

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DA DENSIDADE NUTRICIONAL DA DIETA E SUPLEMENTAÇÃO COM  
CROMO NAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE GLICOSE, INSULINA E ÁCIDOS  
GRAXOS NÃO ESTERIFICADOS EM VACAS DE LEITE LACTANTES.

Tiago Leiva

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Zootecnia como parte das  
exigências para obtenção do  
título de Mestre.

BOTUCATU – SP

Junho - 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DA DENSIDADE NUTRICIONAL DA DIETA E SUPLEMENTAÇÃO COM  
CROMO NAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE GLICOSE, INSULINA E ÁCIDOS  
GRAXOS NÃO ESTERIFICADOS EM VACAS DE LEITE LACTANTES.

Tiago Leiva  
Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Ass. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos  
CO-ORIENTADOR: Reinaldo Fernandes Cooke

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Zootecnia como parte das  
exigências para obtenção do  
título de Mestre.

BOTUCATU – SP  
Junho – 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO  
- SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA  
- LAGEADO - BOTUCATU (SP)

L533e Leiva, Tiago, 1987-  
Efeito da densidade nutricional da dieta e suplementação com cromo nas concentrações séricas de glicose, insulina e ácidos graxos não esterificados em vacas de leite lactantes / Tiago Leiva. - Botucatu: [s.n.], 2014  
viii, 57 f.: il., grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2014  
Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos  
Inclui bibliografia

1. Cromo. 2. Glicose. 3. Resistência à insulina. 4. Bovino de leite.  
I. Vasconcelos, José Luiz Moraes. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

Dedico bons projetos e resultados aos meus queridos pais, Wilson e Heloisa, a minha irmã Talita aos meus avós Isabel, Éssio, Terezinha e Sebastião e a minha namorada e companheira Alice pelos ensinamentos, dedicação e por acreditarem na minha capacidade de lutar pelos meus ideais.

Pessoas que sempre estiveram ao meu lado e que se esforçaram muito para que tudo acontecesse da melhor forma possível na minha vida.

Sem o amor e a perseverança destas pessoas jamais chegaria aonde cheguei.

Muito obrigado!

## AGRADECIMENTOS

Minha alegria e reconhecimento não seriam suficientes para agradecer a colaboração dos que se seguem:

Ao querido amigo e professor Zequinha pelo exemplo de orientação.

Ao professor Reinaldo Cooke, pela incansável ajuda sempre que precisei. Por suas explicações, paciência e entusiasmo em ensinar.

À FAPESP pelo suporte financeiro.

Aos amigos de pós-graduação Adnan, Augusto, Carlos, Everton, Henrique, Lucas, Marcos, Pedro, Rogério e Thiago Guzela pelos momentos vividos e lições aprendidas.

Agradecimento em especial ao amigo Augusto pelo convívio desde 2009. Uma pessoa singular, que me ensinou muito na vida educacional e pessoal.

Ao Desidério, funcionário do setor de Bovinocultura de Leite, “meu braço direito e esquerdo” em todos os momentos do meu mestrado. Quero agradecer-lo por sua disposição em ajudar, discutir e, efetivamente, fazer parte dos experimentos conduzidos no setor.

À toda comunidade da FMVZ, principalmente aos queridos Carlos, Seila, Carmen e Renato.

À Conapec, por seu exemplo de união e trabalho. Sem ela, não acredito que fosse capaz realizar meus projetos e atuar de forma ativa no meio profissional.

A todos que se seguem pela ajuda durante todo o experimento, sem eles, a parte experimental desse projeto não seria possível: Felipe Pádua, Alice, Felipe Guirado, Juliana Ranches, Fernando Drago, Henrique Soares, Matheus Picollo e a toda família Conapec.

À minha querida família: Wilson, Heloisa, Talita, Sebastiao, Terezinha, Éssio e Izabel. Sem o amor destas pessoas jamais conseguiria chegar aonde cheguei.

À minha casa e família República Karca 1 Góle, sem eles não seria o que sou e não conquistaria nada do que tenho.

À minha amiga e companheira Alice por sempre me alegrar e estar comigo tanto nos momentos bons, quanto nos ruins.

**OBRIGADO A TODOS!**

## Sumário

<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>1</b>
<b>CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....</b>	<b>1</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>2</b>
<b>2. Revisão de Literatura .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Escore de Condição corporal .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2. Resistência a Insulina e o Cromo.....</b>	<b>5</b>
<b>2.3. Balanço energético, hormônios e metabolitos. ....</b>	<b>7</b>
<b>3. Referencias Bibliográficas .....</b>	<b>8</b>
<b>CAPITULO 2 .....</b>	<b>24</b>
<b>EFEITO DA DENSIDADE NUTRICIONAL DA DIETA E SUPLEMENTAÇÃO COM CROMO NAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE GLICOSE, INSULINA E ÁCIDOS GRAXOS NÃO ESTERIFICADOS EM VACAS DE LEITE LACTANTES.....</b>	<b>24</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>25</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>27</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>29</b>
<b>Hipóteses: .....</b>	<b>31</b>
<b>2. Materiais e Métodos .....</b>	<b>31</b>
<b>2.1. Animais e Dietas .....</b>	<b>31</b>
<b>2.2. Peso corporal e ECC .....</b>	<b>33</b>
<b>2.3. Colheita de sangue .....</b>	<b>33</b>
<b>2.5. Desempenho reprodutivo .....</b>	<b>34</b>
<b>2.6. Análises Laboratoriais.....</b>	<b>36</b>
<b>2.7. RQUICKI .....</b>	<b>37</b>
<b>2.8. Análises Estatísticas.....</b>	<b>37</b>
<b>3. Resultados e Discussão .....</b>	<b>38</b>
<b>4. Conclusões .....</b>	<b>48</b>
<b>5. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>49</b>

**LISTA DE ABREVIATURAS**

AG - Ácidos Graxos

AGNE – Ácidos Graxos Não Esterificados

BEN – Balanço Energético Negativo

CON – Controle (manutenção de peso)

BPCC - Balanço energético Positivo com Cromo

BPSC – Balanço energético Positivo sem Cromo

ECC – Escore de Condição Corporal

EM – Energia Metabolizável

ELI - Energia Líquida para lactação

ELm – Energia Líquida para Manutenção

GH – Hormônio do Crescimento

IGF-1 – Fator de crescimento semelhante à insulina do tipo 1

IMS – Ingestão de Matéria Seca

MS – Matéria Seca

PB – Proteína Bruta

PC – Peso Corporal

RQUICKI - Teste de Sensibilidade a Insulina nos Tecidos Periféricos

TG – Triacilglicerol

TTG – Teste de Tolerância a Glicose



## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2

FIGURA 1.....42

Concentrações séricas de Insulina ( $\mu\text{UI/ml}$ ) em primíparas lactantes recebendo dieta visando atender 100% dos requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%).

FIGURA 2.....43

Concentrações séricas de Insulina ( $\mu\text{UI/ml}$ ) em múltiparas lactantes recebendo dieta visando atender 100% dos requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%).

FIGURA 3.....44

Relação Insulina:Glicose em lactantes primíparas recebendo dieta visando atender 100% dos requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%).

## FIGURA 4.....44

Relação Insulina:Glicose em multíparas lactantes recebendo dieta visando atender 100% dos requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%).

## FIGURA 5.....46

Concentrações de insulina ( $\mu$ IU/ml) no TTG em vacas lactantes recebendo dieta visando atender 100% dos requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%).

## FIGURA 6.....47

Relação Insulina:Glicose no TTG em vacas lactantes recebendo dieta visando atender 100% dos requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%).

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1.....	39
---------------	----

PC, ECC e produção de leite, do d0 ao d 210 do experimento em vacas lactantes recebendo dietas visando atender os requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dietas com excesso de energia, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%).

TABELA 2.....	41
---------------	----

Concentrações séricas de hormônios, metabolitos e RQUICKI ("*Revised Quantitative Insulin Sensitivity Check Index*"), do d0 ao d 210 do experimento em vacas lactantes recebendo dietas visando atender os requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dietas com excesso de energia, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%).

TABELA 3.....	48
---------------	----

Produção de oócitos, embriões e proporção oócito/embrião produzido, do d0 ao d 210 do experimento em vacas lactantes recebendo dietas visando atender os requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dietas com excesso de energia, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%).

**CAPÍTULO 1**  
**CONSIDERAÇÕES INICIAIS**

## 1. Introdução

Devido ao aumento da produção leiteira por vaca/dia e ao aumento na demanda energética dos animais, tornou-se necessária a utilização de dietas com altas concentrações de energia (Santos e Sá Filho, 2006). Dietas altamente energéticas podem aumentar o ganho de peso, o escore de condição corporal (ECC), promover maior risco de obesidade no terço médio da lactação (Gonçalves et al., 2009) e proporcionar o aparecimento do quadro de resistência a insulina (McCan et al., 1986 a,b, Leiva et al., 2014). Resistência à insulina é caracterizada pela insensibilização do organismo à insulina, o que compromete a utilização de glicose levando a quadro de déficit energético celular, com aumento da lipólise e mobilização de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (Patterson et al., 1994). No pós-parto vacas em lactação apresentam diminuição na sensibilidade à insulina (Cronjé, 2000; Sinclair, 2010) na qual menor quantidade de glicose é oxidada e captada pelos tecidos adiposo e muscular (Bauman & Elliot, 1983), priorizando a utilização de glicose pela glândula mamária (Lucy, 2011).

Em humanos é comum o aparecimento de quadros de resistência à insulina em pessoas obesas e/ou que se alimentam de dietas com alta densidade nutricional (Hansen et al., 1998; Zierath et al., 1997). Em pessoas com resistência à insulina ocorre maior mobilização de lipídios (Golay et al., 1984, Hegarty et al., 2002) que são utilizados de forma preferencial pelos tecidos periféricos (Pan et al., 1997, Oakes et al., 1997), levando a quadro de hiperglicemia (Felber & Golay, 1995), seguido de um estado hiperinsulinêmico (Pereira et al., 2002).

Al-Trad et al. (2009) utilizando vacas no terço médio da lactação, observaram que animais recebendo infusões de glicose por 28 dias apresentaram maior ganho de peso, acúmulo de glicogênio no fígado e maior proporção de resistência à insulina, quando comparados ao grupo controle. Pires et al. (2007) realizando infusões de sebo

em vacas secas, verificaram aumento nas concentrações séricas de triglicerídeos (TG) e AGNE e detectaram resistência à insulina, demonstrando que além da glicose, os lipídeos também podem induzir à resistência a insulina. Em estudos com ovelhas e novilhas, foi verificado que animais que apresentaram maior ganho de peso e alto ECC tiveram maiores concentrações séricas de insulina durante a realização do teste de tolerância a glicose (TTG) e hiperinsulinemia basal, caracterizando estado de resistência à insulina (McCan et al., 1986 a,b), que pode ser prejudicial em alguns parâmetros reprodutivos (Adamiak et al., 2005).

Para tentar minimizar esse quadro, pesquisadores vêm utilizando cromo como ferramenta para potencializar a ação da insulina, mantendo ativos os receptores de insulina e otimizando a captação de glicose pelas células (Vincent et al., 2000; 2001). Subiyatno, et al. (1996) suplementando cromo em vacas de leite no pós-parto observaram diminuição no quadro de resistência a insulina. Além disso, a suplementação com cromo pode trazer outros benefícios como: aumento na ingestão de matéria seca, maior produção de leite (Smith et al., 2005; Besong et al., 1996) e melhora do desempenho reprodutivo de bovinos (Stahlhut et al., 2006; Aragón et al., 2001; Bryan et al., 2004). Também foi observado que animais recebendo propionato de cromo no período de transição apresentaram aumento nas taxas de lipogênese e diminuição da lipólise, com maior utilização de glicose nos tecidos insulino-dependentes (Hairly et al., 2001; MacNamara & Valdez et al., 2005). Summer et al. (2007) fornecendo propionato de cromo para novilhas em crescimento observaram após a realização do TTG, aumento nas taxas de desaparecimento de glicose, possivelmente devido à ação do cromo nos tecidos sensíveis à insulina. Leiva et al., (2014) também observaram que suplementação com propionato de cromo foi eficiente em minimizar o quadro de resistência a insulina.

## 2. Revisão de Literatura

### 2.1. Escore de Condição corporal

A condição corporal é um dos principais fatores que contribuem para diminuição do consumo alimentar próximo ao parto (Butler, 2005). Quanto maior o ECC ao parto, maior a queda de ingestão de matéria seca (IMS) no periparto, maiores concentrações sanguíneas de AGNE, balanço energético negativo (BEN) mais intenso e aumento da incidência de doenças no período pós-parto (Fronk *et al.*, 1980; Grummer, 1993; Rukkwamsuk *et al.*, 1998; Dann *et al.*, 2006). Dentre as doenças do pós-parto, a síndrome do fígado gorduroso é causada por anormalidades no metabolismo de carboidratos e lipídeos (Ohtsuka *et al.*, 2001), e gera acúmulo excessivo de TG no interior dos hepatócitos (Jorritsma *et al.*, 2001), como resultado da alta concentração sérica de AGNE (Grummer, 2008). O aumento de AGNE sanguíneo pode ser uma resposta fisiológica ao BEN ou às mudanças hormonais relacionadas ao parto e ao início da lactação, as quais induzem o desequilíbrio entre a taxa de oxidação e esterificação em TG que está associado com prejuízos no metabolismo hepático (Grummer, 1993; Drackey, 1999; Katoh, 2002; Melendez; Risco, 2005; Grummer, 2008).

Vacas leiteiras obesas no momento do parto têm uma maior propensão a apresentar síndrome do fígado gorduroso devido às maiores concentrações de AGNE na corrente sanguínea e acúmulo de TG no fígado (Grummer, 1993; Smith *et al.*, 1997). Esta síndrome é considerada o principal transtorno metabólico de vacas leiteiras de alta e média produção no início da lactação e tem sido associado com produção diminuída, menor desempenho reprodutivo e baixa imunidade (Jorritsma *et al.*, 2001; Bobe *et al.*, 2004; Melendez; Risco, 2005; Rukkwamsuk *et al.*, 2005; Grummer, 2008).

Estados de resistência à insulina vêm sendo relacionados em vacas leiteiras com severa lipidose hepática (Ohtsuka *et al.*, 2001), sendo que, excessiva mobilização de ácidos graxos (AG) e consequente aumento de AGNE e corpos cetônicos na corrente

sanguínea podem promover quadro de resistência à insulina em vacas leiteiras durante a lactação (Bossaert et al., 2008).

## **2.2. Resistência a Insulina e o Cromo.**

Resistência à insulina é designada por uma resposta anormal dos níveis basais de insulina circulante que é acompanhada por intolerância à glicose e diminuição da captação de glicose pelos tecidos periféricos sensitivos à insulina (Kahn, 1978). Resistência à insulina é causada por fatores relacionados à obesidade, hiperinsulinemia e hiperlipidemia (Hayirli, 2006). Diminuição da sensibilidade à insulina nos tecidos periféricos é decorrente da partição de nutrientes para tecidos fetais no final da gestação e para a glândula mamária no início da lactação (Bell, 1995).

Durante o período de transição de vacas leiteiras ocorre aumento nas concentrações de AGNE (Grummer, 1993 e Kokkonen et al., 2005), o que pode levar ao aparecimento do quadro de resistência à insulina (Bell and Bauman, 1997).

Holtenius et al., 2003 e Dann et al., (2006) suplementando vacas com excesso de energia durante o período seco observaram um aumento das concentrações de AGNE e  $\beta$ -hidroxibutirato (BHBA) no pós parto seguido de um quadro de resistência à insulina. Pires et al. (2007) infundindo sebo em vacas secas verificaram um aumento de TG e AGNE séricos associando esses fatores com o quadro de resistência a insulina. Esses dados estão de acordo com os encontrados por Leiva et al. (2014), que suplementando vacas secas com excesso de energia observaram o aparecimento do quadro de resistência a insulina através da realização do teste de tolerância a glicose (TTG), RQUICKI e da relação insulina:glicose.

No pós-parto imediato, vacas leiteiras reduzem a utilização de glicose nos tecidos periféricos para que esta seja destinada a glândula mamária (Subiyatno, 1996), o que



promove uma maior mobilização de AGNE (Buckley et al., 2000; Roche et al., 2006; McCarthy et al., 2007) e o aparecimento do quadro de resistência à insulina (Debrass et al., 1989; Prior and Christenson, 1978; Sano et al., 1991).

Para tentar minimizar a resistência a insulina, pesquisas estão sendo feitas para testar a eficiência da utilização de cromo na dieta de vacas leiteiras. Cromo é um mineral que facilita a interação da insulina com seus receptores alvos (Mertz, 1974), potencializando a ação da insulina (Vincent et al., 2000; 2001), por fazer parte do fator de tolerância a glicose (GTF) (Anderson 1988). Em seres humanos e animais de laboratório, a deficiência de cromo é manifestada através de alterações no metabolismo de glicose e resistência à insulina em diversos tecidos (Mayes et al., 1993). Em ruminantes o cromo vem sendo utilizado como ferramenta para minimizar a intolerância à glicose (McNamara and Valdez, 2005), melhorando a utilização de glicose pelas células, produção de leite e parâmetros reprodutivos (Yang et al., 1996; Hayirli et al., 2001; Westwood et al., 2002; Smith, 2004; Smith et al., 2005).

Soltan (2009) suplementando vacas com cromo no pré e pós-parto, observou uma diminuição nas concentrações séricas de AGNE e cortisol, seguido de melhor utilização de insulina, resultados similares aos encontrados por Yang et al., (1996); DePew et al., (1998); Hayirli et al., (2001); Bryan et al., (2004), que observaram uma diminuição nas concentrações séricas de AGNE quando suplementaram vacas com cromo.

Subiyatno et al. (1996) ao suplementarem cromo em dieta de vacas leiteiras antes e após o parto observaram redução na relação insulina:glicose e nas concentrações plasmática de insulina e TG em primíparas, mas não em vacas múltiparas. Besong et al., (1996) adicionando picolinato de cromo a dieta de vacas de leite observaram aumento no consumo de matéria seca (MS) e na produção de leite, mas não encontraram nenhum efeito na composição do leite, nos níveis sanguíneos de glicose, ácidos graxos livres e

insulina, no entanto, picolinato de cromo reduziu os níveis séricos de corpos cetônicos e a concentração de TG hepáticos no dia 30 pós-parto. Leiva et al. (2014) observaram que a suplementação com propionato de cromo foi efetivo em minimizar a resistência a insulina em vacas secas submetidas ao TTG. Por outro lado Zanetti et al., (2003) não encontraram diferenças no desaparecimento de glicose durante a realização do TTG, na IMS diária, no ganho de peso corporal (PC) diário, na eficiência e conversão alimentar de bezerros Holandeses em condições de conforto suplementados com cromo orgânico.

### **2.3. Balanço energético, hormônios e metabolitos.**

Vacas leiteiras apresentam BEN durante as primeiras quatro a oito semanas após o parto (Bauman e Currie, 1980; Etherton, 2000). Nesse período as vacas não conseguem consumir alimento suficiente para atender a demanda energética necessária para a produção de leite, e desenvolvem balanço energético negativo (Drackley, 1999). Esse balanço negativo de energia está associado à mobilização do tecido adiposo e altas concentrações sanguíneas AGNE (Adewuyi et al., 2005).

A partição de nutrientes durante o início de lactação é um processo fisiológico essencial para a produção de leite (Bauman & Currie, 1980). Essa mudança no metabolismo é influenciada por hormônios durante o pré e o pós-parto (Bell, 1995), e favorece a utilização de glicose pela glândula mamária em detrimento dos tecidos periféricos (Bauman & Elliot, 1983). A partição de nutrientes é mediada pelo hormônio do crescimento (GH) e ocorre por dois tipos de regulação, a homeostase, que é responsável pela manutenção do equilíbrio fisiológico, garantindo condições constantes no ambiente interno, preservando as funções vitais; e a homeorrese, um mecanismo que envolve mudanças coordenadas no metabolismo que resultam na partição de nutrientes para sustentar prioridades específicas de diferentes estados fisiológicos (Bauman &

Currie, 1980). No pós-parto imediato, a vaca está em homeorrese, priorizando a produção de leite, com diminuição nas concentrações plasmáticas de glicose (Butler *et al.* 2003b), insulina (Sangsrivong *et al.*, 2002; Butler *et al.* 2003a; Butler, 2005) e fator do crescimento do tipo insulina 1 (IGF-1) (Radcliff *et al.*, 2003). Nesse período também ocorre maior mobilização do tecido adiposo (Etherton & Bauman, 1998), levando a aumento do AGNE sanguíneo (Bossis *et al.* 1999; Mackey *et al.*, 2000), que é utilizado como fonte de energia para produção de leite e precursor de gordura na glândula mamária (Bell & Bauman, 1997; Oftedal, 2000).

A insulina é um hormônio peptídico de grande importância no metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas nos tecidos adiposo, muscular e hepático (Hayrli *et al.*, 2002), também é responsável em estimular a translocação de GLUT- 4 (transportador de glicose do tipo 4) para membrana plasmática (Gomes *et al.*, 2005). No tecido adiposo, a insulina facilita a entrada de glicose nas células por meio da GLUT- 4 pelo mesmo mecanismo de sua entrada no tecido muscular (Katzung, 1995), no fígado, estimula a lipogênese e inibe a cetogênese (Hayirli *et al.*, 2006), promovendo aumento na síntese e reesterificação de TG (Berne & Levy, 1993). Em vacas leiteiras, baixas e altas concentrações séricas de insulina, influenciadas por ingestão de alimentos, balanço energético (BE), níveis glicêmicos e concentrações de propionato, vem sendo correlacionado com resistência à insulina (Debrass *et al.*, 1989; Prior and Christenson, 1978; Sano *et al.*, 1991; Leiva *et al.*, 2014; Sinclair, 2010; Vizcarra *et al.*, 1998).

### **3. Referências Bibliográficas**

ADAMIAK, S. J; MACKIE, K; WATT, R. G; WEBB, R; & SINCLAIR, K. D.

**Impact of nutrition on oocyte quality: cumulative effects of body composition and**

**diet leading to hyperinsulinemia in cattle.** *Biology of Reproduction* 73 918–926, 2005.

ANDERSON, R. A.; BRYDEN, N. A.; POLANSKY, M. M.; MOSER, P. B. **Exercise effects on chromium excretion of trained and untrained men consuming a Constant diet.** *Journal of Applied Physiology* 64, 249, 1988.

ADEWUYI, A. A., E. GRUYS, AND F. J. C. M. VAN EERDENBURG. **Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle.** A review. *Vet.Q.* 27:117–126, 2005.

AL-TRAD, B; REISBERG, K; WITTEK, T; PENNER, G. B; ALKAASSEM, A; GÄBEL, G; FÜRL, M; ASCHENBACH, J. R. **Increasing intravenous infusions of glucose improve body condition but not lactation performance in mid-lactation dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 92:5645–5658, 2009.

ARMSTRONG, D.G.; MCEVOY, T.G.; BAXTER, G.; ROBINSON, J.J.; HOGG, C.O.; WOAD, K.J.; WEBB, R. **Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: associations with the ovarian insulin-like growth factor system.** *Biology of Reproduction*, v.64, p.1624-1632, 2001.

ARAGON, V. E. F; GRACA, D. S; NORTE, A. L; SANTIAGO, G. S; PAULA, O. **J. Supplemental high chromium yeast and reproductive performance of grazing primiparous zebu cows.** *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 53:624-628, 2001.

BAUMAN, D. E., AND W. B. CURRIE. **Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis.** J. Dairy Sci. 63:1514-1529, 1980.

BAUMAN, D. E. & ELLIOT, J. M. **Control of nutrient partitioning in lactating ruminants.** In T. B. Mepham (ed.), Biochemistry of Lactation, Elsevier, Amsterdam, pp. 437-468, 1983.

BELL, A.W., R. SLEPETIS E R.A. EHRHARDT. **Growth and accretion of energy and protein in the gravid uterus during late pregnancy in Holstein cows.** J. Dairy Sci. 78:1954, 1995.

BELL, A.W. **Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation.** J. Anim. Sci. 73:2804, 1995.

BELL, A. W., AND D. E. BAUMAN. **Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation.** J. Mammary Gland Biol. Neoplasia 2:265-278, 1997.

BERNE, R.M.; LEVY, M.N. **Hormones of the pancreatic islets.** Physiology, 3rd edn, (Mosby Year Book, St Louis, MO), p. 851-875, 1993.

BESONG, S; JACKSON, J; TRAMMELL, S; AND AMARAL-PHILLIPS, D. **Effect of supplemental chromium picolinate on liver triglycerides, blood metabolites, milk yield and milk composition in early lactation cows.** J. Dairy Sci. 79(Suppl. 1):196. (Abstr.), 1996.

BOBE, G.; YOUNG, J. W.; BEITZ, D.C. **Invited Review: Pathology, Etiology, Prevention, and Treatment of Fatty Liver in Dairy Cows**, Dairy Science, v. 87, p. 3105-3124, 2004.

BOSSAERT, P.; LEROY, J. L.; DeVLIEGHER, S.; OPSOMER, G. **Interrelation between glucose-induced insulin response, metabolic indicators, and the time of first ovulation in high-yielding dairy cows**, Journal Dairy Science, v. 91, p. 3363–3371, 2008.

BRYAN, M. A.; SOCHA, M. T; TOMLINSON, D. J. **Supplementing intensively grazed late-gestation and early lactation dairy cattle with chromium**. J. Dairy Science, 87, 4269–4277, 2004.

BUCKLEY, F., K. O’SULLIVAN, J. F. MEE, R. D. EVANS AND P. DILLON. **Relationship among milk yield , body condition, cow weight and reproduction in spring-calved Holstein-Friesians**. J. Dairy Sci. 86:2308-2319, 2003.

BUTLER, W.R., SMITH, R.D. **Interrelationships between energy balance on postpartum reproductive function in dairy cattle**. J. Dairy Sci. 7, 767–783, 1989.

BUTLER, W. R. **Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows**. Livest. Pro. Sci. v. 83, p. 211–218, 2003 (a).

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.** *J. Endocrinol.* v. 176, p. 205–217, 2003 (b).

CRONJÉ, P. B. 2000. **Nutrient-gene interactions: future potential and applications.** In: **Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction.** Ed. Cronjé, P.B., CAB International, Wallingford, UK. pp. 409-422.

DANN, H. M.; MORIN, D. E.; BOLLERO, G. A.; MUPHY, M. R.; DRACKLEY, J. K. **Prepartum intake, postpartum induction of ketosis and preparturient disorders affect the metabolic status of dairy cows.** *Journal of Dairy Science*, v.88, p. 3249-3264, 2005.

DEBRAS, E., J. GRIZARD, E. AINA, S. TESSERAUD, C. CHAMPREDON, AND M. ARNAL. **Insulin sensitivity and responsiveness during lactation and dry period in goats.** *Am. J. Physiol.* 256:E295–E302, 1989.

DEPEW, C. L.; BUNTING, L. D.; FERNANDEZ, J. M.; THOMPSON, D. L.; ADKINSON, R. W. **Performance and metabolic response of young dairy calves supplemented with chromium tripicolinate.** *Journal of Dairy Science* 81, 2916–2923, 1998:

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

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

FELBER, J. P & GOLAY, A. **Regulation of nutrient metabolism and energy expenditure.** *Metabolism.* 44:4-9, 1995.

FRONK, T. J., . H. SCHULTZ, AND A. R. HARDIE. **Effect os dry period overconditioning on subsequent metabolic disorders and performance of dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 63:1080-1090, 1980.

GARNSWORTHY, P. C.; TOOPS, J. H. **The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets.** *Animal Production*, v. 35, p. 113-119, 1982.

GOLAY, A; FELBER, J. P; MEYER, H. U; CURCHOD, B; MAEDER, E; JÉQUIER, E. **Study on lipid metabolism in obesity diabetes.** *Metabolism*, 33:111-6, 1984.

GONÇALVES, L. C; BORGES, I; FERREIRA, P. D. S. **Alimentação para gado de leite.** Belo Horizonte: FEPMVZ, 2009.

GRUMMER, R. R. **Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows.** *Journal of Dairy Science*, v. 76, p. 3882–3896, 1993.



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

HANSEN, P. A; HAN, D. H; MARSHALL, B. A; NOLTE, L. A; CHEN, M. M; MUECKLER, M. **High Fat Diet Impairs Stimulation of Glucose Transport in Muscle.** J. Biol. Chem, 273, 26157-63, 1998.

HAYIRLI, A; BREMMER, D. R; BERTICS, S. J; SOCHA, M. T; AND GRUMMER, R. R. **Effect of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows.** J. Dairy Sci. 84:1218–1230, 2001.

HAYIRLI, A.; BERTICS, S.J.; GRUMMER, R.R. **Effects of slow-release insulin on production, liver triglyceride and metabolic profiles of Holsteins in early lactation.** Journal Dairy Science, v. 85, p. 2180-2191, 2002.

HAYIRLI, A. **The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipodosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle.** Vet. Res. Commun. 30:749-774, 2006.

HEGARTY, B; COONEY, G. J; KRAEGEN, E. W; FURLER, S. M. **Increased Efficiency of Fatty Acid Uptake Contributes to Lipid Accumulation in Skeletal Muscle of High Fat-Fed Insulin-Resistant Rats.** Diabetes, 51:1477-84, 2002.

HOLTENIUS, K., S. AGENAS, C. DELAVALD, AND Y. CHILLIARD. **Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses.** J. Dairy Sci. 86:883-891, 2003.

JORRITSMA, R.; JORRITSMA, H.; SCHUKKEN, Y. H.; BARTLETT, P. C.; WENING, T. H.; WENTINK, G. H. **Prevalence and indicators of post partum fatty infiltration of the liver in nine commercial dairy herds in the Netherlands.** Livestock Production Science. v. 68, p. 53-60, 2001.

KAHN, C. R. **Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: A necessary distinction.** Metabolism 27:1893–1902, 1978.

KATOH, N. **Review Biochemistry: Relevance of apoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows.** Journal of Veterinary Medicine Science, v. 64, n. 4, p. 293-307, 2002.

KATZUNG, B.G. Pancreatic hormones and antidiabetic drugs. **Basic and Clinical Pharmacology.** 6th edn., (Appleton and Lange, Norwalk, CT), p. 637–654, 1995.

KOKKONEN, T., J. TAPONEN, T. ANTTILA, L. SYJÄLÄ-QVIST, C. DELAVALD, Y. CHILLIARD, M. TUORI, AND A. T. TESFA. **Effect of body fatness and glucogenic supplement on lipid and protein mobilization and plasma leptina in dairy cows.** J. Dairy Sci. 88:1127-1141, 2005.

LEIVA, T., COOKE, R. F., ABOIN, A.C., DRAGO, F. L., GENNARI, R., and VASCONCELOS, J.L.M. **Effects of excessive energy intake and supplementation with chromium propionate on insulin resistance parameters in non-lactating dairy cows.** J. Anima Sci 92:775-782, 2014.

LUCY, M. C. **Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end?** J. Dairy Sci 84:1277-1293, 2001.

LUCY, M. C. **Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows.** Reproduction 61:415–427, 2003.

LUCY, M. C. 2011. **Glicose sanguínea em ruminantes: Um metabólito crítico para a reprodução de vacas em lactação.** Trabalho apresentado em XVI Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, Uberlândia, MG, Brasil.

MACKEY, D. R.; WYLIE, A. R.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F.; DISKIN, M. G. **The effect of acute nutritional change on follicular wave turnover, gonadotropin, steroid concentration in beef heifers.** J. Anim. Sci. v. 78, p. 429-442, 2000.

MCCANN, J. P; ULLMANN, M. B; TEMPLE, M. R; REIMERS, T. J; AND BERGMAN, E. N. **Insulin and glucose responses to glucose injection in fed and fasted obese and lean sheep.** J. Nutr. 116:1287–1297, 1986 (a).

MCCANN, J. P; REIMERS, T. J. **Effects of obesity on insulin and Glucose Metabolism in Cyclic Heifers.** J. Anim. Sci. 62: 772-782, 1986(b).

MCCARTHY, S.; HORAN, B., DILLON, P., O'CONNOR, P., RATH, M., AND SHALLOO, L. **Economic comparison of divergent strains of Holstein-Friesian cows in various pasture-based production systems.** Journal of Dairy Science 90, 1493–1505, 2007.

MCNAMARA, J.P & VALDEZ, F. **Adipose tissue metabolism and production responses to calcium propionate and chromium propionate.** J. Dairy Sci. 88:2498–2507, 2005.

MELLENDEZ, P.; RISCO, C. A. **Management of Transition Cows to Optimize Reproductive Efficiency in Dairy Herds.** Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice, v. 1, p. 485–501, 2005.

MERTZ, W. **Chromium as dietary essential for man.** In: HOESKTRA, W. G. **Trace elements metabolism in animals.** Baltimore: University Park Press, p. 185-198, 1974.

NEBEL, R. L., AND M. L. MCGILLIARD. **Interactions of high Milk yield and reproductive performance in dairy cows.** J. Dairy Sci.76:3257–3268, 1993.

OAKES, N. D; COONEY, G. J; CAMILLERI, S; CHISHOLM, D. J, KRAEGEN, E. W. **Mechanisms of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding.** Diabetes. 46:1768-74, 1997.

OFTEDAL, O. T. **Use of maternal reserves as a lactation strategy in large mammals.** Proc. Nutr. Soc. 59:99–106, 2000.

OHTSUKA, H.; KOIWA, M.; HATSUGAYA, A.; KUDO, K.; HOSHI, F.; ITOH, N.; YOKOTA, H.; OKADA, H.; KAMURA, S. **Note Internal Medicine: Relationship between serum TNF activity and insulin resistance in dairy cows affected with naturally occurring fatty liver.** Journal of Veterinary Medical Science. v.63, n. 9, p. 1021-1025, 2001.

PAN, D. D; LILLIOJA, S; KRIKETOS, A. D; MILNER, M. R; BAUR, L. A; BOGARDUS, C. **Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action.** Diabetes. 46:983-8, 1997.

PEREIRA, L. O. 2002. **Protocolo de indução de obesidade em ratas a partir do perfil de ingestão alimentar de mulheres obesas brasileiras.** Campinas. [Dissertação de Mestrado – Instituto de Biologia da Universidade Estadual Campinas].

PETTERSSON, J. A., SLEPETIS, R., EHRHARDT, R. A., DUNSHEA, F. R., AND BELL, A. W. **Pregnancy but not moderate undernutrition attenuates insulin suppression of fat mobilization in sheep.** J. Nutr. 124:2431-2442, 1994.

PIRES, J. A. A; SOUZA, A .H; AND GRUMMER, R. R. **Induction of Hyperlipidemia by Intravenous Infusion of Tallow Emulsion Causes Insulin Resistance in Holstein Cows.** J. Dairy Sci. 90:2735-2744, 2007.

PRIOR, R. L., AND R. K. CHRISTENSON. **Insulin and glucose effects on glucose metabolism in pregnant and nonpregnant ewes.** J.Anim. Sci. 46:201–210, 1978.

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

ROCHE, J. R., D. P. BERRY, AND E. S. KOLVER. **Holstein-Friesian strain and feed effects on milk production, body weight, and body condition score profiles in grazing dairy cows.** J. Dairy Sci.89:3532–3543, 2006.

RUKKWAMSUK, T.; KRUIP, T. A. M.; MEIJER, G. A. L., WENSING, T. **Hepatic Fatty Acid Composition in Periparturient Dairy Cows with Fatty Liver Induced by Intake of a High Energy Diet in the Dry Period.** Journal of Dairy Science, v. 82, p. 280-287, 1999.

RUKKWAMSUK, T.; RUNGRUANG, S.; CHOOTHESA, A.; WENSING, T. **Effect of propylene glycol on fatty liver development and hepatic fructose 1,6 biphosphatase activity in periparturient dairy cows.** Livestock Production Science, v. 95, p. 95-102, 2005.

SANGSRITAVONG, S.; COMBS, D. K.; SARTORI, R.; WILTBANK, M. C. **High feed intake increases blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17  $\beta$  in dairy cattle.** J Dairy Sci., v. 85, p. 2831-2842, 2002.

SANO, H., M. NAKAI, T. KONDO, AND Y. TERASHIMA. **Insulin responsiveness to glucose and tissue responsiveness to insulin in lactating, pregnant, and nonpregnant, nonlactating beef cows.** J. Anim. Sci. 69:1122–1127, 1991.

SANTOS, J. E. P; SÁ FILHO, M. F. 2006. **Nutrição e reprodução em bovinos. Biotecnologias da Reprodução em Bovinos (2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada)**, Londrina, p. 30-54.

SINCLAIR, K. D. **Declining fertility, insulin resistance and fatty acid metabolism in dairy cows: Developmental consequences for the oocyte and pre-implantation embryo.** Acta Scientiae Veterinariae. 38(Supl 2): s545-s557, 2010.

SMITH, T. R.; HIPPEN, A. R.; BEITZ, D. C.; YOUNG, J.W. **Metabolic characteristics of induced ketosis in normal and obese dairy cows.** Journal of Dairy Science, v. 80, p. 1569-1581, 1997.

SMITH, K. L; WALDRON, M. R; DRACKLEY, J. K; SOCHA, M. T; AND OVERTON, T. R. **Performance of dairy cows as affected by prepartum dietary carbohydrate source and supplementation with chromium throughout the transition period.** J. Dairy Sci. 88:255–263, 2005.

SMITH, K. L. **Effect of prepartum carbohydrate source and chromium supplementation in dairy cows during periparturient period.** MS Thesis, Cornell University, Ithaca, NY, USA (Cited in Bryan et al., 2004), 2004.

SOLTAN, M.A. **Effect of dietary chromium supplementation on productive and reproductive performance of early lactating dairy cows under heat stress.** J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 94:264–72, 2009.

STAHLHUT, H. S; WHISNANT, C. S; AND SPEARS, J. W. **Effect of chromium supplementation and copper status on performance and reproduction of beef cows.** Anim. Feed Sci. Technol. 128:266-275, 2006.

SUBIYATNO, A; MOWAT, D. N; YANG, W. Z. **Metabolite and hormonal responses to glucose or propionate infusions in periparturient dairy cows supplemented with chromium.** J. Dairy Sci. 79, 1436–1445, 1996.

SUMNER, J. M; VALDEZ, F; AND MCNAMARA, J. P. **Effects of chromium propionate on response to an intravenous glucose tolerance test in growing Holstein heifers.** J. Dairy Sci. 90:3467–3474, 2007.

VILLA GODOY, A., HUGHES, T.L., EMERY, R.S., CHAPIN, L.T., FOGWELL, R.L. **Association between luteal function in lactating dairy cows.** J. Dairy Sci. 71, 1063–1072, 1988.

VINCENT, J. B. **The biochemistry of chromium.** J. Nutr.130:715–718, 2000.



VINCENT, J. B. The **bioinorganic chemistry of chromium(III)**. Polyhedron 20:1–26, 2001.

VIZCARRA, J. A., WETTEMANN, R. P., SPITZER, J. C., MORRISON, D. G. **Body condition at parturition and postpartum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin, and nonesterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows**. J. Anim. Sci., v. 76, pp. 927-936, 1998.

WEBB, R., GARNSWORTHY, P.C., GONG, J.G., ROBINSON, R.S., WATHES, D.C. **Consequences for reproductive function of metabolic adaption to load**. BSAS Occas. Publ. Metab. Stress Dairy, 1999.

WESTWOOD, C. T.; LEAN, I. J.; GAVIN, J. K. **Factors influencing fertility of Holstein dairy cows: a multivariate description**. Journal of Dairy Science 85, 3225–3237, 2002.

YANG, W. Z., D. N. MOWAT, A. SUBIYATNO, AND R. M. LIPTRAP. **Effects of chromium supplementation on early lactation performance of Holstein cows**. Can. J. Anim. Sci. 76:221–230, 1996.

ZANETTI, M. A.; SALLES, M. S. V.; BRISOLA, M. L.; CÉSAR, M. C. **Desempenho e resposta metabólica de bezerros recebendo dietas suplementadas com cromo**. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1532-1535, 2003.

ZIERATH, J. R; HOUSEKNECHT, K. L; GNUDI, L; KAHN, B. B. **High-fat feeding impairs insulin-stimulated GLUT-4 recruitment via an early insulin-signaling defect.** *Diabetes*. 46:215-23, 1997.

## **CAPITULO 2**

**EFEITO DA DENSIDADE NUTRICIONAL DA DIETA E SUPLEMENTAÇÃO  
COM CROMO NAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE GLICOSE, INSULINA  
E ÁCIDOS GRAXOS NÃO ESTERIFICADOS EM VACAS DE LEITE  
LACTANTES.**

## RESUMO

### **Efeito da densidade nutricional da dieta e suplementação com cromo nas concentrações séricas de glicose, insulina e ácidos graxos não esterificados em vacas de leite lactantes.**

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da densidade nutricional e da suplementação de cromo nas concentrações séricas de glicose, insulina, ácidos graxos não esterificados (AGNE) e IGF-1, em vacas 3/4 Holandês/Gir lactantes. Foram utilizadas 18 vacas ( $76 \pm 2$  dias pós-parto) alojadas em dois piquetes com disponibilidade ad libitum de silagem de milho e água. As vacas foram estratificadas de acordo com ordem de parição (primíparas e múltíparas) e produção de leite, distribuídas aleatoriamente em três tratamentos no d0 do experimento: 1) CON: dieta visando atender 100% dos requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo (n=5); 2) BPSC: dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, sem suplementação de cromo (n=6) e 3) BPCC: dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, com suplementação de cromo (n=6; 2,5g de KemTRACE<sup>TM</sup> Propionato de Cromo 0,4% - Kemin Industries, Inc, misturado em 97,5g de fubá de milho/animal/dia). Amostras de sangue foram colhidas semanalmente para determinação das concentrações séricas de glicose, insulina e AGNE durante 210 dias. Foi realizado TTG a cada 42 dias com infusão de 0,5 gramas de glicose/kg de PC com -15, 0, 10, 20, 30 45, 60, 90 e 120 minutos referente ao início da infusão, e aspiração folicular para determinação da qualidade oocitária e produção de embriões. Não foi detectada alteração ( $P = 0,74$ ) no peso corporal (PC), vacas do grupo BPSC e BPCC tiveram maior ( $P = 0,02$ ) ganho de ECC quando comparados ao grupo CON. Não houve diferença ( $P = 0,92$ ) na produção de leite entre os grupos. Animais do grupo CON apresentaram maior ( $P = 0,04$ ) AGNE

em relação aos grupos BPSC e BPCC. Durante as colheita semanais foi detectada ( $P < 0,01$ ) interação tratamento x dia nas concentrações séricas de insulina a partir do d175 para primíparas e a partir do d28 para múltíparas. Interação tratamento x dia na relação insulina:glicose foi detectada ( $P < 0,01$ ) para primíparas e múltíparas. Durante o TTG foi observado que animais do grupo BPSC apresentaram maiores ( $P < 0,05$ ) concentrações séricas de insulina comparados aos animais do grupo CON e BPCC. Não foi detectado diferença nas concentrações séricas de glicose. Múltíparas do grupo BPCC apresentaram maior ( $P = 0,03$ ) produção de oócitos em comparação aos animais do grupo BPSC e CON.

**Palavras chave:** Cromo, glicose, resistência insulina, vacas leiteiras.

## ABSTRACT

### **Effect of energy density of the diet and chromium supplementation on serum concentrations of glucose, insulin, non-esterified fatty acids and IGF-1 on lactating dairy cows**

The objective of this study was to evaluate the influence of energy density of the diet and chromium supplementation on serum concentrations of glucose, insulin, non-esterified fatty acids (NEFA) and IGF-1 in lactating dairy cows. Eighteen crossbred Holstein x Gir (DIM  $76 \pm 2$ ) cows were allocated in two drylot pens and receiving free-choice of corn silage and water, they were separately by parturition (primiparous x multiparous) and milk yield, and randomly assigned to one of three treatments on d0 of the experiment: 1) CON: diet formulated to reach 100% of maintenance and lactation requirement, without chromium supplementation (n=5); 2) BPSC: diet formulated to reach 100% and 160% of the requirements for lactation and maintenance, respectively, without chromium supplementation (n=6); 3) BPCC: diet formulated to meet 100% and 160% of the requirements for lactation and maintenance requirements, respectively, with chromium supplementation (n=6; 2,5g of KemTRACE™ Chromium Propionate 0,4% - Kemin Industries, Inc. - added in 97,5g of corn meal/animal/day). Blood samples were collected weekly for serum glucose, insulin and NEFA concentrations during the experiment (d0 to d210). Glucose Tolerance Tests (GTT) were performed each 42 days (d0, d42, d84, d126, d168, d210). During each GTT cows were infused (i.v.) with 0.5g of glucose/kg of body weight. Blood samples were collected at -15, 0, 10, 20, 30, 45, 60, 90 and 120 min relative to infusion. Ovarian pick-up was performed for oocyte quality and embryo production evaluation. There was no difference (P=0.74) in body weight during the study. Cows from the BPSC and BPCC groups had greater (P=0.02) Body Condition Score gain when compared to cows from the CON group. There was no

difference ( $P=0.92$ ) in milk yield between groups. Animals in the CON group had greater ( $P=0.04$ ) serum NEFA concentrations when compared to the ones in the BPSC and BPCC groups. A treatment x day interaction ( $P<0.01$ ) was detected for serum insulin concentrations since d175 for primiparous cows and since d28 for multiparous cows. A treatment x day interaction was detected ( $P <0.01$ ) for insulin:glucose ratio for both primiparous and multiparous cows. During GTT serum insulin concentrations ( $P<0.05$ ) were greater for animals in the BPCC when compared to animals in BPSC and CON groups. There was no difference for serum glucose concentrations in any of the parameters analyzed. Multiparous cows in the BPCC group had greater ( $P=0.03$ ) oocytes production comparing to cows in the BPSC and CON groups.

**Keywords:** chromium, dairy cows, glucose, insulin resistance.

## 1. Introdução

Devido ao aumento da produção leiteira por vaca/dia e ao aumento na demanda energética dos animais, tornou-se necessária a utilização de dietas com altas concentrações de energia (Santos e Sá Filho, 2006). Dietas altamente energéticas podem aumentar o ganho de peso, o escore de condição corporal (ECC), promover maior risco de obesidade no terço médio da lactação (Gonçalves et al., 2009) e proporcionar o aparecimento do quadro de resistência a insulina (McCan et al., 1986 a,b, Leiva et al., 2014). Resistência à insulina é caracterizada pela insensibilização do organismo à insulina, o que compromete a utilização de glicose levando a quadro de déficit energético celular, com aumento da lipólise e mobilização de ácidos graxos não esterificados (AGNE) (Patterson et al., 1994). No pós-parto vacas em lactação apresentam diminuição na sensibilidade à insulina (Cronjé, 2000; Sinclair, 2010) na qual menor quantidade de glicose é oxidada e captada pelos tecidos adiposo e muscular (Bauman & Elliot, 1983), priorizando a utilização de glicose pela glândula mamária (Lucy, 2011).

Em humanos é comum o aparecimento de quadros de resistência à insulina em pessoas obesas e/ou que se alimentam de dietas com alta densidade nutricional (Hansen et al., 1998; Zierath et al., 1997). Em pessoas com resistência à insulina ocorre maior mobilização de lipídios (Golay et al., 1984, Hegarty et al., 2002) que são utilizados de forma preferencial pelos tecidos periféricos (Pan et al., 1997, Oakes et al., 1997), levando a quadro de hiperglicemia (Felber & Golay, 1995), seguido de um estado hiperinsulinêmico (Pereira et al., 2002).

Al-Trad et al. (2009) utilizando vacas no terço médio da lactação, observaram que animais recebendo infusões de glicose por 28 dias apresentaram maior ganho de peso, acúmulo de glicogênio no fígado e maior proporção de resistência à insulina,



quando comparados ao grupo controle. Pires et al. (2007) realizando infusões de sebo em vacas secas, verificaram aumento nas concentrações séricas de triglicérides (TG) e AGNE e detectaram resistência à insulina, demonstrando que além da glicose, os lipídeos também podem induzir à resistência a insulina. Em estudos com ovelhas e novilhas, foi verificado que animais que apresentaram maior ganho de peso e alto ECC tiveram maiores concentrações séricas de insulina durante a realização do teste de tolerância a glicose (TTG) e hiperinsulinemia basal, caracterizando estado de resistência à insulina (McCan et al., 1986 a,b), que pode ser prejudicial em alguns parâmetros reprodutivos (Adamiak et al., 2005).

Para tentar minimizar esse quadro, pesquisadores vêm utilizando cromo como ferramenta para potencializar a ação da insulina, mantendo ativos os receptores de insulina e a otimizando a captação de glicose pelas células (Vincent et al., 2000; 2001). Subiyatno, et al. (1996) suplementando cromo em vacas de leite no pós-parto observaram diminuição no quadro de resistência a insulina. Além disso, a suplementação com cromo pode trazer outros benefícios como: aumento na ingestão de matéria seca, maior produção de leite (Smith et al., 2005; Besong et al., 1996) e melhora do desempenho reprodutivo de bovinos (Stahlhut et al., 2006; Aragón et al., 2001; Bryan et al., 2004) . Também foi observado que animais recebendo propionato de cromo no período de transição apresentaram aumento nas taxas de lipogênese e diminuição da lipólise, com maior utilização de glicose nos tecidos insulino-dependentes (Hairly et al., 2001; MacNamara & Valdez et al., 2005). Summer et al. (2007) fornecendo propionato de cromo para novilhas em crescimento observaram após a realização do TTG, aumento nas taxas de desaparecimento de glicose, possivelmente devido à ação do cromo nos tecidos sensíveis à insulina. Leiva et al., (2014) também

observaram que suplementação com propionato de cromo foi eficiente em minimizar o quadro de resistência à insulina.

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da densidade nutricional da dieta durante o terço médio e final de lactação e da suplementação com propionato de cromo nas concentrações séricas de glicose, insulina, ácidos graxos não esterificados e IGF-1 no desenvolvimento do quadro de resistência à insulina em vacas em lactação.

### **Hipóteses:**

Vacas leiteiras lactantes recebendo dietas de maior densidade nutricional irão apresentar resistência à insulina.

Adição de propionato de cromo na dieta atrasa o quadro de resistência à insulina em vacas leiteiras lactantes recebendo dietas com maior densidade nutricional.

## **2. Materiais e Métodos**

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental Lageado, no setor de Bovinocultura de Leite da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus Botucatu. Aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais no dia 12 de Abril de 2013 (Protocolo 53/2013-CEUA).

### **2.1. Animais e Dietas**

Foram utilizadas 8 vacas primíparas e 9 multíparas, lactantes, 3/4 Holandês/Gir (n= 17, PV = 537 kg  $\pm$  91, ECC inicial = 3,07  $\pm$  0,36), com 76  $\pm$  2 dias de lactação, estratificadas de acordo com ordem de parição (primíparas e multíparas) e produção de leite, distribuídas aleatoriamente em três tratamentos no d0 do experimento: 1) Controle

(CON): dieta visando atender 100% dos requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo (n=5); 2) BPSC: dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, sem suplementação de cromo (n=6) e 3) BPCC: dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, com suplementação de cromo (n=6; 2,5g de KemTRACE™ Propionato de Cromo 0,4% - Kemin Industries, Inc.[10 mg de cromo] misturado em 97,5g de fubá de milho/animal/dia). Todas as dietas foram formuladas de acordo com as exigências do NRC, (2001).

As vacas permaneceram em dois piquetes (primíparas separado de multíparas), com disponibilidade ad libitum de silagem de milho, sal mineral sem cromo (Ca 220g, P 75g, S 20g, Mg 36g, Na 65g, K 10g, Co 30mg, Cu 1150mg, I 40mg, Mn 2200 mg, Se 30 mg, Zn 4000 mg, Vit. A 400000, Vit. D3 100000 e Vit. E 1500 mg/kg) e água, por 210 dias, receberam individualmente após as ordenhas concentrado (calculado para cada animal), oferecido duas vezes ao dia (06h00 e 17h00). A quantidade de concentrado (composição: 40,4% de soja, 56,6% milho e 3% do mesmo sal mineral citado acima) oferecida diariamente foi calculada através do programa Spartan Dairy Ration Evaluator/Balancer (version 3.0; Michigan State University, East Lansing, MI) de acordo com o tratamento, produção de leite, composição do leite, peso vivo, ECC, dias pós parto e ordem de lactação. Amostras de silagem de milho e concentrado oferecidos aos animais foram coletadas duas vezes por mês, agrupadas em uma amostra e levados para análise bromatológica (3r lab – Belo Horizonte – MG). Cálculos de Energia Metabolizável (EM), Energia Líquida para Lactação (ELI) e Energia líquida para Manutenção (ELm) foram calculados através das equações proposta pelo NRC (2001). Os valores nutritivos encontrados através da matéria seca foram: 53% FDN, 33% CNF, 2,24 mCal/kg de EM, 1,39 mCal/kg de ELI, 1,39 mCal/kg de ELm e 8,1% de Proteína

Bruta (PB) para a silagem de milho e 12% FDN, 52% CNF, 3,45 mCal/kg de EM, 2,24 mCal/kg de ELI, 2,24 mCal/kg de Elm e 28,5% de PB para o concentrado. As dietas dos animais foram avaliadas semanalmente e reformuladas quando necessário.

Do d-15 ao d0 os animais dos grupos BPSC e BPCC passaram por período de adaptação recebendo uma dieta para atender 120 e 100% dos requerimentos para manutenção e lactação, respectivamente. Do d1 ao d210 os animais do grupo BPSC e BPCC passaram a receber as dietas experimentais citadas acima.

No d0 do experimento os animais do grupo BPCC receberam 2,5g de KemTRACE™ (Propionato de Cromo 0,4%) misturado em 97,5g de fubá de milho/animal/dia, enquanto o grupo CON e o grupo BPSC receberam 100g de fubá de milho/animal/dia, que foi misturado na ração antes do fornecimento do primeiro concentrado. Os animais tiveram a produção leiteira aferida uma vez por semana, para ajuste do arraçamento.

## **2.2. Peso corporal e ECC**

Os animais foram pesados uma vez por semana (Balanças Coimma km3 - detecção de 2 kg de resíduos - COIMMA Comércio e Indústria de Madeiras e Metalúrgica São Cristóvão LTDA – Dracena – SP). O ECC foi avaliado quinzenalmente segundo Wildman et al. (1982).

## **2.3. Colheita de sangue**

Uma vez por semana amostras de sangue dos animais foram colhidas à 0h (antes da suplementação), 2 e 4 horas após o início da suplementação. O sangue foi colhido da veia coccígea, em tubos tipo Vacutainer sem anticoagulante (10 ml; Becton Dickinson,

Franklin Lakes, NJ, EUA). Imediatamente após a colheita, os tubos foram centrifugados a 1,800 x g por 30 minutos. O soro extraído foi acondicionado em frascos *ependorfs* e congelado a -20°C até o momento das análises laboratoriais.

#### **2.4. Testes de tolerância a Glicose**

Os TTG (n = 6) foram realizados no d-2 e a cada 42 dias durante o experimento. O tempo de infusão foi de  $10 \pm 0,7$  minutos. As infusões de glicose foram realizadas pela veia jugular esquerda. Amostras sanguíneas foram colhidas aos -15, 0 (antes da infusão), 10, 20, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos após o início da infusão de 0,5g de glicose/ kg de peso corporal (PC) (Solução fisiológica com 50% de glicose, GLICOCALBOS 50% - Calbos - Saúde Animal – Curitiba - Paraná). As vacas foram submetidas a jejum de 12 horas antes e durante o TTG. Amostras sanguíneas foram analisadas para determinar as concentrações séricas de glicose, insulina e AGNE. Taxas de desaparecimento de glicose, concentração do pico de insulina e a área sob a curva (ASC) foram avaliadas. A taxa de desaparecimento de glicose foi determinada pela cinética de primeira ordem utilizando o modelo  $G_t = G_0 \cdot e^{-tCR}$ .

#### **2.5. Desempenho reprodutivo**

Foram realizadas aspirações foliculares no d0 e a cada 42 dias para determinação da produção e qualidade dos oócitos e produção de embriões in vitro. Todos esses procedimentos foram realizados pela empresa comercial IN VITRO (Rod. SP 340 - KM 166, Mogi Mirim – SP). Os animais foram aspirados em dias aleatórios do ciclo estral. Para aspiração folicular foi realizada anestesia peridural entre a primeira e a segunda vértebra coccígea (Lidocaína 2% sem vaso constritor). O sistema de aspiração foi o de

mangueira rígida fornecida pela Tecnoflon Brasflon®, Diadema-SP. Utilizou-se rolha de alumínio fabricada e comercializada pela Watanabe Tecnologia Aplicada (WTA®), Cravinhos-SP. A Agulha utilizada para a aspiração foi a TERUMO®, Leuven, Bélgica, de 0,9 x 50 mm (20 G). Utilizou-se bomba de vácuo WTA®, modelo BV-003i, com pressão de vácuo de 75 mmHg. O ultrassom era da marca Mindray, modelo DP 2200 VET com transdutor micro-convexo multifrequencial (6.0, 8,0 e 10.0 MHz). Para a seleção e classificação dos oócitos foram utilizadas placas de petri 90 x 15mm da marca Alamar Tecno Científico LTDA.

As variáveis mensuradas em relação aos oócitos aspirados foram número total de oócitos recuperados, oócitos de grau I, II e III, número de oócitos viáveis, degenerados e atresícos, como descrito por Gandra (2012). Mais especificamente, os oócitos receberam classificação de acordo com as características morfológicas que apresentarem no momento da manipulação: Grau I: citoplasma homogêneo, zona pelúcida íntegra e três ou mais camadas de células do *cumulus ooforus* ao redor; Grau II: citoplasma homogêneo, zona pelúcida íntegra e duas camadas de células do *cumulus ooforus* ao redor; Grau III: citoplasma homogêneo, zona pelúcida íntegra e uma camada de células do *cumulus ooforus* ao redor. A soma de graus I, II e III constitui os viáveis por terem maiores chances de serem fecundados e formar um embrião. Além dessas classificações, avaliou-se os: a) oócitos desnudos: citoplasma homogêneo, zona pelúcida íntegra e sem células do *cumulus ooforus* ao redor, b) oócitos com citoplasma irregular: citoplasma irregular e zona pelúcida não íntegra, independente das células ao redor. Os oócitos que não tiveram chance de formar embrião foram classificados em degenerados ou atresícos, sendo os degenerados aqueles com conteúdo do citoplasma ausente ou quase ausente; e os atresícos aqueles em que as células do *cumulus* estão

expandidas (fora da sua posição original) e com citoplasma também irregular. Oócitos degenerados e atresícos foram descartados.

Como mencionado, todos os oócitos coletados (a não ser os degenerados e atresícos) foram utilizados para fertilização *in vitro*. Todos os oócitos foram fertilizados com sêmen do mesmo touro, de acordo com os procedimentos descritos por Gandra (2012). Para avaliação da qualidade dos embriões resultantes foram avaliados o número e a porcentagem de embriões clivados e viáveis, como descrito por Gandra (2012).

## **2.6. Análises Laboratoriais**

**Glicose.** Determinado usando o kit quantitativo colorimétrico (#G7521; Pointe Scientific, Inc., Canton, MI, EUA) na Oregon State University – EOARC (Burns, OR, EUA).

**Insulina.** Determinado usando o kit Coat-A-Count (DPC Diagnostic Products Inc., Los Angeles, CA) fase sólida  $^{125}\text{I}$  RIA de acordo com Moriel et al., (2008) na Oregon State University – EOARC (Burns, OR, EUA).

**AGNE.** Determinado usando o kit enzimático colorimétrico (HR Series NEFA-2; Wako Pure Chemical Industries Ltd. USA, Richmond, VA, EUA) com modificações descritas por Pescara et al. (2010) na Oregon State University – EOARC (Burns, OR, EUA).

Os coeficientes de variação (CV) nas placas e entre as placas foram respectivamente, 2,1 e 4,6% para glicose, 5,3 e 7,1% para insulina e 1,9 e 3,8 para AGNE.

## 2.7. RQUICKI

**RQUICK.** "Revised Quantitative Insulin Sensitivity Check Index" (RQUICKI) foi calculado com base nas concentrações plasmáticas basais de glicose em mg /DL (G), insulina em  $\mu$ UI/ml (I) e ácidos graxos não esterificados em mmol/l (AGNE). A fórmula foi descrita por Perseghin et al. (2001) da seguinte maneira:  $RQUICKI = 1 / [\log (G) + \log (I) + \log (AGNE)]$ . Valores baixos indicam sensibilidade a insulina diminuída, ou resistência a insulina.

## 2.8. Análises Estatísticas

Os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst., Inc., versão 9.3) com aproximação Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador para os testes de efeitos fixos. O modelo estatístico usado para análise de mudança de PC e ECC, para PC e ECC inicial e final continham os efeitos de tratamento, paridade e interações resultantes. O modelo estatístico usado para análise semanais de PC, ECC, produção de leite, AGNE e RQUICKI continham efeitos de tratamento, ordem, dia, e as interações resultantes. O modelo estatístico usado para análise sérica de glicose, insulina e I:G continham efeitos de tratamento, ordem, horário da colheita e dia, e as interações resultantes. O modelo estatístico usado para análise de produção de oócitos, embriões e proporção de embriões/oócitos continham efeitos de tratamento, dias da aspiração folicular (d 42, 84, 126, 168 e d 210), ordem e todas as interações resultantes, o d0 foi utilizado como co-variável independente. O modelo estatístico usado para análise de glicose e insulina séricas e IG obtidos durante o TTG continham efeitos de tratamento, dias do TTG (d 40, 82, 124, 166 e d 208), minutos relativo às colheitas, ordem e todas as interações resultantes, o d-2 foi utilizado como co-variável independente. O modelo usado para determinar área sob a curva para as



concentrações de glicose e insulina, taxa de desaparecimento de glicose e tempo de meia vida de glicose continham efeitos de tratamentos, dia do TTG, ordem e todas as interações resultantes, os valores obtidos no d0 foram utilizados como co-variáveis independente. O termo específico para as medidas repetidas foi dia para colheitas semanais e índices reprodutivos e minutos para o TTG. A estrutura de covariância utilizada foi simetria composta, que forneceu o melhor ajuste para estas análises de acordo com o critério de informação de Akaike. Os resultados são apresentados como médias dos quadrados mínimos e separados utilizando PDIFF. Todos os dados foram analisados usando vaca (tratamento nutricional) como variável aleatória. A significância foi estabelecida como  $P \leq 0,05$  e tendências são declaradas se  $P > 0,05$  e  $\leq 0,10$ . Os resultados são apresentados de acordo com os efeitos do tratamento, se não houver interações significativas ou de acordo com a maior ordem de interação detectada.

### **3. Resultados e Discussão**

Durante o período experimental não houve diferença ( $P = 0,74$ ) na alteração do PC por tratamentos (Tabela 1). PC inicial e final foram semelhantes ( $P \geq 0,25$ ) entre os tratamentos (Tabela 1). Esses resultados foram inesperados já que animais do grupo BPSC e BPCC receberam 160% dos requerimentos de manutenção e 100% dos requerimentos de produção (NRC, 2001), o que deveria refletir em maior ganho de PC para os animais destes grupos, porém, PC pode não ser uma medida precisa para vacas leiteiras, devido à grande variação de consumo de água e alimento, tornando assim o ECC uma medida mais precisa por proporcionar uma mensuração mais exata de crescimento muscular e adiposo (West et al., 1990; Moallem et al., 2000). Não houve efeito ( $P = 0,92$ ) de tratamento na produção de leite (Tabela 1). Isto provavelmente ocorreu pois as dietas de todos os grupos experimentais foram formuladas para atender

100% das exigências de produção (NRC 2001), diferindo apenas na suplementação adicional de energia de manutenção, o que justifica que em nosso estudo animais do grupo BPSC e BPCC tiveram maiores ( $P = 0,02$ ) ganhos de ECC quando comparados aos animais do grupo CON (Tabela 1), devido a maior ingestão de energia nestes grupos.

**Tabela 1.** PC, ECC e produção de leite, do d0 ao d 210 do experimento em vacas lactantes recebendo dietas visando atender os requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=6), dietas com excesso de energia, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%)<sup>1</sup>.

Item	CON	BPSC	BPCC	EPM	Valor de P
<b>Peso Corporal, Kg</b>					
PC Inicial (d0), Kg	508	566	527	30	0,41
PC Final (d210), kg	538	611	571	28	0,25
Alteração de PC, Kg	30,6	45,1	44,1	14,2	0,74
<b>ECC<sup>2</sup></b>					
ECC Inicial (d0)	3,22	3,00	3,04	0,17	0,64
ECC Final (d210)	3,48	3,58	3,87	0,24	0,51
Alteração de ECC	0,25b	0,58a	0,83a	0,12	0,02
Produção de Leite, Kg/dia	19,5	20,8	19,7	2,6	0,92

<sup>a,b</sup> médias com diferentes sobrescritos diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup> durante o período experimental (d0 ao d210), vacas CON receberam dieta visando atender 100% dos requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo (n=5); 2) BPSC: dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, sem suplementação de cromo (n=6) e 3) BPCC: dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, com suplementação de cromo (n=6; 2,5g de KemTRACE™ Propionato de Cromo 0,4% - Kemin Industries, Inc, misturado em 97,5g de fubá de milho/animal/dia).

<sup>2</sup> Segundo normas de Wildman et al. (1982).

Durante as colheitas semanais não foram encontradas diferenças ( $P = 0,80$ ) entre as concentrações de glicose (Tabela 2). Isto provavelmente ocorreu devido animais em

lactação direcionam a glicose para a síntese de lactose na glândula mamária (Hayirli, 2006), mantendo constantes as concentrações séricas de glicose.

Interação tratamento x dia x ordem foi detectada ( $P < 0,01$ ) nas concentrações de insulina para primíparas (Figura 1) e multíparas (Figura 2) durante as colheitas semanais. Em primíparas houve aumento nas concentrações de insulina para o grupo BPSC e BPCC a partir do d175 do estudo, já em multíparas do grupo BPSC o aumento de insulina foi observado antecipadamente (d28). Uma possível justificativa é que as primíparas tiveram maior ganho de peso ( $P < 0,05$ ) durante o período experimental (primíparas 0,315 Kg/dia e multíparas 0,082 Kg/dia). O sistema endócrino de primíparas limita a partição de nutrientes para a síntese do leite devido demanda de nutrientes para o crescimento corporal (Wathes et al., 2007).

A adição de cromo atrasou o aparecimento do quadro de resistência à insulina nas multíparas (Figura 2) provavelmente devido a capacidade do cromo em facilitar a interação da insulina com seus receptores alvos (Mertz, 1974), potencializando a ação da insulina (Vincent et al., 2000; 2001), o que foi observado por outros autores (Subiyatno et al., 1996; Yang et al., 1996; Bryan et al., 2004).

**Tabela 2.** Concentrações séricas de hormônios, metabolitos e RQUICKI ("*Revised Quantitative Insulin Sensitivity Check Index*"), do d0 ao d 210 do experimento em vacas lactantes recebendo dietas visando atender os requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=6), dietas com excesso de energia, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%)<sup>1</sup>.

Item	CON	BPSC	BPCC	EPM	Valor de P
<b>Coletas Semanais<sup>2</sup></b>					
Concentrações de Glicose, mg/dL	63,2	61,2	61,6	2,1	0,80
Concentrações de AGNE, mmol/L	0,176 <sup>b</sup>	0,143 <sup>a</sup>	0,154 <sup>a</sup>	0,008	0,04
RQUICKI	0,667	0,628	0,706	0,065	0,68
<b>TTG<sup>3</sup></b>					
Concentração de Glicose, mg/dL	160,7	146,9	159,1	9,3	0,53
Glicose – área sob a curva, mg/dL.min	19,27	17,33	19,41	1,335	0,47
Insulina – área sob a curva, $\mu$ UI/mL.min	4,389 <sup>b</sup>	6,426 <sup>a</sup>	5,391 <sup>ab</sup>	496	0,04
Taxa de clearance de glicose, %/min	1,111	1,205	1,007	0,094	0,34
Tempo de meia vida da glicose, min	69,0	60,9	74,9	7,3	0,68

<sup>a,b</sup> médias com diferentes sobrescritos diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

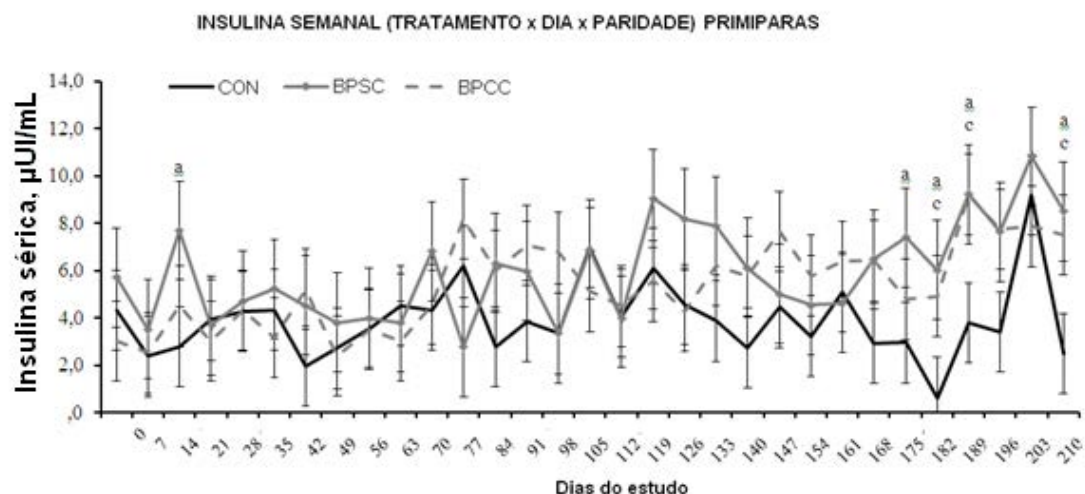
<sup>1</sup> durante o período experimental (d0 ao d210), vacas CON receberam dieta visando atender 100% dos requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo (n=5); 2) BPSC: dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, sem suplementação de cromo (n=6) e 3) BPCC: dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, com suplementação de cromo (n=6; 2,5g de KemTRACE<sup>TM</sup> Propionato de Cromo 0,4% - Kemin Industries, Inc, misturado em 97,5g de fubá de milho/animal/dia).

<sup>2</sup> Amostras de sangue coletadas imediatamente antes (0h), 2h e 4h após o fornecimento do concentrado (0600h) uma vez por semana (domingo) durante o experimento para determinação das concentrações séricas de glicose, insulina e AGNE (0h apenas).

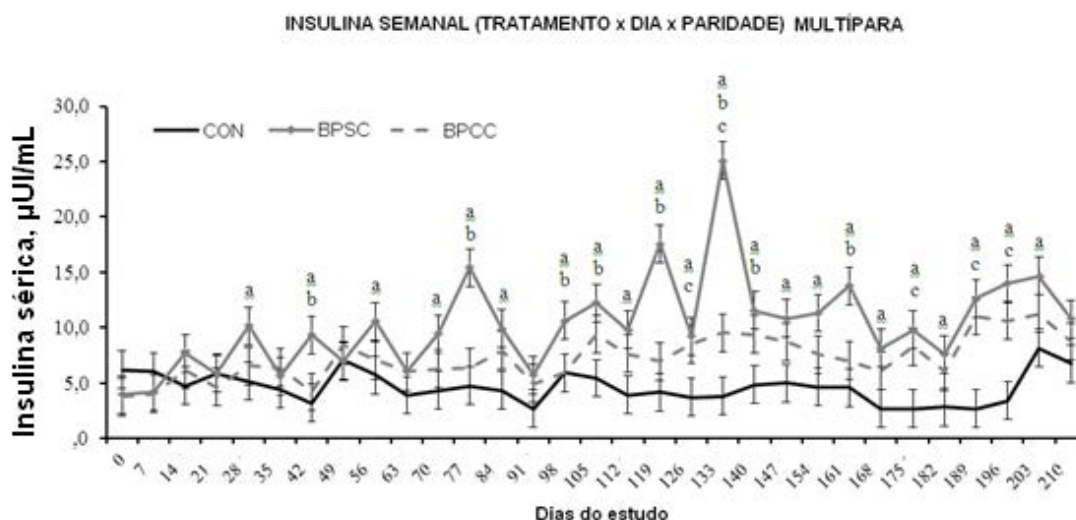
<sup>3</sup> Teste de Tolerância a Glicose (TTG) no d42, 84, 126, 168 e 210 do estudo, com infusão intravenosa de 0,5 gramas de glicose/kg de PC. Amostras de sangue foram coletadas -15, 0, 10, 20, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos relativo à infusão, para a determinação das concentrações séricas de glicose e insulina. Área sob a curva para glicose e insulina foram calculadas através do método trapezoidal (Shiang, 2004). Taxa de desaparecimento de glicose e tempo de meia vida foram calculados pelas equações descritas por Bernhard et al., (2012).

Animais do grupo BPSC e BPCC apresentaram menores ( $P = 0,04$ ) concentrações de AGNE quando comparados ao grupo CON (Tabela 2), o que pode estar associado a menor ingestão de energia deste grupo, em que a dieta foi oferecida

para 100% dos requisitos das exigências da lactação, e pequena alteração na ingestão de matéria seca (IMS) pode alterar os níveis de AGNE circulantes (Barros, 2001; Grummer, 2008; Rizzos et al., 2008; Loiselle et al., 2009).

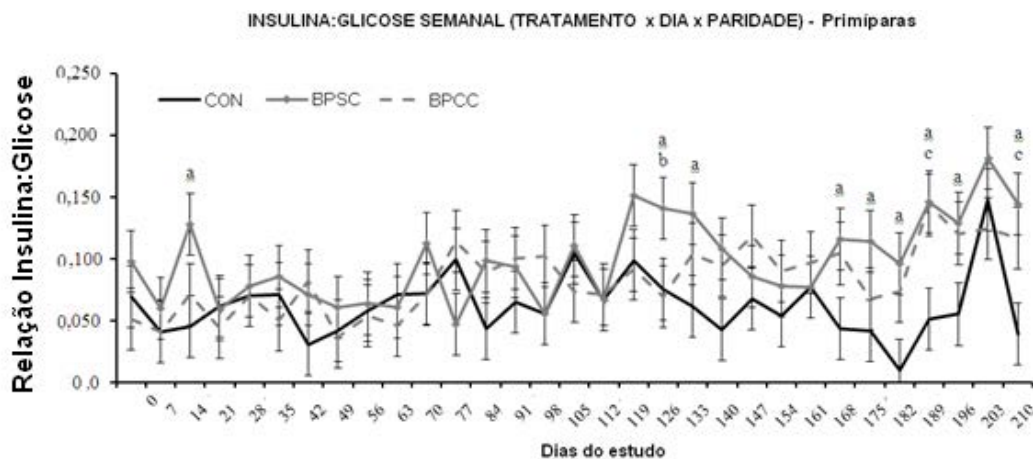


**Figura 1.** Concentrações séricas de insulina do d0 ao d210 do experimento em vacas primíparas lactantes recebendo dietas visando atender os requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dietas com excesso de energia, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%). Interação foi detectada tratamento x dia x paridade ( $P < 0,01$ ). Dentro de dias, letras indicam diferenças entre tratamentos ( $P < 0,05$ ), sendo que a = BPS vs. CON, b = BPS vs. BPCC, c = BPCC vs. CON.

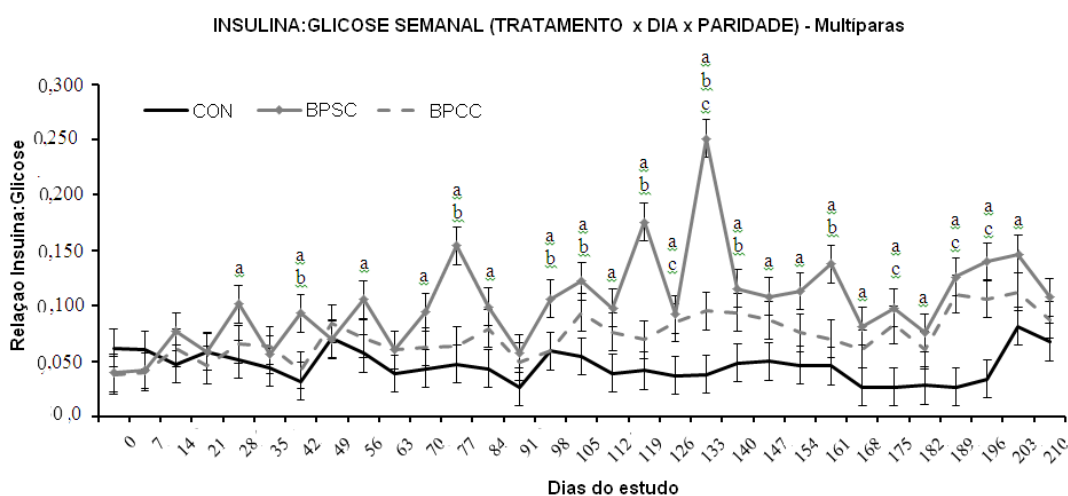


**Figura 2.** Concentrações séricas de insulina do d0 ao d210 do experimento em vacas multíparas lactantes recebendo dietas visando atender os requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dietas com excesso de energia, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%). Interação foi detectada tratamento x dia x paridade ( $P < 0,01$ ). Dentro de dias, letras indicam diferenças entre tratamentos ( $P < 0,05$ ), sendo que a = BPS vs. CON, b = BPS vs. BPCC, c = BPCC vs. CON.

Interação ( $P < 0,01$ ) entre a relação insulina:glicose durante as colheitas semanais foram encontradas para primíparas e multíparas (Figura 3 e 4 respectivamente). Esses dados sugerem que vacas do BPSC secretaram mais insulina em relação aos grupos CON e BPCC para captar as mesmas concentrações de glicose, porém vacas primíparas do grupo BPSC demonstraram indicadores de resistência a insulina mais tardiamente (d126) em relação às multíparas (d28). Relação insulina:glicose parece ser um bom parâmetro para determinar resistência a insulina em vacas lactantes (Subiyatno et al. 1996) e não lactantes (Leiva et al. 2013).



**Figura 3.** Relação insulina:glicose do d0 ao d210 do experimento em vacas primíparas lactantes recebendo dietas visando atender os requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dietas com excesso de energia, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%). Interação foi detectada tratamento x dia x paridade ( $P < 0,01$ ). Dentro de dias, letras indicam diferenças entre tratamentos ( $P < 0,05$ ), sendo que a = BPS vs. CON, b = BPS vs. BPCC, c = BPCC vs. CON.



**Figura 4.** Relação insulina:glicose do d0 ao d210 do experimento em vacas múltiparas lactantes recebendo dietas visando atender os requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dietas com excesso de energia, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%). Interação foi detectada tratamento x dia x paridade ( $P < 0,01$ ). Dentro de dias, letras indicam diferenças entre tratamentos ( $P < 0,05$ ), sendo que a = BPS vs. CON, b = BPS vs. BPCC, c = BPCC vs. CON.

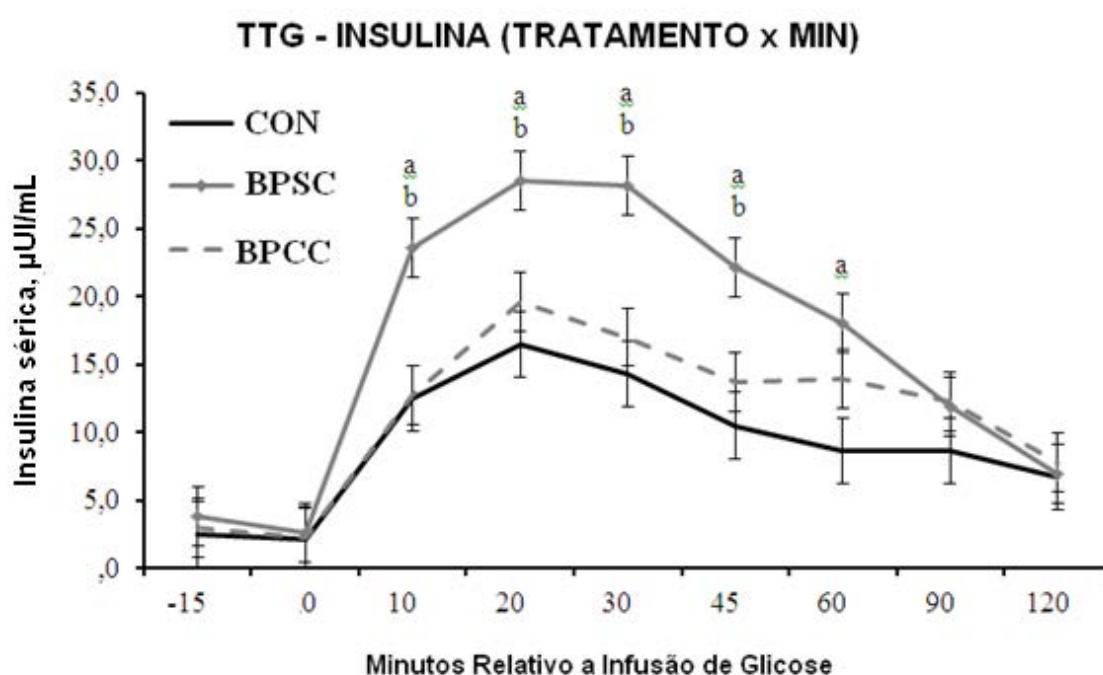
Não foram encontradas diferenças entre as variáveis analisadas durante o TTG no d0 do estudo (glicose  $P = 0,41$ ; insulina  $P = 0,57$ ; insulina:glicose  $P = 0,60$ ; área sob a curva de glicose  $P = 0,41$ ; área sob a curva de insulina  $P = 0,58$ ; tempo de meia vida de glicose  $P = 0,68$  e taxa de desaparecimento de glicose  $P = 0,60$ ).

Não houve ( $P = 0,54$ ) diferenças nas concentrações de glicose durante os TTG por tratamento e tempo. Vacas do grupo BPSC apresentaram maiores concentrações de insulina que vacas do grupo CON, e animais do grupo BPCC apresentaram concentrações similares aos grupos BPSC e CON ( $P = 0,04$ , EPM = 496) (Tabela 2). Interação tratamento x tempo ( $P < 0,01$ ) foi detectada para concentrações de insulina e relação insulina:glicose (Figura 5 e 6 respectivamente), animais do grupo BPSC apresentaram maiores concentrações de insulina 10 min após o início da infusão até 45 min pós-infusão em comparação aos grupos CON e BPCC. A relação insulina:glicose nos animais do grupo BPSC foi maior entre 10 a 60 min pós infusão de glicose quando comparados com animais do grupo CON e BPCC mostrando que o consumo de propionato de cromo foi capaz de atenuar a resistência à insulina, o que está de acordo com outros estudos que também mostraram que a suplementação com cromo pode aumentar a eficiência da utilização de glicose em bovinos (Chang and Mowat, 1992; Mowat et al., 1993), melhorando a sensibilidade à insulina e o metabolismo de glicose (Subiyatno et al., 1996; Hayirli et al., 2001). Leiva et al., 2014, também observaram que vacas recebendo dietas ricas em energia apresentaram quadro de resistência a insulina e propionato de cromo foi capaz de atenuar este quadro.

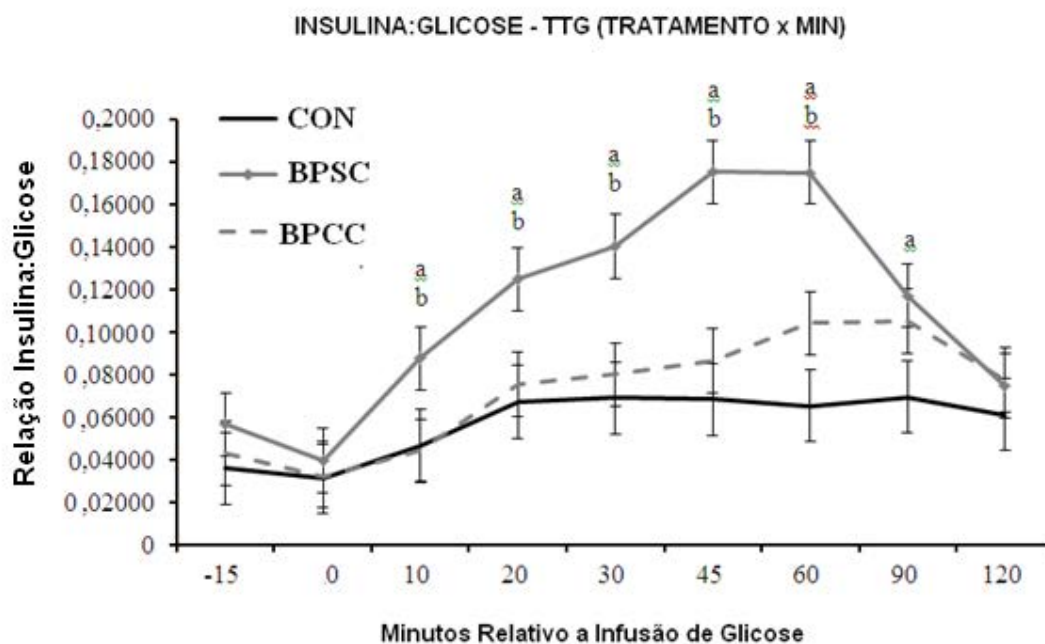
Leiva et al., 2014, observaram que o índice RQUICKI é um bom parâmetro para determinar resistência à insulina em vacas não lactantes. Neste estudo com vacas em lactação não foi detectado efeito ( $P = 0,68$ ) de tratamento no índice RQUICKI (Tabela 2). O índice RQUICKI é influenciado pelas concentrações de glicose, insulina e AGNE.



A não capacidade de o índice RQUICKI detectar o quadro de resistência à insulina em vacas em lactação pode ser devido a alteração nas concentrações de AGNE (menor para os grupos BPSC e BPCC) e glicose (semelhante entre os tratamentos) o que fez com que animais do BPSC (maior insulina) não diferissem dos animais do grupo BPCC e CON.



**Figura 5.** Concentrações séricas de insulina após a realização do TTG (Teste de Tolerância a Glicose) do d0 ao d210 do experimento em vacas multíparas lactantes recebendo dietas visando atender os requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dietas com excesso de energia, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%). Interação foi detectada tratamento x dia x paridade ( $P < 0,01$ ). Dentro de dias, letras indicam diferenças entre tratamentos ( $P < 0,05$ ), sendo que a = BPS vs. CON, b = BPS vs. BPCC, c = BPCC vs. CON.



**Figura 6.** Relação insulina:glicose após a realização do TTG (Teste de Tolerância a Glicose) do d0 ao d210 do experimento em vacas múltiparas lactantes recebendo dietas visando atender os requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=5), dietas com excesso de energia, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%). Interação foi detectada tratamento x dia x paridade ( $P < 0,01$ ). Dentro de dias, letras indicam diferenças entre tratamentos ( $P < 0,05$ ), sendo que a = BPS vs. CON, b = BPS vs. BPCC, c = BPCC vs. CON.

No presente estudo realizaram-se aspirações foliculares para tentar identificar os possíveis impactos da resistência à insulina e da suplementação de propionato de cromo na produção de oócitos e embriões. Múltiparas do grupo BPCC tiveram maior ( $P = 0,03$ ) produção de oócitos em relação aos grupos BPSC e CON, mas não houve efeito ( $P > 0,1$ ) de tratamento para produção de embriões e proporção de oócitos/embrião produzido (Tabela 3), porém, mais estudos são necessários para entender os possíveis mecanismos pelos quais a resistência à insulina e a suplementação com propionato de cromo pode afetar a produção e a qualidade de oócitos e embriões.

**Tabela 3.** Produção de oócitos, embriões e proporção oócito/embrião produzido, do d0 ao d 210 do experimento em vacas lactantes recebendo dietas visando atender os requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo CON (n=6), dietas com excesso de energia, sem suplementação de cromo BPSC (n=6) e com suplementação de cromo BPCC (n=6; 2,5g Propionato de Cromo 0,4%).

Item	CON	BPSC	BPCC	EPM	Valor de P
Oócito/coleta, n°					
Primíparas	11,6	9,5	5,5	4,1	0,62
Multíparas	6,1 <sup>a</sup>	3,1 <sup>a</sup>	19,1 <sup>b</sup>	3,7	0,03
Embrião produzido/coleta, n°	2,2	3,1	5,5	1,6	0,33
Proporção de embrião/oócito produzido %	29,1	16,6	21,9	6,1	0,46

<sup>a,b</sup> médias com diferentes sobrescritos diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup> durante o período experimental (d0 ao d210), vacas CON receberam dieta visando atender 100% dos requerimentos de manutenção e lactação, sem suplementação de cromo (n=5); 2) BPSC: dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, sem suplementação de cromo (n=6) e 3) BPCC: dieta visando atender 100% do requerimento de lactação e 160% do requerimento de manutenção, com suplementação de cromo (n=6; 2,5g de KemTRACETM Propionato de Cromo 0,4% - Kemin Industries, Inc, misturado em 97,5g de fubá de milho/animal/dia).

#### 4. Conclusões

Vacas de leite recebendo dietas com maior densidade energética apresentaram antecipação do quadro de resistência à insulina, sendo que multíparas apresentaram quadro de resistência à insulina antes das primíparas. O cromo foi capaz de minimizar o quadro de resistência à insulina em vacas recebendo dietas de alta densidade energética.

O índice RIQUIKI não foi capaz de detectar quadro de resistência à insulina em vacas em lactação, porém o índice I:G e o TTG permitiram detectar vacas lactantes que apresentaram esse quadro.

Multíparas consumindo propionato de cromo tiveram maior produção de oócitos.

## 5. Referências Bibliográficas

AL-TRAD, B; REISBERG, K; WITTEK, T; PENNER, G. B; ALKAASSEM, A; GÄBEL, G; FÜRLI, M; ASCHENBACH, J. R. **Increasing intravenous infusions of glucose improve body condition but not lactation performance in mid-lactation dairy cows.** J. Dairy Sci. 92:5645–5658, 2009.

ANDERSON, R. A.; BRYDEN, N. A.; POLANSKY, M. M.; MOSER, P. B. **Exercise effects on chromium excretion of trained and untrained men consuming a Constant diet.** Journal of Applied Physiology 64, 249, 1988.

ADAMIAK, S. J., K. MACKIE, R. G. WATT, R. WEBB, AND K. D. SINCLAIR. **Impact of nutrition on oocyte quality: cumulative effects of body composition and diet leading to hyperinsulinemia in cattle.** Biol. Reprod. 73:918-926, 2005

ADAMIAK, S. J., POWELL, K., ROOKE, J. A. , WEBB, R. & SINCLAIR, K. D. **Body composition, dietary carbohydrates and fatty acids determine postfertilisation development of bovine oocytes in vitro.** Reproduction 131:247–258, 2006.

BARROS, L. **Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite.** Porto Alegre, Brasil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 44-55, 2001.

BAUMAN, D. E. & ELLIOT, J. M. **Control of nutrient partitioning in lactating ruminants.** In T. B. Mepham (ed.), *Biochemistry of Lactation*, Elsevier, Amsterdam, pp. 437-468, 1983.

BERNHARD, B. C., N. C. BURDICK, R. J. RATHMANN, J. A. CARROLL, D. N. FINCK, M. A. JENNINGS, T. R. YOUNG, AND B. J. JOHNSON. **Chromium supplementation alters both glucose and lipid metabolism in feedlot cattle during the receiving period.** *J. Anim. Sci.* 90:4857–4865, 2012.

BRYAN, M. A; SOCHA, M. T; TOMLINSON, D. J. **Supplementing intensively grazed late-gestation and earlylactation dairy cattle with chromium.** *J. Dairy Science*, 87, 4269–4277, 2004.

CHANG, X., AND D. N. MOWAT. **Supplemental chromium for stressed and growing feeder calves.** *J. Anim. Sci.* 70:559-565, 1992.

CRONJÉ, P. B. **Nutrient-gene interactions: future potential and applications.** In: **Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction.** Ed. Cronjé, P.B., CAB International, Wallingford, UK. pp. 409-422, 2000.

FELBER, J. P & GOLAY, A. **Regulation of nutrient metabolism and energy expenditure.** Metabolism. 44:4-9, 1995.

FOULADI-NASHTA, A. A., GUTIERREZ, C. G., GARNSWORTHY P. C. AND WEBB R. **Effects of dietary carbohydrates on oocyte/embryo quality and development in lactating dairy cattle.** Society for the Study of Reproduction Annual Conference, 2005.

GANDRA, J. R. **Fontes de ácidos graxos  $\omega$  3 e  $\omega$  6 em dietas de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação.** Tese de mestrado, USP-FMVZ, Pirassununga, 2012.

GOLAY, A; FELBER, J. P; MEYER, H. U; CURCHOD, B; MAEDER, E; JÉQUIER, E. **Study on lipid metabolism in obesity diabetes.** Metabolism, 33:111-6, 1984.

GONÇALVES, L. C; BORGES, I; FERREIRA, P. D. S. **Alimentação para gado de leite.** Belo Horizonte: FEPMVZ, 2009.

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

HAYIRLI, A., D. R. BREMMER, S. J. BERTICS, M. T. SOCHA, AND R. R. GRUMMER. **Effect of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 84:1218–1230, 2001.

HAYIRLI, A. **The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle.** *Vet Res Commun* 30:749-774, 2006.

HEGARTY, B; COONEY, G. J; KRAEGEN, E. W; FURLER, S. M. **Increased Efficiency of Fatty Acid Uptake Contributes to Lipid Accumulation in Skeletal Muscle of High Fat-Fed Insulin-Resistant Rats.** *Diabetes*, 51:1477-84, 2002.

LEIVA, T., COOKE, R. F., ABOIN, A.C., DRAGO, F. L., GENNARI, R., and VASCONCELOS, J.L.M. **Effects of excessive energy intake and supplementation with chromium propionate on insulin resistance parameters in non-lactating dairy cows.** *J. Anima Sci* 92:775-782, 2014.

LOISELLE, M. C.; STER, C.; TALBOT, B. G.; ZHAO, X. WAGNER, G. F.; BOISCLAIR, Y. R.; LACASSET, P. **Impact of postpartum milking frequency on the immune system and the blood metabolite concentration of dairy cows.** *Journal of Dairy Science*, v. 92, p. 1900-1912, 2009.

LUCY, M. C. **Glicose sanguínea em ruminantes: Um metabólito crítico para a reprodução de vacas em lactação.** Trabalho apresentado em XVI Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, Uberlandia, MG, Brasil, 2011.

MCCANN, J. P; ULLMANN, M. B; TEMPLE, M. R; REIMERS, T. J; AND BERGMAN, E. N.. **Insulin and glucose responses to glucose injection in fed and fasted obese and lean sheep.** J. Nutr. 116:1287–1297, 1986 (a).

MCCANN, J. P; REIMERS, T. J. **Effects of obesity on insulin and Glucose Metabolism in Cyclic Heifers.** J. Anim. Sci. 62: 772-782, 1986(b).

MERTZ, W. **Chromium as dietary essential for man. In: HOESKTRA, W. G. Trace elements metabolism in animals.** Baltimore: University Park Press, p. 185-198, 1974.

MERTZ, W. **Chromium: History and nutritional importance.** Biol. Trace Elem. Res. 32:3-8, 1992.

MOALLEM, U., Y. FOLMAN, AND D. SKLAN. **Effects of somatotropin and dietary calcium soaps of fatty acids in early lactation on milk production, dry matter intake and energy balance of high-yielding dairy cows.** J. Dairy Sci. 83:2085–2094, 2000.



MOWAT, D. N., X. CHANG, AND W. Z. YANG. **Chelated chromium for stressed feeder calves.** *Can. J. Anim. Sci.* 73:49-55, 1993.

NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** Natl. Acad. Sci, Washington, DC, 2001.

OAKES, N. D; COONEY, G. J; CAMILLERI, S; CHISHOLM, D. J, KRAEGEN, E. W. **Mechanisms of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding.** *Diabetes.* 46:1768-74, 1997.

OWENS, F. N; ZINN, R. A; AND KIM, Y. K. **Limits to starch digestion in the ruminant small intestine.** *J. Anim. Sci.* 63:1634, 1986.

PAN, D. D; LILLIOJA, S; KRIKETOS, A. D; MILNER, M. R; BAUR, L. A; BOGARDUS, C. **Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action.** *Diabetes.* 46:983-8, 1997.

PERSEGHIN, G., A. CAUMO, M. CALONI, G. TESTOLIN, AND L. LUZI. **Incorporation of the fasting plasma FFA concentration into QUICKI improves its association with insulin sensibility in nonobese individuals.** *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86:4776–4781, 2001.

PETTERSON, J. A., SLEPETIS, R., EHRHARDT, R. A., DUNSHEA, F. R., AND BELL, A. W. **Pregnancy but not moderate undernutrition attenuates insulin suppression of fat mobilization in sheep.** J. Nutr. 124:2431-2442, 1994.

PIRES, J. A. A., A. H., SOUZA, AND R. R. GRUMMER. **Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows.** J. Dairy Sci. 90:2735-2744, 2007.

RIZZOS, D.; KENNY, D.A.; GRIFFIN, W.; QUINN, K. M.; DUFFY, P.; MULLIGAN, F. J.; ROCHE, J. F.; BOLAND, M. P.; LONERGAN, P. **The effect of feeding Propylene glycol to dairy cows during the early postpartum period on follicular dynamics and on metabolic parameters related to fertility.** Theriogenology, v. 69, p. 688–699, 2008.

SANTOS, J. E. P; SÁ FILHO, M. F. **Nutrição e reprodução em bovinos. Biotecnologias da Reprodução em Bovinos.** (2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada), Londrina, p. 30-54, 2006.

SHIANG, K. D. 2004. **The SAS calculations of areas under the curve(AUC) for multiple metabolic readings.**

[http://www.lexjansen.com/wuss/2004/posters/c\\_post\\_the\\_sas\\_calculations\\_.pdf](http://www.lexjansen.com/wuss/2004/posters/c_post_the_sas_calculations_.pdf).

Accessed June 1, 2013.

SINCLAIR, K. D. **Declining fertility, insulin resistance and fatty acid metabolism in dairy cows: Developmental consequences for the oocyte and pre-implantation embryo.** *Acta Scientiae Veterinariae*. 38:s545-s557, 2010.

SUBIYATNO, A., D. N. MOWAT, AND W. Z. YANG. **Metabolite and hormonal responses to glucose or propionate infusions in periparturient dairy cows supplemented with chromium.** *J. Dairy Sci.* 79:1436–1445, 1996.

VAN SAUN, R. J. AND SNIFFEN, C. J. **Nutritional management of the pregnant dairy cow to optimize health, lactation and reproductive performance.** *Anim. Feed. Tech. Sci.* 59:13-26, 1996.

VINCENT, J. B. **The biochemistry of chromium.** *J. Nutr.* 130:715–718, 2000.

VINCENT, J. B. **The bio-inorganic chemistry of chromium (III).** *Polyhedron* 20:1–26, 2001.

ZIERATH, J. R; HOUSEKNECHT, K. L; GNUDI, L; KAHN, B. B. **High-fat feeding impairs insulin-stimulated GLUT-4 recruitment via an early insulin-signaling defect.** *Diabetes.* 46:215-23, 1997.

WATHES, D. C.; CHENG, Z.; BOURNE N.; TAYLOR, V. J.; COFFEY, M. P.; BROTHERSTONE, S. **Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period.** Domestic Animal Endocrinology, v. 33, p. 203-225, 2007.

WEST , J. W., K. BONDARI, AND J. C. JOHNSON, JR. **Effects of bovine somatotropin on milk yield and composition, body weight and condition score of Holstein and jersey cows.** J. Dairy Sci. 73:1062–1068, 1990.

WILDMAN, E. E., G. M. JONES, P. E. WAGNER, R. L. BOMAN, H. F. TROUTT, AND T. N. LESCH. **A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics.** J. Dairy Sci. 65:495–501, 1982.

YANG, W. Z., D. N. MOWAT, A. SUBIYATNO, AND R. M. LIPTRAP. **Effects of chromium supplementation on early lactation performance of Holstein cows.** Can. J. Anim. Sci. 76:221–230, 1996.