novilhas pré-púberes observa-se um significativo aumento no desenvolvimento mamário desses animais (HAUSER et al., 1990). A importância do GH para a manutenção da produção de leite e crescimento da glândula foi demonstrada quando sua administração exógena induziu um aumento de 10 a 40% na produção de leite (ACCORSI et al., 2002).

Durante a primeira fase da lactogênese ocorre um aumento progressivo na expressão dos genes envolvidos com a síntese dos componentes do leite, e a regulação hormonal durante esse período é controlada principalmente pelo GH (NEVILLE; MCFADDEN; FORSYTH, 2002). No entanto seu efeito sob o tecido mamário é indireto, pois ele se liga aos seus receptores do estroma mamário induzindo a secreção de IGF-I (FLINT; KNIGHT, 1997; COHICK, 1998; NEVILLE; MCFADDEN; FORSYTH, 2002).

Durante o período seco, a diminuição na concentração de GH, juntamente com a de prolactina e IGF-I, é responsável pela perda de células do epitélio mamário por apoptose. Estudo realizado com tecido de glândulas mamárias de vacas não gestantes e no final da lactação mostrou que a fragmentação do DNA ocorreu em meio de cultura sem GH, porém essa fragmentação foi menor do que a observada na ausência de prolactina (ACCORSI et al., 2002).

2.3.3 IGF-I

Os níveis circulantes de IGFs são controlados pelo GH e pela nutrição, eles são responsáveis por estimularem o crescimento e a diferenciação de diversos tipos de células, funcionando como promotores do crescimento (MOHAN; BAYLINK, 1996). O IGF-I é produzido principalmente pelo fígado, mas também por inúmeros tecidos, e está envolvido na regulação do crescimento das células somáticas, além de atuar na proliferação celular (COHICK, 1998).

O IGF-I atua também como um fator de sobrevivência, pois inibe a apoptose das células da glândula mamária, tendo assim um importante papel na manutenção da lactação e aumento da secreção de leite, mantendo-se elevado durante o período de lactação (FORSYTH, 1996; MOHAN; BAYLINK, 1996; COHICK, 1998; NEVILLE; MCFADDEN; FORSYTH, 2002).

O nível sanguíneo de IGF-I está diretamente ligado com o consumo de energia dos animais. Quando o balanço energético é positivo, devido à baixa produção de leite, as concentrações desse hormônio tendem a aumentar (RONGE et al., 1988; VEGA et al., 1991). Logo após o início do período seco, devido à parada abrupta na ordenha, ocorre uma melhora no estado nutricional dos animais, aumentando as concentrações de IGF-I (RONGE; BLUM, 1988). Esse aumento do

IGF-I durante o período seco mostra sua importância na regeneração e desenvolvimento do parênquima mamário (RONGE; BLUM, 1988).

O contrário ocorre após o parto e início da lactação, quando a ingestão de comida, energia e proteína aumentam, mas o balanço energético e proteico fica negativo devido à alta demanda energética durante esse período (RONGE; BLUM, 1988). Pode-se observar que o balanço energético é um importante fator que determina as concentrações de IGF-I (RONGE et al., 1988).

Além do metabolismo, a ação do IGF-I é controlada também por uma família de proteínas chamada IGFBP, proteínas que se ligam ao IGF-I podendo inibir ou melhorar seus efeitos, e diversas foram detectadas no leite de vaca (IGFBP-2 até IGFBP-5) (COHICK, 1998; PLATH-GABLER et al., 2001). As funções dessas proteínas são: 1) inibir a ação do IGF-I (ou IGF-II) por competir pelos seus receptores; 2) aumento da bioatividade do IGF-I (ou IGF-II) por concentrá-lo na superfície de seu receptor; 3) transporte do IGF-I/II para os tecidos e/ou prolongamento de sua meia-vida; 4) interações com outros sistemas de fatores de crescimento; 5) ação independente do IGF (BAUMRUCKER; ERONDU, 2000).

Durante a lactação existe pouca expressão de mRNA de IGFBP, e à medida que o processo de involução mamária se inicia essa expressão aumenta, principalmente a de IGFBP-5. Essa proteína liga-se ao IGF-I, impedindo sua função e iniciando a cascata de eventos que leva à apoptose das células epiteliais mamárias (TONNER, et al., 1997). Durante a involução da glândula mamária, os níveis de IGFBP-5 aumentam, mas apenas quando os níveis de prolactina diminuem, comprovando a relação entre o IGF-I e a prolactina (STEFANON et al., 2002).

2.3.4 Progesterona

A progesterona tem importante papel na proliferação alveolar e no início da lactogênese (período no qual começa o desenvolvimento de gotículas lipídicas no citoplasma das células do epitélio mamário). Durante a gestação sua concentração mantém-se elevada, fazendo com que ocorra uma intensa ramificação dos ductos e desenvolvimento dos alvéolos, juntamente com a prolactina ou lactogênio placentário (FREEMAN et al., 2000; NEVILLE; MCFADDEN; FORSYTH, 2002).

A diminuição da concentração da progesterona no final da gestação permite que a lactogênese se inicie na presença de prolactina e glicocorticoides. A progesterona inibe a ação da prolactina modulando a transcrição, estabilização e tradução do mRNA para proteínas do leite. No entanto, esse bloqueio da prolactina pela progesterona não é absoluto, caso contrário não seria possível a lactação durante a gestação (PARK; LINDBERG, 2006).

2.4 Metabolismo do cálcio

A partir da metade do século 19 os casos de hipocalcemia em vacas de leite tornaram-se mais comuns, devido ao aumento da oferta de alimento e seleção de animais com maior produção de leite (HIBBS, 1950). A maioria dos animais consegue regular a homeostase do cálcio, no entanto, vacas recém-paridas e no início da lactação possuem maior dificuldade (HORST; GOFF; REINHARDT, 1994). O cálcio e o fósforo são obtidos pela absorção intestinal e reabsorção óssea, e a manutenção da concentração na corrente sanguínea depende da taxa com que esses minerais entram e saem das células. A regulação desses dois minerais está sob influência do paratormônio (PTH), da calcitonina e do metabólito da vitamina D (1,25-diidroxivitamina D) (HORST, 1986).

Em situações de alta demanda por cálcio, os níveis de PTH mantêm-se elevados, diminuindo as perdas de cálcio pela urina e induzindo a secreção renal da enzima 1 α -hidroxilase, responsável pela produção do hormônio 1,25 diidroxivitamina D₃ (a forma ativa da vitamina D₃), cuja principal função é estimular a absorção ativa de cálcio pelo intestino. Esse hormônio, juntamente com o PTH, é responsável por estimular a reabsorção óssea de cálcio (HORST; GOFF; REINHARDT, 2005).

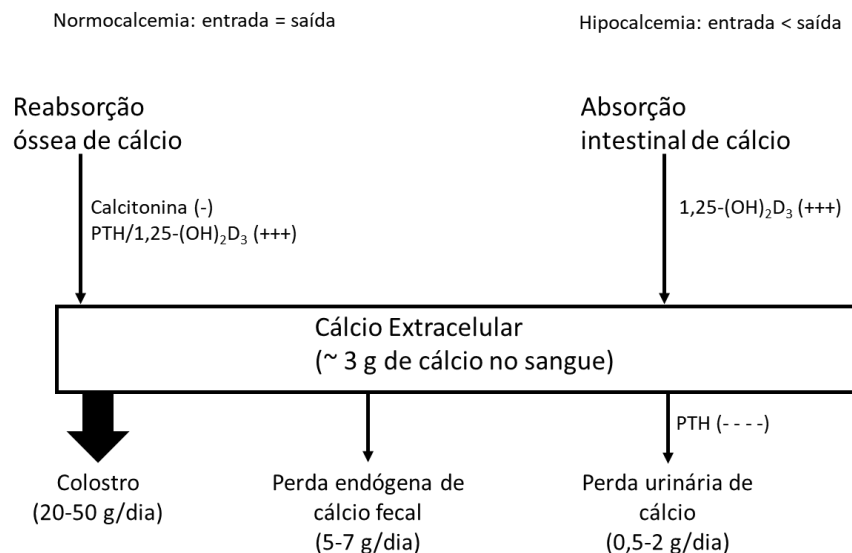
A manutenção das concentrações séricas de cálcio e fósforo é um grande desafio para vacas em lactação. Por exemplo, durante os 300 dias de lactação com produção média diária de 9 kg a vaca secretará pelo leite 11,07 kg de cálcio e 8,56 kg de fósforo. Apenas para suprir a demanda da lactação, esse animal deverá ingerir de 90 a 100g de cálcio e 60 a 70g de fósforo, por dia (HORST, 1986). A concentração de cálcio no sangue desses animais é de aproximadamente 2,5mM (equivalente a 10 mg/dL), enquanto que essas concentrações no leite e colostro

variam de 25-30mM (equivalente a 100 - 120 mg/dL) e 62-75mM (equivalente a 248 – 300 mg/dL) respectivamente (HORST; GOFF; REINHARDT, 2005).

Em função da grande demanda de minerais, distúrbios metabólicos como a febre do leite (hipocalcemia) são muito comuns em vacas recém-paridas, atingindo aproximadamente 5% das vacas (RODRÍGUEZ; ARÍS; BACH, 2017). Esses animais não conseguem atender a alta demanda de cálcio, pois esse mineral é transportado pelo sangue para a formação do colostro, levando a um quadro de hipocalcemia (HORST, 1986), como está esquematizado na Figura 2.

A febre do leite, distúrbio metabólico ocasionado pela alta demanda e baixa capacidade de absorção ou reabsorção de cálcio, ocorre geralmente 12 a 24 horas após o parto. Vacas com hipocalcemia clínica possuem concentrações plasmáticas de cálcio menor do que 5,5 mg/dl, os sinais clínicos inicialmente são apatia, orelhas frias, nariz seco e incoordenação motora ao caminhar, progredindo para incapacidade de manter-se em estação e perda de consciência (HIBBS, 1950; HORST; GOFF; REINHARDT, 2005).

Figura 2 - Ilustração da homeostase do cálcio durante o periparto na vaca



A concentração extracelular de cálcio é mantida por meio da absorção dos ossos e intestino, que na maior parte do tempo está sob controle do paratormônio (PTH) e 1,25(OH)₂D₃. A perda de cálcio no início da lactação ocorre principalmente como resultado da produção de colostro e em menor grau pela perda de cálcio pelas fezes e urina. Em animais com níveis normais de cálcio ou com hipocalcemia branda, a absorção de cálcio é aproximadamente igual a sua perda. Em animais com hipocalcemia (febre do leite), a perda de cálcio excede sua absorção. Os símbolos entre parentesis representam a resposta biológica dos tecidos alvos para os hormônios. Adaptado de: HORST; GOFF; REINHARDT, 2005.

A hipocalcemia é mais comum em animais mais velhos, principalmente a partir da terceira lactação, pois a produção de leite desses animais é maior, exigindo uma maior demanda por cálcio (CURTIS et al., 1984). Além disso, com o passar dos anos, a capacidade do organismo para mobilizar cálcio dos ossos e transportá-lo ativamente do intestino diminui. Essa mobilização é regulada pela interação do hormônio $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ com o seu receptor intracelular (VDR) (HORST; GOFF; REINHARDT, 2005). Horst, Goff e Reinhardt (1990) demonstraram que em ratos o VDR intestinal e ósseo diminui à medida que a idade aumenta, reduzindo assim a resposta do organismo ao $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, o que pode ser um motivo pelo qual a incidência de hipocalcemia aumenta com o aumento da idade dos animais.

A hipocalcemia subclínica, concentrações plasmáticas de cálcio entre 5,5 e 8,0 mg/dL, atinge cerca de 50% das vacas com mais de duas lactações (GOFF, 2008; RODRÍGUEZ; ARÍS; BACH, 2017). Ela causa muitos prejuízos sendo associada a casos de diminuição da contração muscular, retenção de placenta, metrite, cetose e deslocamento de abomaso (GOFF, 2008; MARTINEZ et al., 2012; RODRÍGUEZ; ARÍS; BACH, 2017; JEONG; KANG; KIM, 2018). Além disso, a redução da contração do músculo do esfíncter do teto prejudica o seu fechamento, aumentando a probabilidade de ocorrência de mastite (GOFF, 2008). Animais com altas concentrações séricas de cálcio após o parto ($\geq 9,7$ mg/dL) conseguem obter uma melhor contração uterina, necessária para expelir a placenta e auxiliar na sua involução, além disso suas células imunológicas são mais eficientes, prevenindo a ocorrência dessas desordens (GOFF; HORST, 1997; MARTINEZ et al., 2014; JEONG et al., 2018).

Uma prática muito comum utilizada na América do Norte há mais de trinta anos para tentar diminuir a ocorrência de hipocalcemia clínica ou subclínica após o parto, é a utilização de dietas com balanço cátion-ânionico negativo (DCAD) durante o período pré-parto (GOFF, 2008). O uso de sais acidogênicos induz a uma acidose metabólica compensatória que ativa o metabolismo do cálcio, aumentando a absorção intestinal e reabsorção óssea de cálcio (GOFF, 2008). Estudo realizado por Lopera e colaboradores (2018) concluiu que o ideal é o fornecimento de dieta acidogênica por 21 dias antes de parto e que não é necessário que o DCAD seja menor do que -70 mEq/kg da matéria seca.

2.4.1 Retenção de Placenta

O início da lactação é um período em que as vacas passam por balanço energético negativo e disfunção do sistema imune. O prolongamento desse estado aumenta a susceptibilidade desses animais em desenvolverem doenças infecciosas e metabólicas (SORDILLO; RAPHAEL, 2013; MARTINEZ et al., 2014). Casos de hipocalcemia subclínica foram associados a distúrbios metabólicos e diminuição na eficiência do sistema imune, aumentando o risco de doenças no pós-parto (MARTINEZ et al., 2012).

Animais que desenvolveram febre do leite tiveram maiores concentrações plasmáticas de cortisol após o parto, o que contribuiu para uma maior imunossupressão (HORST; JORGENSEN, 1982). A imunossupressão após o parto resultou em vacas com leucócitos com pouca quimiotração aos cotilédones fetais, dificultando a expulsão da placenta (GUNNINK, 1984; GOFF; HORST, 1997). Isso acontece pois logo após o parto o tecido placentário torna-se corpo estranho para a mãe, que reconhece e o rejeita, ocorrendo a separação das membranas fetais (GUNNINK, 1984; GOFF; HORST, 1997). Portanto, em animais com níveis plasmáticos de cálcio diminuídos ocorre aumento do cortisol e da imunossupressão, o que aumenta a probabilidade de ocorrência de retenção de placenta.

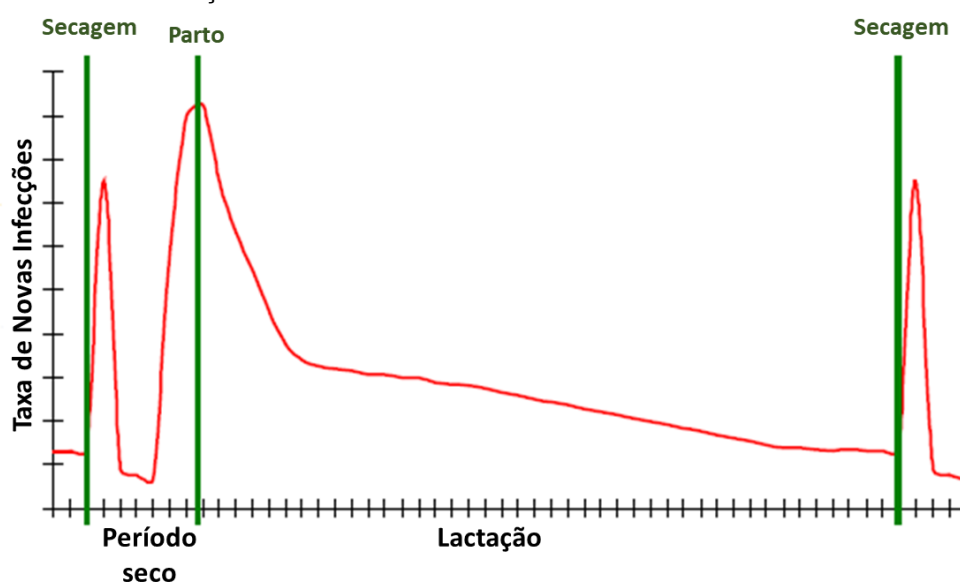
Estudo feito com 200 vacas holandesas prenhas, que foram divididas de acordo com a concentração plasmática de cálcio 30 minutos a 3 horas após o parto: grupo baixo ($< 7,9$ mg/dL; $n = 52$), grupo moderado ($7,9-9,6$ mg/dL; $n = 100$) e grupo alto ($\geq 9,7$ mg/dL; $n = 48$), a fim de relacionar os níveis de cálcio no pós parto com performance reprodutiva e de saúde (JEONG; KANG; KIM, 2018). Os autores concluíram que animais que mantiveram a concentração de cálcio acima de $9,7$ mg/dL até 3 horas após o parto tiveram menores chances de desenvolverem desordens pós-parto, como retenção de placenta e endometrite.

As membranas fetais devem se separar das carúnculas maternas algumas horas após o parto (GOFF; HORST, 1997). A hipocalcemia prejudica a contração uterina que é necessária para a expulsão da placenta, em casos que a placenta já está solta das carúnculas (GOFF; HORST, 1997).

2.5 Infecções intramamárias durante o período seco

A glândula mamária que adquire infecção durante o período seco irá produzir menos leite ou esse leite será de qualidade inferior, além de aumentarem as chances desse animal desenvolver mastite clínica durante a próxima lactação (GREEN, et al. 2005). Para o estudo de infecções intra-mamárias durante o período seco deve levar-se em consideração os três estágios pelos quais a glândula mamária é submetida. A primeira fase é a involução, seguida pela fase estável e finalmente a colostrogênese. A incidência de novas infecções é alta durante o início (fase de involução) e final do período seco (colostrogênese), como pode ser observado na Figura 3 (EBERHART, 1986).

Figura 3 - Ilustração esquemática da incidência de novas infecções intramamárias durante o ciclo da lactação



O pico da taxa de nova infecção, após a secagem, é considerado maior em vacas que não recebem nenhum tratamento para secagem. Adaptado de: BRANDLEY; GREEN, 2004.

Existem diversos fatores que influenciam na susceptibilidade a infecções intra-mamárias durante esses períodos e os principais patógenos envolvidos nesse processo são ambientais, já que a exposição aos patógenos contagiosos diminui nesse intervalo (EBERHART, 1986; BRANDLEY; GREEN, 2004). Em estudo realizado no Reino Unido, observou-se que mais de 50% dos casos de mastites

ambientais que ocorreram nos primeiros 100 dias de lactação resultaram de infecções adquiridas durante o período seco (BRANDLEY; GREEN, 2000). A população bacteriana presente no final do teto, a integridade do final do teto e o tempo de formação do tampão de queratina são fatores muito importantes que determinam a susceptibilidade desse quarto mamário em adquirir ou não uma infecção durante o período seco (DINGWELL, et al., 2004).

Com o início da involução, a expulsão das bactérias pelo canal do teto é interrompida devido à parada da ordenha, além disso, nessa mesma época ele se torna mais ingurgitado devido ao aumento da pressão pelo acúmulo de leite, podendo ocorrer em alguns casos o seu gotejamento (BRANDLEY; GREEN, 2004). A lenta involução atrasa os efeitos protetores da lactoferrina (proteína com atividades contra bactérias gram-negativas) e imunoglobulinas, além disso, as altas concentrações de caseína e gordura, presentes no leite residual, dificultam a ação dos leucócitos (ELLISON III; GIEHL; LAFORCE, 1988; SORDILLO; NICKERSON, 1988;). No final da colostrogênese, a glândula mamária torna-se mais susceptível a novas infecções, pois os fatores de proteção ficam diluídos devido a produção do colostro e o tampão de queratina deixa de existir (SORDILLO; NICKERSON, 1988; OLDHAM et al., 1991).

A lactoferrina é a uma proteína que se liga ao ferro e é produzida pelas células epiteliais mamárias e leucócitos, na presença de bicarbonato. Essa molécula sequestra os íons de ferro livres presentes no leite, impedindo que as bactérias dependentes desse íon (estafilococos e coliformes) cresçam, agindo como um agente bacteriostático (SORDILLO; SHAFER-WEAVER; DEROSA, 1997). Na glândula mamária saudável as concentrações de lactoferrina são baixas, mas aumentam durante a involução ou inflamação. A alteração nos níveis desse agente bacteriostático reduz a defesa natural da glândula mamária, facilitando a colonização de patógenos durante o período seco (SORDILLO et al., 1987).

Durante o período seco o canal do teto é selado por um tampão de queratina, uma barreira física contra a entrada e crescimento de patógenos (HOGAN; PANKEY; DUTHIE, 1987; HOGAN et al., 1988). Além de atuar como barreira física, esse tampão também tem função bacteriostática, devido as propriedades químicas e estruturais de seus ácidos graxos esterificados e não-esterificados (HOGAN;

PANKEY; DUTHIE, 1987). No entanto são necessários alguns dias após a secagem para que esse tampão se forme, desaparecendo de 7 a 10 dias antes do parto (BRANDLEY; GREEN, 2004). O período em que o canal do teto fica sem o tampão de queratina no início da involução mamária coincide com o período de encurtamento e dilatação da cisterna do teto (BRANDLEY; GREEN, 2004).

Além da proteção física, proporcionada pelo tampão de queratina, e química, adquirida por meio da lactoferrina, durante o período seco a concentração de leucócitos e imunoglobulinas presentes na glândula mamária aumentam. Além disso, com a queda na secreção de caseína e gordura, o ambiente mamário torna-se mais propício para a ação dos leucócitos (BRANDLEY; GREEN, 2004).

A diminuição da pressão no úbere no início do período seco é um importante fator para a diminuição da susceptibilidade a infecção durante esse período (DINGWELL et al., 2004). O aumento da pressão na glândula mamária no início do período seco, devido a parada na ordenha e acúmulo de leite, aumenta a probabilidade de gotejamento dessa secreção, o que facilita a entrada de bactérias nessa glândula, principalmente para vacas de alta produção leiteira (BUSHE; OLIVER, 1987). Além disso, com um volume grande de leite acumulado na glândula, os seus fatores protetores (lactoferrina, leucócitos e imunoglobulinas) ficam diluídos, e a presença de excesso de secreção na glândula promove um excelente meio de crescimento para bactérias (BUSHE; OLIVER, 1987; DINGWELL et al., 2004). Portanto, vacas que produzem grandes quantidades de leite no final da lactação são mais susceptíveis a desenvolverem uma nova infecção intra-mamária no início do período seco (BUSHE; OLIVER, 1987).

Em estudo publicado por Schukken e colaboradores (1993), observou-se que vacas em que o gotejamento de leite ocorria, a probabilidade de desenvolver mastite clínica durante o período seco era quatro vezes maior do que aquelas que não tinham esse gotejamento. Portanto a redução no nível de produção de leite no início desse período aumenta as chances desse úbere permanecer saudável durante esse período e início da lactação seguinte (DINGWELL et al., 2004).

2.6 Importância do período seco

O período seco é essencial para a renovação celular, involução, reorganização e regeneração mamária, fatores importantes na otimização da produção de leite para a próxima lactação (COLLIER; ANNEN-DAWSON; PEZESHKI, 2011). A ausência desse intervalo diminui a produção na lactação seguinte devido à redução na taxa de regeneração do tecido mamário (RÉMOND et al., 1997).

Durante muito tempo o manejo adotado na maioria das propriedades leiteiras utilizava o período seco de 51 a 60 dias, devido a diversos fatores, como por exemplo, a produtividade relativa da vaca, o status reprodutivo e de saúde, além dos recursos de cada propriedade (locais para remanejar novilhas gestantes, partos precoces, suprimento alimentar) (BACHMAN; SCHAIRER, 2003). No entanto, na maioria dos animais as estruturas mamárias não sofrem muitos danos após a lactação, permitindo assim um intervalo mais curto para essa glândula reconstruir-se estruturalmente (HOLST; HURLEY; NELSON, 1987).

Em estudo analisado por Schaeffer e Henderson (1972) chegou-se à conclusão de que períodos secos com menos de 30 dias causavam queda da produção na lactação seguinte, enquanto que os dados da próxima produção com períodos secos de 40 a 49 dias não diferiram de períodos secos de 50 a 59 dias. Além disso, esse mesmo estudo mostrou que intervalos entre as lactações com mais de 70 dias tinham um efeito negativo na produção seguinte. A diminuição do período seco para vacas multíparas pode trazer benefícios econômicos para o produtor, que pode continuar ordenhando os animais por mais tempo (BACHMAN; SCHAIRER, 2003).

Em vacas primíparas a redução do período seco de 60 para 30 dias entre a primeira e a segunda lactação resultou na queda da produção diária da 2ª até a 17ª semana da lactação seguinte. Em primíparas o crescimento corporal e da própria glândula continua ocorrendo, fazendo com que esses animais necessitem de um período seco mais longo. Essa diminuição da produção após o período seco mais curto pode ser resultado de um crescimento mamário reduzido ou uma diminuição da funcionalidade da glândula mamária ou até mesmo a combinação desses dois fatores (ANNEN et al., 2004).

2.6.1 Métodos de secagem

Diferentes métodos de secagem são implantados nas propriedades para que as vacas reduzam a produção de leite 60 dias antes do próximo parto. Muitos produtores utilizam o método de secagem abrupta, que consiste na interrupção abrupta da ordenha dos animais e tem sua alimentação drasticamente reduzida, diminuindo os níveis plasmáticos de glicose e lactose (ODENSTEN; CHILLIARD; HOLTENIUS, 2005). A lactose juntamente com o sódio e potássio mantêm o equilíbrio osmótico no leite, portanto a diminuição na lactose diminuirá a captação de água, diminuindo assim a produção de leite (AGENAS; DAHLBORN; HOLTENIUS, 2003; PARK; LINDBERG, 2006).

Muitos animais que passam por esse método de secagem apresentam aumento de vocalização, redução no consumo de alimento, permanência em estação prolongada além de inchaço aparente no úbere. Essas mudanças comportamentais indicam elevado nível de estresse e podem ser sinais de desconforto e até mesmo dor (ANIL; ANIL; DEEN, 2002). Vacas de alta produção apresentam um maior inchaço no úbere e maiores níveis de estresse após a secagem (BERTULAT et al., 2013).

Outra forma de secagem é a secagem gradual, na qual os animais são ordenhados uma vez ao dia, em dias alternados, durante sete a catorze dias, até a supressão definitiva da ordenha (DINGWELL; KELTON; LESLIE, 2003). Reduzir a frequência das ordenhas induz a apoptose das células, reduzindo a produção de leite e o fluxo sanguíneo para a glândula (DAVIS; FARR; STELWAGEN, 1999). Mas essa forma de secagem é pouco utilizada pois ocorre perda da produção de leite, não sendo economicamente vantajoso para o produtor (DAVIS; FARR; STELWAGEN, 1999).

Métodos que diminuem a produção de leite no final da lactação aumentam a eficácia dos antibióticos intra-mamários que são aplicados no momento da secagem. Além disso, a glândula mais vazia no início do período seco terá menor chances de ocorrer gotejamento de leite, reduzindo também a perda de antibiótico por esse gotejamento (BUSHE; OLIVER, 1987).

Foram estudadas diversas formas para facilitar a secagem, fazendo com que os animais iniciem esse período produzindo menos leite. A primeira substância usada com esse objetivo foi a bromocriptina, uma molécula derivada do ergot com

alta afinidade aos receptores da dopamina, no entanto seus efeitos foram inconsistentes quando observou-se a produção de leite em vacas (LACASSE et al., 2011).

Em seguida foi estudada a ação da quinagolina, uma outra molécula agonista da dopamina mas não derivada do ergot, que possui meia vida mais longa (17 horas em não ruminantes) que a bromocriptina e sua ação é 200 vezes mais potente para inibir a produção de leite do que a bromocriptina (LACASSE et al., 2011; KASUM et al., 2014). Sua administração mostrou-se eficaz em reduzir a produção de leite no início do período seco, melhorando a resistência da glândula mamária em adquirir infecção durante este período (LACASSE et al., 2012). No entanto, deve realizar a aplicação dessa substância uma ou duas vezes ao dia por vários dias (a partir de 5 dias antes da secagem até 13 dias depois), dificultando a adoção desse método em fazendas comerciais (OLLIER; ZHAO; LACASSE, 2015; BERTULAT et al., 2017).

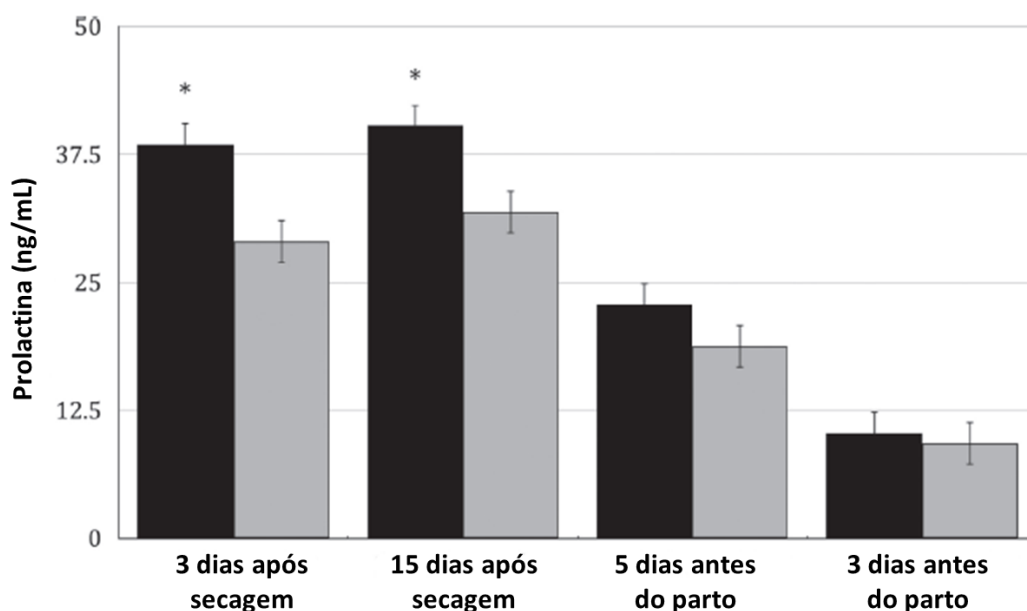
Outra molécula facilitadora da secagem é a cabergolina, assim como a bromocriptina, é um derivado de ergot com alta afinidade aos receptores D₂ da dopamina que causam a inibição da secreção de prolactina pela hipófise (BACH; DE-PRADO; ARIS, 2015). Em animais não ruminantes a meia vida cabergolina é maior do que da quinagolina e que da bromocriptina (70 horas para a cabergolina e 17 horas para a quinagolina), e a cabergolina também apresenta menos riscos adversos, como diminuição na ingestão de alimentos e distúrbios gastrointestinais, observados com o uso da quinagolina (KASUM et al., 2014; BACH; DE-PRADO; ARIS, 2015; LACASSE et al., 2016).

Em ruminantes, sua meia vida é de aproximadamente 20 horas, com absorção rápida, e atingindo a concentração máxima após três horas (Velactis; EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2014). A sua metabolização é realizada no fígado e a eliminação é principalmente fecal (EMA, 2016). No entanto, experimento realizado por Bach, De-Prado e Aris (2015), utilizaram 100 vacas recebendo placebo (grupo controle – CTRL) e 99 recebendo 5,6 mg de cabergolina (grupo cabergolina – CAB) no dia da secagem, não sendo mais ordenhadas a partir dessa dia. Os autores concluíram que a cabergolina atua nos níveis de prolactina por um período de aproximadamente 15 dias após sua aplicação, como pode ser observado na figura 4.

A aplicação única de 5,6 mg de cabergolina via intra-muscular após a última ordenha, mostrou-se eficaz em reduzir o acúmulo de leite na glândula mamária e em

diminuir o gotejamento no momento da secagem, melhorando os mecanismos naturais de defesa da glândula (BOUTINAUD et al., 2016). Além disso, os animais tratados com este agonista dopaminérgico tiveram aumento na taxa de fechamento do canal do teto, assim como uma formação mais rápida do tampão de queratina. A pressão no úbere, o gotejamento de leite e os sinais de dor foram reduzidos no início do período seco para os animais que receberam essa substância. (BERTULAT et al., 2017).

Figura 4 - Concentração plasmática de prolactina (ng/mL) em vacas tratadas com placebo (CTRL; barras pretas) e vacas tratadas com cabergolina (CAB; barras cinzas) na secagem



Barra de erros representa erro padrão da média (EPM) em cada ponto. Asteriscos representam momentos em que os valores difeririam para vacas do CTRL e CAB, adotando-se $P < 0.05$. Adaptado de: BACH; DE-PRADO; ARIS (2015).

No entanto, em 2016 ocorreram algumas reações adversas após o uso da cabergolina, como decúbito, hipocalcemia, transtornos ruminais e morte. Alguns casos de decúbito foram revertidos após o tratamento de hipocalcemia (CALDEIRA, 2016). Contudo esses acontecimentos não foram diretamente associados ao uso deste medicamento, devendo-se levar em consideração diversos fatores, como raça, idade, produção de leite, alimentação (dados não publicados).

3 OBJETIVO E HIPÓTESES

O objetivo deste estudo foi comparar as concentrações séricas de IGF-I, cálcio, progesterona, o crescimento microbiológico no leite obtido antes da secagem e após o parto, e a ocorrência de retenção de placenta em vacas que receberam ou não a cabergolina como facilitadora da secagem. As hipóteses são que essa substância não interfere nas concentrações séricas de cálcio e hormônios e na ocorrência de retenção de placenta, além de reduzir os casos de infecções intramamárias após o parto.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais e Delineamento

O estudo foi realizado em duas propriedades, uma no município de São Pedro – SP (Fazenda São Jorge, n = 38 – Fazenda “A”) e outra em Rubiácea – SP (Fazenda São Judas, n = 10 – Fazenda “B”). Foram selecionadas vacas primíparas ou multíparas das raças holandesa, girolanda ou jersolanda. Na fazenda A, os animais em lactação eram mantidos em sistema de *free-stall* em galpão com ventilação cruzada e as vacas secas eram mantidas em *free-stall* mas em galpão com túnel de vento. A alimentação fornecida apresenta-se detalhada na Tabela 1. A cama era pó de serra, limpada três vezes ao dia. Na fazenda B, os animais em lactação eram mantidos em sistema de *compost barn* de casca de amendoim, revirado três vezes ao dia; a base da alimentação era silagem de milho, polpa cítrica e premix, sendo fornecida três vezes ao dia. Vacas secas eram mantidas em pasto de capim Mombaça e era fornecida silagem de milho, silagem de cana e concentrado uma vez ao dia.

Na Fazenda A os grupos foram separados de acordo com a produção de leite no dia da secagem: vacas com produção maior do que 24 L foram tratadas (n = 26) e as com produção menor do que 24 L fizeram parte do grupo controle (n = 22). Na Fazenda B as vacas foram separadas mantendo uma média de produção na secagem semelhante entre os grupos (tratado: $23,5 \pm 4,65$ L; grupo controle: $22,5 \pm 5,68$ L), resultando em 4 animais no grupo tratado e 6 animais no grupo controle.

Todas as vacas sofreram secagem abrupta, e no grupo tratado (GT) receberam 5 mL de Velactis® IM (cabergolina, 5,6 mg - Ceva Santé Animale, Libourne, França), logo após a última ordenha (aproximadamente 60 dias antes do parto) e o grupo controle (GC) não recebeu medicamento para secagem. Todos os animais receberam o manejo sanitário de vaca seca adotado pela propriedade, com antibiótico de longa ação e selante intramamários e foram submetidos ao processo de secagem que consistia em dieta com menos concentrado e rica em forragem com alta concentração de fibra em detergente neutro (FDN).

Tabela 1 - Composição dietária dos animais da Fazenda São Jorge

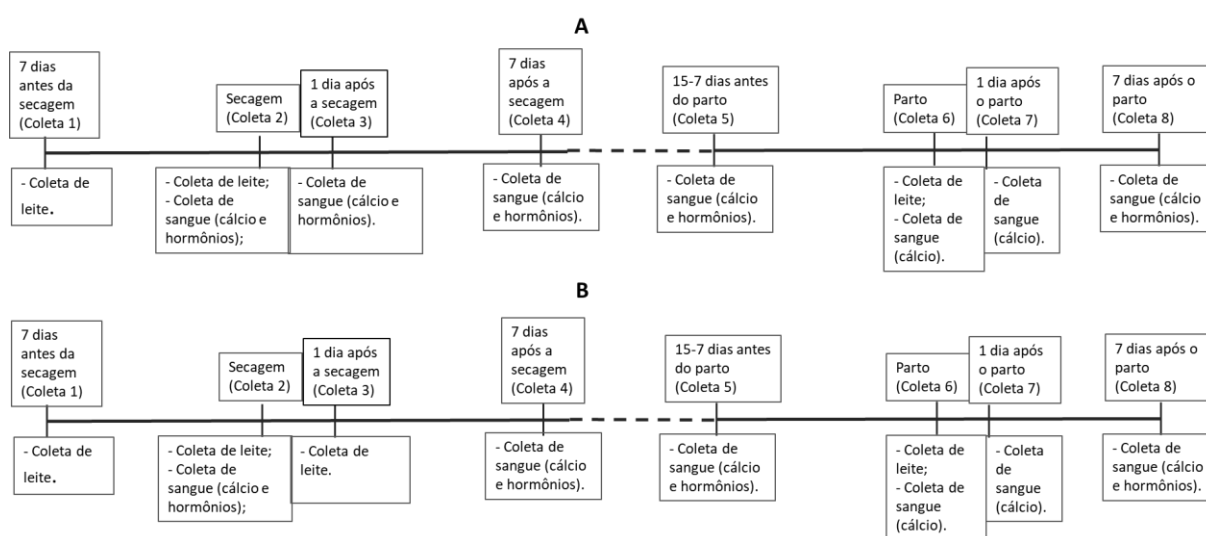
Ingrediente (% MS)¹	Vacas em lactação⁹	Vaca seca¹⁰	Pré Parto¹¹
Silagem de milho	40,22	58,14	64,50
Pré-secado Tifton	3,76	30,30	7,60
Alfafa silagem pré-secada	1,87	.	.
Água	0,14	.	.
Caroço de algodão	7,12	.	4,66
Milho úmido ensilado	4,81	.	.
Sorgo reidratado	2,82	.	.
Farelo de soja	11,89	6,34	10,46
Flexpro ²	4,01	.	2,68
Polpa de cítrica	10,90	.	0,00
Smartamine ³	0,07	.	.
AjiPro-L ⁴	0,34	.	.
Gordura de Palma	0,72	.	.
Óxido de magnésio	0,36	.	.
Bicarbonato de sódio	0,96	.	.
Sal Branco	0,23	0,00	.
Milho moido fino	8,46	3,55	3,57
Poli-Leite Action ⁵	0,41	.	.
Calcário calcítico	0,91	.	.
Poli-Vita Bovinos de Leite ⁶	.	0,15	0,10
Poli-Leite Novilha ⁷	.	1,51	.
Poli-Leite Pré-Parto 500 AN ⁸	.	.	5,78
Lisina	.	.	0,55
Metionina	.	.	0,10

¹ Porcentagem de ingrediente em relação a quantidade de matéria seca. ² Flexpro®, Cargil. Alimento protéico e energético a base de milho. ³ Smartamine-M®, Adisseo. Metionina revestida por polímero, assegurando sua liberação no abomaso. ⁴ AjiPro-L®, Ajinomoto Heartland Inc. Lisina protegida da degradação no rúmen. ⁵ Poli-Leite Action®, Polinutri. Núcleo para o fornecimento para vacas em lactação. ⁶ Poli-Vita Bovinos de Leite®, Polinutri. Premix vitamínico para produção de rações para bovinos de leite (vitaminas A, D3, E e antioxidante). ⁷ Poli-Leite Novilha®, Polinutri. Núcleo para o fornecimento para novilhas. ⁸ Poli-Leite Pré-Parto 500 AN®, Polinutri. Núcleo vitamínico e mineral para uso nas formulações de rações aniônicas para vacas leiteiras, no período pré-parto (21 dias antes do parto). ⁹ Alimento fornecido três vezes ao dia. ¹⁰ Alimento fornecido uma vez ao dia. ¹¹ Alimento fornecido uma vez ao dia, durante 21 dias que antecedem o parto. DCAD = -59,2 mEq/kg de MS. Fonte: elaborado pelo Autor

Na fazenda A foram utilizados o antibiótico intramamário Cepravin® (cefalônio anidro, 0,25g - MSD Saúde Animal) e o selante Selateto® (subnitrato de bismuto – J.A Saúde Animal). Na fazenda B foram utilizados o antibiótico intramamário Intrasec VS® (Cloxacilina Benzatina, 600 mg – JA Saúde Animal) e o selante Sellat® (subnitrato de bismuto – Ourofino Saúde Animal).

O delineamento experimental adotado nas propriedades está representado na Figura 5. As coletas de sangue para dosagem de hormônios e cálcio foram realizadas no dia da secagem, um dia após a secagem, sete dias após a secagem, quinze a sete dias antes do parto e sete dias após o parto; no dia do parto e um dia após o parto dosou-se apenas o cálcio. Para análise microbiológica do leite as coletas foram feitas sete dias antes da secagem, no dia da secagem e no dia do parto.

Figura 5 - Ilustração do delineamento experimental adotado na Fazenda São Jorge (A) e na Fazenda São Judas (B)



Fonte: elaborado pelo Autor

4.2 Exame Microbiológico

Para a análise microbiológica do leite foram coletadas amostras do teto posterior direito. O teto era lavado com detergente neutro e água corrente e seco com papel toalha. Em seguida, sua extremidade era higienizada com gaze embebida com álcool 70%. Os três primeiros jatos eram descartados e coletavam-se 20 mL de leite em tubos coletores estéreis. As amostras foram congeladas a -20°C até a análise.

No laboratório de microbiologia da FMVA-UNESP, as amostras de leite foram semeadas em ágar Sangue e *MacConkey*. Sob chama do bico de Bunsen, aproximadamente 10 μL de leite foram semeados em placa com ágar sangue e ágar

MacConkey (aerobiose) e em meia placa de ágar sangue (microaerofilia). As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por um período de 24 a 72 horas, sendo monitoradas a cada 24 horas para verificação de crescimento microbiano. As placas em meio para microaerofilia foram colocadas em recipiente hermeticamente fechado, permanecendo em estufa bacteriológica a 37 °C, que foi aberto após 48 horas de incubação. A amostra foi considerada com crescimento positivo quando ocorreu a presença de 3 ou mais unidades formadoras de colônias (UFC) morfologicamente iguais (PANTOJA; HULLAND; RUEGG, 2009).

4.3 Dosagem de hormônios e cálcio

Foram coletados 10 mL de sangue das veias coccígeas em tubos sem anticoagulante para a extração do soro e quantificação de cálcio, IGF-I e progesterona. Após as coletas, os tubos permaneceram 30 minutos à temperatura ambiente e, em seguida, foram armazenados sob refrigeração até serem centrifugados a 2.218 G por 15 minutos. O soro foi aliquoteado e armazenado a -20 °C até o momento da dosagem.

Para a dosagem do cálcio sérico foi utilizado o kit Bioclin® – Cálcio Arsenazo III (ref: K051) baseado na reação colorimétrica, seguindo as instruções do fabricante e utilizando comprimento de onda de 680 nm para as leituras em leitora Espectrofotometro 600S.

O IGF-I foi quantificado por ELISA, com metodologia *in house*, utilizando o sistema de amplificação biotina-estreptavidina-peroxidase em ensaio competitivo, como descrito por Maioli e Nogueira (2017). Para essa análise foi utilizada leitor de microplacas (Sunrise, Tecan, cod.16039400).

A progesterona foi quantificada com kit ImmuChem™ Progesterone ¹²⁵I de fase sólida (MPBio) para radioimunoensaio, de acordo com as instruções do fabricante. Foi realizada em todos os ensaios a dosagem de duas concentrações de Controle Alto (20,2485 ng/mL) e duas de Controle Baixo (0,2245 ng/mL). Coeficiente de variação interensaio (CA: 4,51%; CB: 4,80%), intraensaio (CA: 0,70%; CB: 7,32) e limites de detecção e quantificação de 0,175 e 0,024 ng/mL, respectivamente.

4.4 Análise estatística

Para a comparação dos resultados das médias das concentrações séricas de cálcio, IGF-I e progesterona entre GT e GC foram utilizados apenas os animais da Fazenda A (GT = 22 animais; GC = 16 animais), por ter sido realizada nessa propriedade a coleta 3 (um dia após a secagem). As médias foram submetidas ao teste Shapiro-Wilk de normalidade ($\alpha=0,05$). Quando necessário, os resultados foram transformados por logarítmo para normalização e em seguida aplicou-se o teste t não pareado. Apenas a concentração de cálcio da coleta realizada no dia do parto não foi normalizada após transformação e foi utilizado o teste de Mann Whitney para comparação entre os grupos. Todas as análises foram realizadas pelo programa GraphPad Prism 6.

Para a comparação das médias das concentrações séricas de cálcio, IGF-I e progesterona de cada coleta dentro do mesmo grupo foram utilizados apenas os animais da Fazenda A (tratado = 22 animais; controle = 16 animais), devido a presença da coleta de sangue um dia após a secagem. Realizou-se ANOVA para verificar diferenças entre as médias depois de constatada a normalidade com o teste Shapiro-Wilk ($\alpha = 0,05$). Foi feito o pós teste de Dunn, quando os resultados eram não normais, ou o teste de Tukey, quando os resultados eram normais. Esses testes foram utilizados para análise das médias das concentrações de cálcio, IGF-I e progesterona. Todas as análises foram realizadas pelo programa GraphPad Prism 6.

Para a comparação da ocorrência do crescimento bacteriano nas amostras de leite entre os grupos no pós-parto foram selecionados animais de ambas as propriedades com média de produção semelhante na secagem (média do GT: $25,45 \pm 3,29$ L, $n=10$; média do GC: $23,71 \pm 2,45$ L, $n=13$). Foi realizado o teste Exato de Fisher pelo programa Bioestat. Para a comparação da ocorrência da retenção de placenta entre os grupos foram utilizados os animais da Fazenda A (22 animais no GT e 16 animais no GC) e foi realizado o teste exato de Fisher, pelo programa Bioestat.

Para verificar se ocorreu relação entre os casos de retenção de placenta com as concentrações séricas de cálcio quinze a sete dias antes do parto, no dia do parto e um dia após o parto. Para isso foi realizado o teste Qui-Quadrado pelo programa GraphPad Prism 6. Primeiramente dividiu-se os animais de acordo com sua concentração plasmática de cálcio: grupo baixo ($< 7,9$ mg/dL), grupo moderado (7,9-9,6 mg/dL) e grupo alto ($\geq 9,7$ mg/dL) (JEONG; KANG; KIM, 2018), em cada um dos três momentos analisados, e os dados obtidos foram dispostos em uma tabela de contingência. Foi considerado estatisticamente significativo quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises séricas

Os resultados das concentrações séricas de cálcio e hormônios encontram-se na Tabela 2.

5.1.1 Cálcio

Apenas na coleta de uma semana após o parto concentração de cálcio foi maior no GT do que no GC. Tanto no GT quanto no GC a maior média na concentração de cálcio foi encontrada no dia da secagem e a menor um dia após o parto (Tabela 2).

Em períodos críticos, como início da lactação, a homeostase do cálcio é mais difícil, fazendo com que casos de hipocalcemia sejam comuns, devido a produção de colostro (HIBBS, 1950). A cabergolina aplicada na secagem não induziu quadro de hipocalcemia clínica ou subclínica (abaixo de 5,5 mg/dL e entre 5,5 e 8,0 mg/dL respectivamente) após o parto. Em ambos os grupos as concentrações de cálcio foram maiores do que 8,0 mg/dL, valor acima do que a literatura considera como hipocalcemia subclínica (Tabela 2) (GOFF, 2008; MARTINEZ et al., 2012; NEVES et al., 2017; RODRÍGUEZ; ARÍS; BACH, 2017; JEONG; KANG; KIM, 2018).

Foram relatados casos de hipocalcemia após a utilização da cabergolina em países da União Européia e no estado do Paraná (dados não publicados). No entanto, com base nesse estudo, foi possível notar que os níveis plasmáticos de cálcio mantiveram-se acima de 8,0 mg/dL um dia após a secagem, não ocorrendo casos de hipocalcemia. Para vacas secas é comum o uso de dietas que resultam em alcalose metabólica, o que dificulta os ossos e rins em responderem ao PTH (paratormônio) liberado devido ao quadro de hipocalcemia (HORST; GOFF; REINHARDT, 2005). Provavelmente por conta desse manejo alimentar alguns animais que receberam a cabergolina acabaram desenvolvendo a hipocalcemia (dados não publicados), como neste experimento não foi utilizada este tipo de dieta, a hipocalcemia não foi observada.

Tabela 2 - Concentração de cálcio, IGF-I e progesterona nos grupo tratado e controle na secagem, um dia e sete dias após a secagem, quinze a sete dias antes do parto, no dia do parto, um dia e sete dias após o parto. Dados apresentados com média (DP)

Momento	Média (DP) ¹								
	Ca (mg/dL)			IGF-I (ng/mL) ²			P4 (ng/mL)		
	Tratado	Controle	P valor	Tratado	Controle	P valor	Tratado	Controle	P valor
Secagem	11,61 (2,15) ^a	12,06 (1,90) ^A	0,49	277,51 (121,25) ^{ab}	358,55 (218,02) ^A	0,25	8,04 (3,25) ^a	7,12 (2,22) ^A	0,3
1 dia após sec	9,51 (2,16) ^{ab}	9,53 (1,76) ^B	0,98	197,13 (66,29) ^{bc}	264,30 (177,83) ^{BC}	0,18	8,01 (3,08) ^a	7,37 (3,34) ^A	0,55
7 dias após sec	11,19 (2,39) ^a	10,22 (1,83) ^{AB}	0,17	398,40 (238,75) ^a	346,06 (200,94) ^{AB}	0,47	6,77 (2,40) ^a	7,10 (1,83) ^A	0,64
15-7 dias antes parto	10,39 (1,80) ^{ab}	11,29 (3,23) ^{AB}	0,33	326,88 (185,96) ^a	294,93 (184,90) ^{AB}	0,55	3,94 (1,87) ^b	3,18 (1,42) ^B	0,16
Parto	8,93 (2,17) ^b	9,67 (2,47) ^{AB}	0,45	.	.	.	.	.	.
1 dia após parto	8,74 (1,94) ^b	8,76 (2,06) ^B	0,98	.	.	.	.	.	.
7 dias após parto	11,10 (1,75) ^{*a}	9,61 (2,21) ^{*B}	0,03	136,59 (88,46) ^c	150,74 (116,12) ^C	0,92	ND	ND	ND

Letras minúsculas sobrescritas diferentes sinalizam diferenças ($p < 0,05$) dentro do grupo tratado e letras maiúsculas sobrescritas diferentes sinalizam diferenças ($p < 0,05$) dentro do grupo controle. * asterisco sinaliza diferença ($p < 0,05$) entre os grupos. ¹ Vacas holandesas, girolandas ou jersolandas, a partir da segunda gestação, no grupo tratado (GT, $n = 22$) e controle (GC, $n = 16$). No dia da secagem as vacas do GT receberam 5,6 mg de cabergolina e as do GC não receberam facilitador de secagem. As amostras de sangue foram coletadas em sete momentos diferentes (no dia da secagem, um dia após a secagem, sete dias após a secagem, 15-7 dias antes dos parto, no dia do parto, um dia após o parto e sete dias após o parto), para dosagem de cálcio (Ca), fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I) e progesterona (P4). Os dados apresentam-se como média e desvio padrão (DP). ² Dados transformados em logarítimo. ND: valores não detectáveis no ensaio. Fonte: elaborado pelo Autor.

Ocorreu diferença entre os grupos apenas na coleta realizada sete dias após o parto, quando a concentração de cálcio foi maior no grupo tratado do que no controle ($P = 0,0342$). No entanto, não podemos atribuir essa diferença ao uso da cabergolina que foi utilizada no momento da secagem (mínimo de 60 dias antes dessa coleta), pois sua meia vida em ruminantes é de aproximadamente 20 horas (Velactis; EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2014).

5.1.2 IGF-I

Não houve efeito do tratamento com cabergolina na concentração de IGF-I, no GT a concentração foi maior uma semana após o parto e no GC ela foi maior no dia da secagem. Em ambos os grupos a concentração de IGF-I foi menor sete dias após o parto (Tabela 2).

No GC observou-se diminuição na concentração de IGF-I entre o dia da secagem e um dia após a secagem, fato que não ocorreu no GT. A dieta para vacas secas é menos calórica e menos palatável do que a fornecida para vacas em lactação, isso porque a demanda energética durante esse período é menor. Muitos animais diminuem sua ingestão de alimento quando ocorre essa mudança na alimentação. No entanto podemos supor que os animais do GC estavam passando por desconforto maior do que os animais do GT, pelo acúmulo de leite no úbere. Isso pode ter feito com que esses animais diminuíssem ainda mais sua ingestão de alimento, diminuindo a concentração plasmática de insulina e consequentemente diminuindo a de IGF-I.

O aumento das concentrações de IGF-I durante o período seco pode ser consequência da diminuição do metabolismo basal pela interrupção da produção de leite. Mesmo que a dieta de vaca seca seja nutricionalmente menor, esses animais entram em balanço energético positivo. Além disso, o aumento da concentração sugere a importância desse período para a regeneração do parênquima mamário (RONGE; BLUM, 1988; VEGA et al., 1991), pois o IGF-I tem importante papel de estimular a síntese de DNA no tecido mamário de bovinos e atuar como fator de

sobrevivência para as células da glândula mamária (BAUMRUCKER; STEMBERGER, 1989; FORSYTH, 1996; NEVILLE; MCFADDEN; FORSYTH, 2002).

A queda acentuada na concentrações de IGF-I observada uma semana após o parto em ambos os grupos pode ser explicada pelo balanço energético negativo que vacas de alta produção apresentam no início da lactação (BUTLER et al., 2003).

5.1.3 Progesterona

Não houve diferença na concentração de progesterona entre os tratamentos, a concentração de progesterona uma semana após o parto não foi detectável nos ensaios de quantificação. Coincidindo com a fase reprodutiva em que as vacas se encontravam, observou-se maior concentração de progesterona no dia da secagem no GT, e um dia após a secagem no GC e menor valor quinze a sete dias antes do parto em ambos os grupos (Tabela 2). Devido a presença de corpo lúteo durante a gestação, foram encontradas maiores concentrações de progesterona na secagem, diminuindo de quinze a sete dias antes do parto, e valores não detectáveis uma semana após o parto.

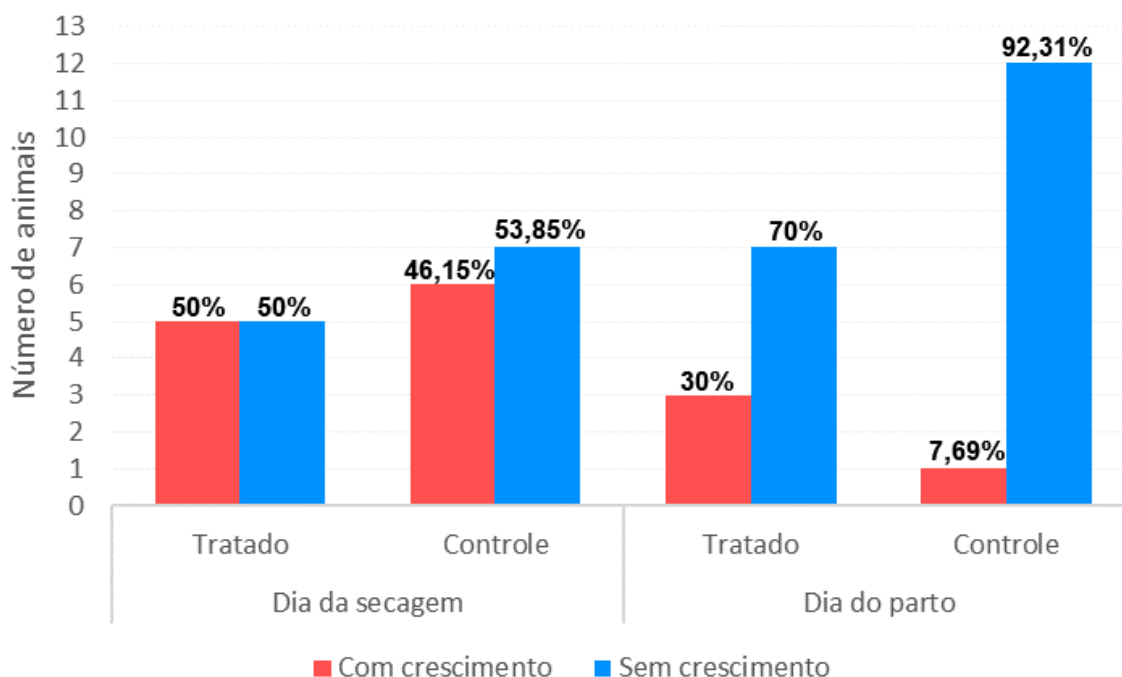
Durante a gestação e lactação a progesterona promove a proliferação celular, prevenindo a involução da glândula mamária e durante a gestação estimula o desenvolvimento dos alvéolos mamários (FENG et al., 1995; FREEMAN et al., 2000). Apesar de relatos de que a prolactina aumenta a produção de progesterona, pois ela potencializa os efeitos do LH nas células do corpo lúteo e inibe a enzima 20 α -hidroxiesteroide desidrogenase que inativa a progesterona, neste experimento o uso da cabergolina não interferiu nos níveis de progesterona, demonstrando sua ação pontual na prolactina (RICHARDS; WILLIAMS, 1976; FREEMAN et al., 2000; BACH; DE-PRADO; ARIS, 2015; BOUTINAUD et al., 2016).

5.2 Análises microbiológicas

Em nenhum grupo ocorreu aumento no número nos casos de infecção intramamária entre a secagem (GT: 5/10; GC: 6/13) e o parto (GT: 3/10; GC: 1/13).

Observou-se que o crescimento bacteriano no leite após o parto ocorreu com a mesma frequência entre os grupos, na mesma coleta, independente ao tratamento de secagem adotado (Figura 6).

Figura 6 - Gráfico da comparação do crescimento microbiológico entre o GT e GC



Coleta realizada no dia da secagem, não ocorreu diferença entre os grupos ($p = 0,59$). Coleta realizada no dia do parto, não ocorreu diferença entre os grupos ($p = 0,20$).
Fonte: elaborado pelo Autor

Uma lenta involução da glândula mamária, com excesso de leite residual, prejudica a ação da lactoferrina que age contra bactérias gram-negativas, imunoglobulinas e leucócitos, devido às altas concentrações de caseína e gordura do leite residual (ELLISON III; GIEHL; LAFORCE, 1988). Portanto a adoção de um método de secagem que diminua a produção de leite nesse momento crítico proporcionaria melhora na saúde do úbere (DINGWELL et al., 2004).

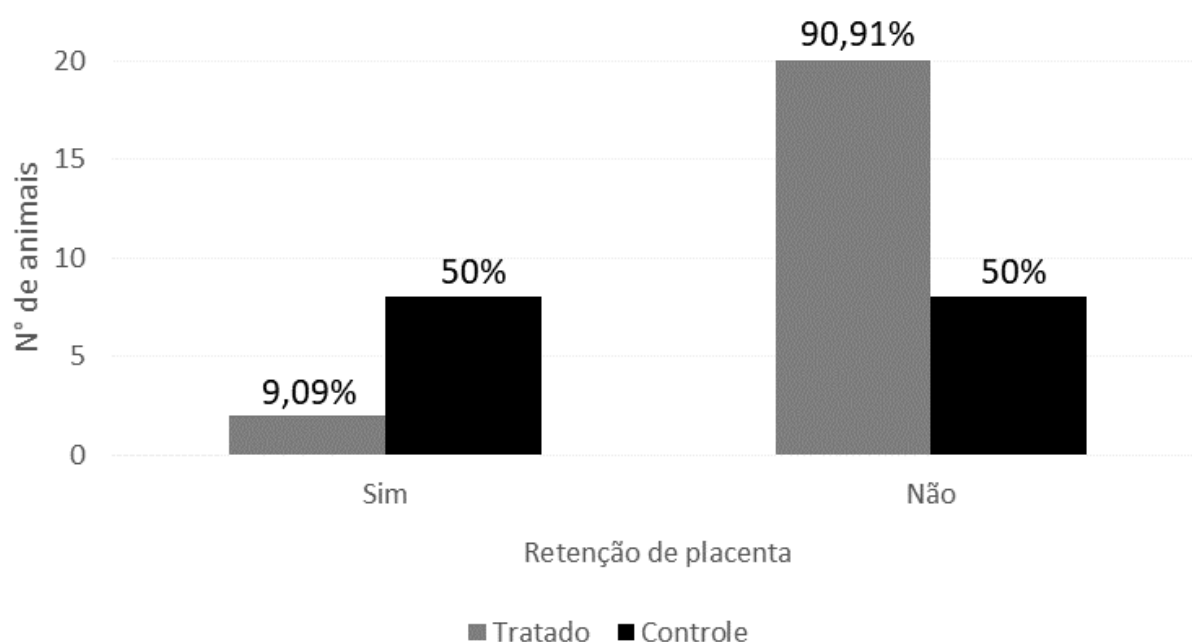
No estudo realizado esperava-se que o crescimento microbiológico no grupo tratado fosse menor do que no grupo controle após o parto, no entanto, não foi encontrada diferença, provavelmente porque todos os animais receberam antibiótico de longa ação e selante no momento da secagem. O ideal seria comparar o crescimento microbiológico no leite após o parto de vacas sem medicamento intra-

mamário no momento da secagem, porém como o estudo ocorreu em fazendas comerciais, não foi permitido deixar de tratar a vaca na secagem.

5.3 Ocorrência de retenção de placenta

Os casos de retenção de placenta foram menores no grupo tratado que no grupo controle, como pode ser observado na Figura 7.

Figura 7 - Comparação da ocorrência de retenção de placenta entre os grupos



Os casos de retenção de placenta foram menores ($p = 0,0068$) no GT que no GC. Fonte: elaborado pelo Autor

Vacas com baixas concentrações de cálcio após o parto tem maiores chances de ocorrência de retenção de placenta (GOFF; HORST, 1997). Isso acontece pois o cálcio está intimamente relacionado com a contração muscular, portanto, em casos de hipocalcemia clínica ou subclínica, o útero terá menos força para expulsar a placenta e demorará mais tempo para involuir (GOFF; HORST, 1997; KIMURA et al., 2002; NEVES et al., 2017; JEONG; KANG; KIM, 2018). Além disso, o desenvolvimento da febre do leite após o parto faz com que os níveis de cortisol

aumentem, causando imunossupressão e maior dificuldade para a expulsão das membranas fetais (GOFF; HORST, 1997).

Apesar das concentrações de cálcio um dia após o parto e uma semana após o parto não caracterizarem hipocalcemia (concentrações maiores do que 8,0 mg/dL), a ocorrência de retenção de placenta foi menor nas vacas tratadas. No entanto, não se pode afirmar que a cabergolina melhorou os casos de retenção de placenta, devido a sua meia vida curta (aproximadamente vinte horas) em ruminantes e por ela ter sido administrada 60 dias antes do parto.

Em estudo publicado por Jeong, Kang e Kim (2018), os animais foram separados de acordo com a concentração de cálcio de 30 minutos a 3 horas após o parto. O mesmo critério foi utilizado no presente estudo: grupo baixo ($< 7,9$ mg/dL), grupo moderado ($7,9 - 9,6$ mg/dL) e grupo alto ($\geq 9,7$ mg/dL). Os autores concluíram que os animais do grupo alto tiveram menores chances de desenvolverem retenção de placenta do que os animais dos grupos baixo e moderado.

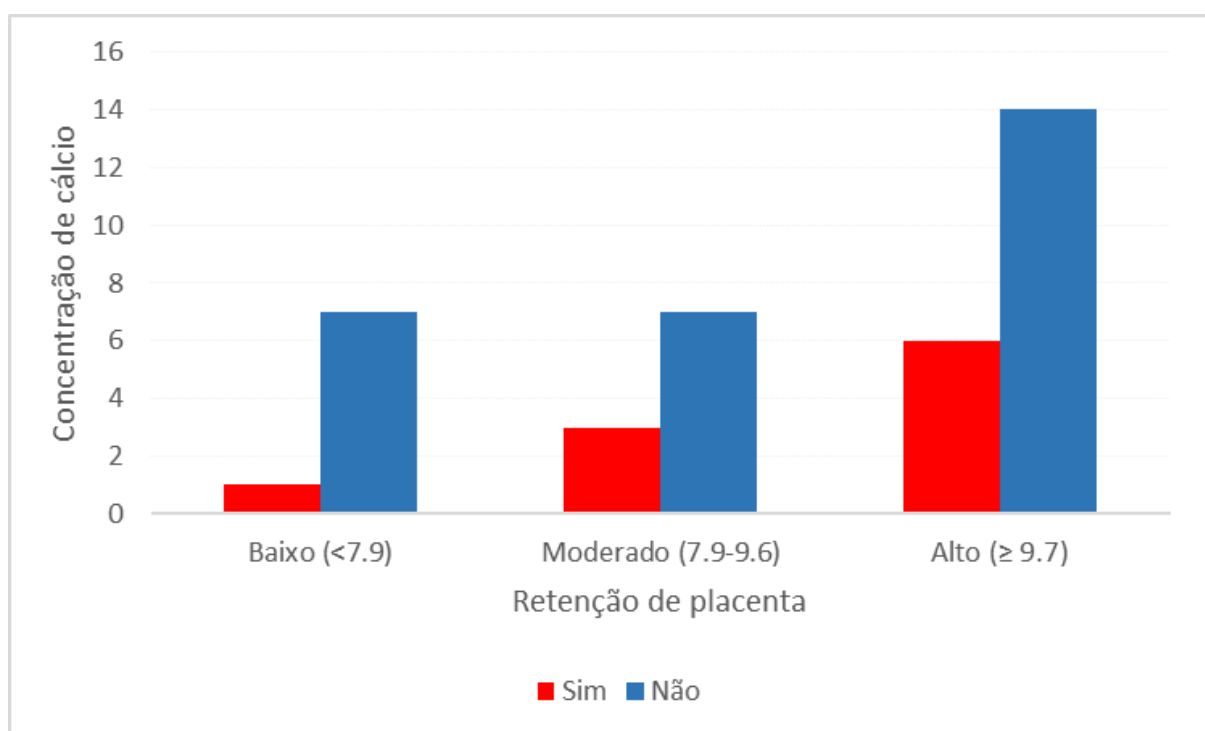
Contudo, no presente estudo não foi encontrada a mesma relação entre a concentração de cálcio e casos de retenção de placenta (coleta quinze a sete dias antes do parto: $p = 0,3300$; coleta no dia do parto: $p = 0,6073$; coleta um dia após o parto: $p = 0,8985$), como pode ser observado na Figura 8. O número total de animais pode ter causado essa diferença de resultados, já que no estudo realizado por Jeong, Kang e Kim utilizou-se 200 animais no total, enquanto que neste estudo foram utilizados 38 animais.

Outro fator que pode ter causado essa diferença de resultado com a literatura é o momento em que as coletas de sangue foram realizadas para a dosagem do cálcio. No presente estudo apesar de ter ocorrido a coleta de sangue no dia do parto, o momento em que essa coleta ocorreu não foi padronizada como foi feito no estudo de Jeong, Kang e Kim (2018). O ideal seria a realização de novos experimentos com maior número de animais e coletas padronizadas para todos.

Muitos autores concordam que vacas com maior capacidade de produção de leite são propensas a desenvolverem distúrbios associados a perda de cálcio, principalmente após o parto, quando o desafio é maior (CURTIS et al., 1984; JAWOR et al., 2012). No entanto, outros autores concordam que não existe

correlação entre a produção de leite e os casos de hipocalcemia subclínica, que causaria a retenção de placenta (ØSTERGAARD; LARSEN, 2000; MARTINEZ et al., 2012; RODRÍGUEZ; ARÍS; BACH, 2017). Interessante que no presente estudo as vacas do GC produziam menos leite que as vacas do GT, apesar disso a ocorrência de retenção de placenta foi maior nas vacas do GC.

Figura 8 – Ocorrência de retenção de placenta em relação a concentração de cálcio no dia do parto



Não ocorreu relação entre a concentração de cálcio no dia do parto e os casos de retenção de placenta ($p = 0,6073$). Fonte: elaborado pelo Autor.

6 CONCLUSÕES

Não ocorreu a morte de nenhum animal durante este experimento. As vacas de leite tratadas com cabergolina na secagem não apresentaram quadro de hipocalcemia clínica ou subclínica após o parto. O tratamento com cabergolina não alterou a concentração de IGF-I e progesterona, apontando o efeito pontual do medicamento na secagem. Não foi observada uma menor ocorrência de crescimento bacteriano no leite dos animais tratados. Observou-se uma menor ocorrência de retenção de placenta nos animais tratados com cabergolina.

7 SUGESTÕES

Estudos com vacas sem o tratamento intra-mamário para secagem são interessantes para a verificação do efeito do uso da cabergolina no crescimento microbiano no leite. Com base nos resultados apresentados neste experimento, recomenda-se o uso da cabergolina para auxiliar no processo de secagem de vacas com alta produção de leite.

REFERÊNCIAS

ACCORSI, P. A.; PACIONI, B.; PEZZI, C.; FORNI, M.; FLINT, D. J.; SEREN, E. Role of prolactin, growth hormone and insulin-like growth factor 1 in mammary gland involution in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.507-513, 2002.

AGENAS, S.; DAHLBORN, K.; HOLTENIUS, K. Changes in metabolism and milk production during and after feed deprivation in primiparous cows selected for different milk fat contents. **Livestock Production Science**, v.83, p.153-164, 2003.

ANNEN, E. L.; COLLIER, R. J.; MCGUIRE, M. A.; VICINI, J. L.; BALLAM, J. M.; LORMORE, M. J. Effect of modified dry period lengths and bovine somatotropin on yield and composition of milk from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.3746-3761, 2004.

ANIL, S. S.; ANIL, L.; DEEN, J. Challenges of pain assessment in domestic animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.220, n.3, p.313-319, 2002.

BACH, A.; DE-PRADO, A.; ARIS, A. The effects of cabergoline administration at dry-off of lactating cows on udder engorgement, milk leakages, and lying behavior. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p.1-5, 2015.

BACHMAN, K. C.; SCHAIRER, M. L. Invited Review: Bovine studies on optimal lengths of dry periods. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3027-3037, 2003.

BAUMRUCKER, C. R.; STEMBERGER, B. H. Insulin and insulin-like growth factor-I stimulate DNA synthesis in bovine mammary tissue in vitro. **Journal of Animal Science**, v.67, n.12, p.3503-3514, 1989.

BAUMRUCKER, C. R.; ERONDU, N. E. Insulin-like growth factor (IGF) system in the bovine mammary gland and milk. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.5, n.1, p.53-64, 2000.

BERTULAT, S.; FISCHER-TENHAGEN, C.; SUTHAR, V.; MOSTL, E.; ISAKA, N.; HEUWIESER, W. Measurement of fecal glucocorticoid metabolites and evaluation of udder characteristics to estimate stress after sudden dry-off in dairy cows with different milk yields. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.3774-3787, 2013.

BERTULAT, S.; FISCHER-TENHAGEN, C.; HEUWIESER, W. A survey of drying-off practices on commercial dairy farms in northern Germany and a comparison to science-based recommendations. **Veterinary Record Open**, v.2, n.1, p.1-10, 2015.

BERTULAT, S.; ISAKA, N.; DE PRADO, A.; LOPEZ, A.; HETREAU, T.; HEUWIESER, W. Effect of a single injection of cabergoline at dry off on udder characteristics in high-yielding dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100, n.4, p.3220-3232, 2017.

BOUTINAUD, M.; ISAKA, N.; LOLLIVIER, V.; DESSAUGE, F.; GANDEMER, E.; LAMBERTON, P.; DE PRADO TARANILLA, A. I.; DEFLANDRE, A.; SORDILLO, L. M.. Cabergoline inhibits prolactin secretion and accelerates involution in dairy cows after dry-off. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.1-12, 2016.

BRANDLEY, A. J.; GREEN, M. J. A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n.9, p.1957-1965, 2000.

BRANDLEY, A. J.; GREEN, M. J. The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention. **Veterinary Clinics Food Animal**, v.20, p.547-568, 2004.

BUSHE, T; OLIVER, S. P. Natural protective factors in bovine mammary secretions following different methods of milk cessation. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.696-704, 1987.

BUTLER, S. T.; MARR. A; L.; PELTON, S. H.; RADCLIFF, R. P.; LUCY, M. C.; BUTLER, W. R. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative

energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. **Journal of Endocrinology**, v.176, p.205-217, 2003.

CALDEIRA, C. Alerta: Medicamento Velactis pode causar morte em vacas leiteiras. **Agricultura e Mar**, 29 de jun. de 2016. Disponível em: <http://agriculturaemar.com/alerta-medicamento-velactis-pode-causar-morte-vacas-leiteiras/> . Acesso em 05 de ago de 2019.

CARON, M. G.; BEAULIEU, M.; RAYMOND, V.; GAGNÉ, B.; DROUIN, J.; LEFKOWITZ, R. J.; LABRIE, F. Dopaminergic receptors in the anterior pituitary gland. **The Journal of Biological Chemistry**, v.253, n.7, p.2244-2253, 1978.

COHICK, W. S. Role of the insulin-like growth factors and their binding proteins in lactation. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1769-1777, 1998.

COLLIER, R. J.; ANNEN-DAWSON, E. L.; PEZESHKI, A. Effects of continuous lactation and short dry periods on mammary function and animal health. **Animal**, v.6, n.3, p.403-414, 2011.

CURTIS, C. R.; ERB, H. N.; SNIFFEN, C. J.; SMITH, R. D. Epidemiology of parturient paresis: predisposing factors with emphasis on dry cow feeding and management. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.817-825, 1984.

DAVIS, S. R.; FARR, V. C.; STELWAGEN, K. Regulation of yield loss and milk composition during once-daily milking: a review. **Livestock Production Science**, v.59, p.77-94, 1999.

DINGWELL, R. T.; KELTON, D. F.; LESLIE, K. E. Management of dry cow in control of peripartum disease and mastitis. **The Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v.19, p.235-265, 2003.

DINGWELL, R. T.; LESLIE, K. E.; SCHUKKEN, Y. H.; SARGEANT, J. M.; TIMMS, L. L.; DUFFIELD, T. F.; KEEFE, G. P.; KELTON, D. F.; LISSEMORE, K. D.; CONKLIN,

J. Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. **Preventive Veterinary Medicine**, v.63, p.75-89, 2004.

EBERHART, R. J. Management of dry cows to reduce mastitis. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.1721-1732, 1986.

ELLISON III, R. T.; GIEHL, T. J.; LAFORCE, F. M. Damage of the outer membrane of enteric gram-negative bacteria by lactoferrin and transferrin. **Infection and Immunity**, v.56, n.11, p.2774-2781, 1988.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. European public maximum residues levels assessment report: cabergoline (bovine). Committee for Medicinal Products for Veterinary Use, 2014.

FENG, Z.; MARTI, A.; JEHN, B.; ALTERMATT, H. J.; CHICAIZA, G.; JAGGI, R. Glucocorticoid and progesterone inhibit involution and programmed cell death in the mouse mammary gland. **The Journal of Cell Biology**, v.131, n.4, 1995.

FLINT, D. J.; GARDNER, M. Evidence that growth hormone stimulates milk synthesis by direct action on the mammary gland and that prolactin exerts effects on milk secretion by maintenance of mammary deoxyribonucleic acid content and tight junction status. **Endocrinology**, v.135, n.3, p.1119-1124, 1994.

FLINT, D. J.; KNIGHT, C. H. Interactions of prolactin and growth hormone (GH) in the regulation of mammary gland function and epithelial cell survival. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.2, n.1, p.41-48, 1997.

FORSYTH, I. A. The insulin-like growth factor and epidermal growth factor families in mammary cell growth in ruminants: action and interaction with hormones. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.1085-1096, 1996.

FREEMAN, M. E.; KANYICKSKA, B.; LERANT, A.; NAGY, G. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. **Physiological Reviews**, v.80, n.4, p.1523-1631, 2000.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1260-1268, 1997.

GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v.176, p.50-57, 2008.

GUNNINK, J. W. Pre-partum leucocytic activity and retained placenta. **The Veterinary Quarterly**, v.6, n.2, 1984.

GREEN, M. J.; GREEN, L. E.; BRADLEY, A. J.; BURTON, P. R.; SCHUKKEN, Y. H.; MEDLEY, G. F. Prevalence and associations between bacterial isolates from dry mammary glands of dairy cows. **The Veterinary Record**, v.156, p.71-77, 2005.

HAUSER, S. D.; MCGRATH, M. F.; COLLIER, R. J.; KRIVI, G. G. Cloning and in vivo expression of bovine growth hormone receptor mRNA. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.72, p.187-200, 1990.

HIBBS, J. W. Milk fever (parturient paresis) in dairy cows – a review. **Journal of Dairy Science**, v.33, p.758-789, 1950.

HOGAN, J. S.; PANKEY, J. W.; DUTHIE, A. H. Growth inhibition of mastitis pathogens by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v.70, n.5, p.927-934, 1987.

HOGAN, J. S.; SMITH, K. L.; TODHUNTER, D. A.; SCHOENBERGER, P. S. Growth responses of environmental mastitis pathogens to long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.1, p.245-249, 1988.

HOLST, B. D.; HURLEY, W. L.; NELSON, D. R. Involution of the bovine mammary gland: histological and ultrastructural changes. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.935-944, 1987.

HORST, R. L.; JORGENSEN, N. A. Elevated plasma cortisol during induced and spontaneous hypocalcemia in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.2332-2337, 1982.

HORST, R. L. Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.604-616, 1986.

HORST, R. L.; GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A. Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25-dihydroxyvitamin D receptor. **Endocrinology**, v.126, n.2, p.1053-1057, 1990.

HORST, R. L.; GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.1936-1951, 1994.

HORST, R. L.; GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A. Adapting to the transition between gestation and lactation: differences between rat, human and dairy cow. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.10, n.2, p.141-156, 2005.

JAWOR, P. E.; HUZZEY, J. M.; LEBLANC, S. J.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Associations of subclinical hypocalcemia at calving with milk yield, and feeding, drinking, and standing behaviors around parturition in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.1240-1248, 2012.

JEONG, J. K.; KANG, H. G.; KIM, I. H. Associations between serum calcium concentration and postpartum health and reproductive performance in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.196, p.184-192, 2018.

KASUM, M.; VRCIC, H.; STANIC, P.; JEZEK, D.; ORESKOVIC, S.; BEKETIC-ORESKOVIC, L.; PEKEZ, M. Dopamine agonists in prevention of ovarian

hyperstimulation syndrome. **Gynecological Endocrinology**, v.30, n.12, p.845-849, 2014.

KIMURA, K.; GOFF, J. P.; KEHRLI JR, M. E.; REINHARDT, T. A. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.544-550, 2002.

LACASSE, P.; LOLLIVIER, V.; BRUCKMAIER, R. M.; BOISCLAIR, Y. R.; WAGNER, G. F.; BOUTINAUD, M. Effect of prolactin-release inhibitor quinagolide on lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.1302-1309, 2011.

LACASSE, P.; LOLLIVIER, V.; DESSAUGE, F.; BRUCKMAIER, R. M.; OLLIER, S.; BOUTINAUD, M. New developments on the galactopoietic role of prolactin in dairy ruminants. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 43, p.154-160, 2012.

LACASSE, P.; OLLIER, S.; LOLLIVIER, V.; BOUTINAUD, M. New insights into the importance of prolactin in dairy ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.1-11, 2016.

LAMOTE, I.; MEYER, E.; MASSART-LEEN, A. M.; BURVENICH, C. Sex steroids and growth factors in the regulation of mammary gland proliferation, differentiation, and involution. **Steroids**, v.69, n.3, p.145-159, 2004.

LOPERA, C.; ZIMPEL, R.; VIEIRA-NETO, A.; LOPES, F. R.; ORTIZ, W.; POINDEXTER, M.; FARIA, B. N.; GAMBARINI, M. L.; BLOCK, E.; NELSON, C. D.; SANTOS, J. E. P. Effects of level of dietary cation-anion difference and duration of prepartum feeding on performance and metabolism of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.1-23, 2018.

MAIOLI, M. A.; NOGUEIRA, G. P. Padronização da quantificação do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) em plasma bovino por ELISA. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.12, p.1545-1553, 2017.

MARTINEZ, N.; RISCO, C. A.; LIMA, F. S.; BISINOTTO, R. S.; GRECO, L. F.; RIBEIRO, E. S.; MAUNSELL, F.; GALVÃO, K.; SANTOS, J. E. P. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.7158-7172, 2012.

MARTINEZ, N.; SINEDINO, L. D. P.; BISINOTTO, R. S.; RIBEIRO, E. S.; GOMES, G. C.; LIMA, F. S.; GRECO, L. F.; RISCO, C. A.; GALVÃO, K. N.; TAYLOR-RODRIGUEZ, D.; DRIVER, J. P.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.874-887, 2014.

MOHAN, S.; BAYLINK, D. J. Editorial: Insulin-like growth factor (IGF) – binding proteins in serum – do they have additional roles besides modulating the endocrine IGF actions? **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.81, n.11, p.3817-3820, 1996.

NEVES, R. C.; LENO, B. M.; STOKOL, T.; OVERTON, T. R.; MCART, J. A. A. Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100, n. 5, p.3796-3804, 2017.

NEVILLE, M. C.; MCFADDEN, T. B.; FORSYTH, I. Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.7, n.1, p.49-66, 2002.

NEWMAN, K. A.; RAJALA-SCHULTZ, P. J.; DEGRAVES, F. J.; LAKRITZ, J. Association of milk yield and infection status at dry-off with intramammary infections at subsequent calving. **Journal of Dairy Research**, v.77, p.99-106, 2010.

ODENSTEN, M. O.; CHILLIARD, Y.; HOLTENIUS, K. Effects of two different feeding strategies during dry-off on metabolism in high-yielding dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2072-2082, 2005.

OLDHAM, E. R.; EBERHART, R. J.; LANGE, A. L.; BRUSO, S. L. Changes in bovine teat canal during the nonlactating period and early lactation, as measured by teat canal impressions. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, n.12, p.2075-2079, 1991.

OLLIER, S.; ZHAO, X.; LACASSE, P. Effects of feed restriction and prolactin-release inhibition at drying-off on susceptibility to new intramammary infection in cows. **Journal of Dairy Science**, v.98, n.1, p.221-228, 2015.

ØSTERGAARD, S.; LARSEN, T. Short communication: Associations between blood calcium status at calving and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.11, p.2438-2440, 2000.

PANTOJA, J. C. F.; HULLAND, C.; RUEGG, P. L. Somatic cell count status across the dry period as a risk factor for the development of clinical mastitis in the subsequent lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 139-148, 2009.

PARK, C. S.; LINDBERG, G. L. Glândula Mamária e Lactação. In: REECE, W. O. (Ed.). **Dukes: Fisiologia dos Animais Domésticos I**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2006, p.670-690.

PLATH-GABLER, A.; GABLER, C.; SINOWATZ, F.; BERISHA, B.; SCHAMS, D. The expression of the IGF family and GH receptor in the bovine mammary gland. **Journal of Endocrinology**, v.168, p.39-48, 2001.

RÉMOND, B.; ROUEL, J.; PINSON, N.; JABET, S. An attempt to omit the dry period over three consecutive lactations in dairy cows. **Annales de Zootechnie**, v.46, n.5, p.399-408, 1997.

RICHARDS, J. S.; WILLIAMS, J. J. Luteal cell receptor content for prolactin (PRL) and luteinizing hormone (LH): regulation by LH and PRL. **Endocrinology**, v.99, n.6, p.1571-1581, 1976.

RODRÍGUEZ, E. M.; ARÍS, A.; BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.7427-7434, 2017.

ROMAGNOLI, S.; MILANI, C.; PERIN, S.; BALLABIO, R.; STELLETTA, C.; MOLLO, A.; GELLI, D. Effect of an injectable cabergoline formulation on serum prolactin (PRL) and milk secretion in early postpartum beagle bitches. **Reproduction in Domestic Animals**, v.44, p. 148-151, 2009.

RONGE, H.; BLUM, J. W. Somatomedin C and other hormones in dairy cows around parturition, in newborn calves and in milk. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.60, p.168-176, 1988.

RONGE, H.; BLUM, J.; CLEMENT, C.; JANS, F.; LEUENBERGER, H.; BINDER, H. Somatomedin C in dairy cows related to energy and protein supply and milk production. **Animal Production**, v.47, p.165-183, 1988.

SCHAEFFER, L. R.; HENDERSON, C. R. Effects of days dry and days open on Holstein milk production. **Journal of Dairy Science**, v.55, p.107-112, 1972.

SCHUKKEN, Y. H.; VANVLIET, J.; VANDEGEER, D.; GROMMERS, F. J. A randomized blind trial on dry cow antibiotic infusion in a low somatic cell count herd. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.2925-2930, 1993.

SMITH, K. L.; TODHUNER, D. A. The physiology of mammary gland during the dry period and the relationship to infection. In: **Annual Meeting National Mastitis Council, Inc**, 1982.

SORDILLO, L. M.; NICKERSON, S. C.; AKERS, R. M.; OLIVER, S. P. Secretion composition during bovine mammary involution and the relationship with mastitis. **The International Journal of Biochemistry**, v.19, n.12, p.1165-1172, 1987.

SORDILLO, L. M.; NICKERSON, S. C. Morphologic changes in the bovine mammary gland during involution and lactogenesis. **American Journal of Veterinary Research**, v.49, n.7, p.1112-1120, 1988.

SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; DEROSA, D. Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1851-1865, 1997.

SORDILLO, L. M.; RAPHAEL, W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.29, n.2, p.267-278, 2013.

STEFANON, B.; COLITTI, M.; GABAI, G.; KNIGHT, C. H.; WILDE, C. J. Mammary apoptosis and lactation persistency in dairy animals. **Journal of Dairy Research**, v.69, p.37-52, 2002.

TONNER, E.; BARBER, M. C.; TRAVERS, T.; LOGAN, A.; FLINT, D. J. Hormonal control of insulin-like growth factor-binding protein-5 production in the involuting mammary gland in the rat. **Endocrinology**, v.137, p.5101-5107, 1997.

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

WILDE, C. J.; KNIGHT, C. H.; FLINT, D. J. Control of milk secretion and apoptosis during mammary involution. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.4, n.2, 1999.