

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

RENATA DE MORAIS FARIAS

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE INSULINA NO COLOSTRO SOBRE AS
CONCENTRAÇÕES DE IGF-I, LEPTINA E PERFIL METABÓLICO EM OVINOS

PONTA GROSSA

2023

RENATA DE MORAIS FARIAS

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE INSULINA NO COLOSTRO SOBRE AS
CONCENTRAÇÕES DE IGF-I, LEPTINA E PERFIL METABÓLICO EM OVINOS

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre
em Zootecnia pela Universidade Estadual de Ponta
Grossa, na área de Produção de ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski

PONTA GROSSA

2023

F224 Farias, Renata de Moraes
Influência da concentração de insulina no colostro sobre as concentrações de IGF-I, leptina e perfil metabólico em ovinos / Renata de Moraes Farias. Ponta Grossa, 2023.
53 f.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia - Área de Concentração: Produção Animal), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski.

1. Bioativos. 2. Cordeiro. 3. Desempenho. 4. Metabolismo. 5. Trato gastrointestinal. I. Lipinski, Leandro Cavalcante. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Produção Animal. III.T.

CDD: 636



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <https://uepg.br>

TERMO

TERMO DE APROVAÇÃO

RENATA DE MORAIS FARIAS

“INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE INSULINA NO COLOSTRO SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE IGF-I, LEPTINA E PERFIL METABÓLICO EM OVINOS”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Zootecnia – Mestrado em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias e Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

outubro de 2023.

Ponta Grossa, 30 de

Banca Examinadora:

A handwritten signature in black ink, reading 'Leandro Cavalcante Lipinski'.

Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski – (UEPG)
Presidente

Profa. Dra. Raquel Abdallah da Rocha Oliveira – (UEPG)
Membro Interno

Profa. Dra. Joana Gonçalves Pontes Jacinto - (UNIBO)
Membro Externo

Joana Jacinto



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Cavallante Lipinski, Professor(a)**, em 16/11/2023, às 15:28, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Abdallah da Rocha Oliveira, Professor(a)**, em 05/12/2023, às 04:48, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador **1678961** e o código CRC **CA6921BB**.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida, saúde e forças concedidos, me permitindo chegar até aqui.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa que me acolheu desde a graduação até o mestrado.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

Ao Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski pela orientação, paciência e confiança, além dos conhecimentos proporcionados.

À Professora Dr.^a Adriana Koga por todo auxílio prestado na realização deste trabalho.

A minha amiga Juliane, por todo apoio, companheirismo e ajuda durante o mestrado, principalmente ao decorrer do período experimental.

Aos funcionários da FESCON, em especial ao Renato e Diogo, que estavam sempre prontamente disponíveis para auxiliar durante todo o período a campo do experimento.

Aos amigos que sempre me apoiaram.

A minha família, em especial aos meus pais, Rogerio e Nair, por nunca medirem esforços e por todos ensinamentos e apoio fornecido durante toda minha trajetória. Ao meu irmão, Rafael, ao meu noivo, Fabiano e minha mais que amiga, Amanda por sempre estarem ao meu lado.

A todos que de alguma maneira me auxiliaram nesse caminho.

Muito obrigada!

RESUMO

A ovinocultura enfrenta grandes desafios, como as elevadas taxas de mortalidade de cordeiros nos primeiros dias de vida, resultando em baixa produtividade. Diversos fatores afetam diretamente a sobrevivência dos cordeiros, entre eles a não ingestão do colostro. O colostro é um alimento rico e possui diversos bioativos, como a insulina, que influencia no desenvolvimento intestinal e no incremento do metabolismo energético. Além disso, fatores de crescimento ou hormônios afetam o desenvolvimento do trato gastrointestinal de neonatos em diferentes espécies. O objetivo do presente estudo foi avaliar as concentrações de inulina, leptina e IGF-I em primíparas e múltiparas ovinas e sua correlação destes bioativos com o perfil metabólico e desempenho dos cordeiros. Foram utilizadas 22 fêmeas criadas em sistema semi-intensivo, sendo estas das raças Ile de France e Texel, sendo 12 primíparas (GP) e 10 múltiparas (GM) da mesma estação de monta e seus 27 cordeiros. Foram realizadas coletas de sangue por punção venojugular externa nos cordeiros, logo após o nascimento (H0), 12 (H12), 24 (H24), 48 (H48) horas de vida e no sétimo dia de vida (H168). Nas fêmeas parturientes, as coletas ocorreram apenas após o parto (H0), momento em que se coletou colostro, através de ordenha manual, em frascos estéreis. Com as amostras sanguíneas foi realizada análises de glicemia, proteína plasmática, colesterol e triglicerídeo. Insulina, IGF-I e leptina, do sangue e do colostro, foram analisadas através e pelo teste de Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA). Foram realizadas coletas de peso ao nascimento, sete, 15, 30 e 45 dias de idade (PN, P7, P15, P30, P45, respectivamente), para acompanhar o desenvolvimento dos cordeiros. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa GraphPad Prism 6. No colostro, as concentrações de insulina e IGF-I foram semelhantes, apresentando diferença ($p < 0,05$) apenas na leptina, sendo maior no GP. As análises bioquímicas das mães (GP e GM) foram similares, exceto na dosagem de colesterol ($p < 0,05$) com valores maiores em GP. Os cordeiros provenientes de múltiparas apresentaram maiores valores de insulina no H0 ($p < 0,05$). Os valores de leptina apresentam maiores concentrações em cordeiros de múltiparas no H0 e H12, ocorrendo no H24 uma inversão, demonstrando diferenças significativas em todos os tempos avaliados ($p < 0,05$). Valores de IGF-I se apresentaram semelhantes, assim como nas variáveis bioquímicas desses cordeiros. Para ganho de peso médio, houve diferença significativa ($p < 0,05$) em todos os períodos. As concentrações de insulina, leptina e IGF-I não tiveram nenhuma correlação com valores maiores ou menores dos metabólitos estudados. Mais pesquisas são necessárias para entender como o colostro e outros fatores afetam o desenvolvimento de cordeiros e seu futuro crescimento.

Palavras-chave: Bioativos; cordeiro; desempenho; metabolismo; trato gastrointestinal.

ABSTRACT

Sheep farming faces major challenges, such as the high mortality rates of lambs in the first few days of life, resulting in low productivity. Several factors directly affect the survival of lambs, including the failure to ingest colostrum. Colostrum is a rich food and contains various bioactives, such as insulin, which influences intestinal development and increases energy metabolism. In addition, growth factors or hormones affect the development of the gastrointestinal tract of neonates in different species. The aim of this study was to evaluate the concentrations of inulin, leptin and IGF-I in primiparous and multiparous sheep and their correlation with the metabolic profile and performance of the lambs. We used 22 females raised in a semi-intensive system, of the Ile de France and Texel breeds, 12 primiparous (GP) and 10 multiparous (GM) from the same breeding season and their 27 lambs. Blood samples were taken from the lambs by external venojugular puncture shortly after birth (H0), 12 (H12), 24 (H24), 48 (H48) hours after birth and on the seventh day of life (H168). In parturient females, the samples were collected only after birth (H0), when colostrum was collected by hand milking into sterile vials. The blood samples were analyzed for glycemia, plasma protein, cholesterol and triglyceride. Insulin, IGF-I and leptin from blood and colostrum were analyzed using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test. Weight samples were taken at birth, seven, 15, 30 and 45 days of age (BW, P7, P15, P30, P45, respectively) to monitor the lambs' development. Statistical analyses were carried out using the GraphPad Prism 6 program. In colostrum, insulin and IGF-I concentrations were similar, with a difference ($p<0.05$) only in leptin, which was higher in GP. The biochemical analyses of the mothers (GP and GM) were similar, except for the cholesterol levels ($p<0.05$), with higher values in the GP. Lambs from multiparous dams showed higher insulin values at H0 ($p<0.05$). Leptin values were higher in lambs from multiparous dams at H0 and H12, with a reversal at H24, showing significant differences at all the times evaluated ($p<0.05$). IGF-I values were similar, as were the biochemical variables of these lambs. For average weight gain, there was a significant difference ($p<0.05$) in all periods. The concentrations of insulin, leptin and IGF-I had no correlation with higher or lower values of the metabolites studied. More research is needed to understand how colostrum and other factors affect the development of lambs and their future growth.

Keywords: Bioactives; lamb; performance; metabolism; gastrointestinal tract.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Vias de sinalização da insulina	15
FIGURA 2. Média de peso (kg) dos cordeiros filhos de primíparas e múltiparas referente aos pesos ao nascimento (PN), peso aos 7 dias (P7), peso aos 15 dias (P15), peso aos 30 dias (P30) e peso aos 45 dias (P45)	34

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1. Valores médios de Insulina ($\mu\text{IU/mL}$), Leptina (ng/mL) e IGF-I (ng/dL) ($\pm$ desvio padrão) avaliados do colostro do grupo de primíparas (GP), múltiparas (GM) e média geral.....29
- TABELA 2. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) das variáveis sanguíneas das mães avaliadas no grupo de primíparas (GP), múltiparas (GM) e média geral30
- TABELA 3. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) das variáveis sanguíneas dos cordeiros filhos de primíparas (CP), múltiparas (CM) e média geral, nos tempos de 0, 12 e 24 horas (H0, H12 e H24, respectivamente)30
- TABELA 4. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) das variáveis sanguíneas dos cordeiros filhos de primíparas (CP), múltiparas (CM) e média geral dos cordeiros (MG), avaliados nos tempos de 0, 12, 24, 48 e 168 horas (H0, H12, H24, H48 e H168, respectivamente)32
- TABELA 5. Média de ganho de peso em quilogramas ($\pm$ desvio padrão) de cordeiros de primíparas (CP), múltiparas (CM) e média geral, nos períodos de 0 a 7 dias, 7 a 15 dias, 15 a 30 dias e 30 a 45 dias33
- TABELA 6. Média de pesos em quilogramas ($\pm$ desvio padrão) de cordeiros de primíparas (CP), múltiparas (CM) e média geral referente aos pesos ao nascimento (PN), peso aos 7 dias (P7), peso aos 15 dias (P15), peso aos 30 dias (P30) e peso aos 45 dias (P45)33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA	Comitê de ética no uso de animais
CM	Cordeiros de múltiparas
CP	Cordeiros de primíparas
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
FESCON	Fazenda Escola Capão da Onça
GM	Grupo de múltiparas
GP	Grupo de primíparas
GH	Hormônio do crescimento
GHRG	Hormônio liberador de hormônio do crescimento
H0	Hora zero
H12	Hora 12
H168	Hora 168
H24	Hora 24
H48	Hora 48
IGF	Fator de crescimento semelhante a insulina
IGF-I e II	Fator de crescimento semelhante a insulina tipo I e II
IgG	Imunoglobulina G
kg	Quilogramas
MG	Média geral
ml	Mililitro
P15	Peso aos 15 dias
P30	Peso aos 30 dias
P45	Peso aos 45 dias
P7	Peso aos 7 dias
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
PN	Peso ao nascimento
PPT	Proteína plasmática total
Rpm	Rotações por minuto
TGI	Trato gastrointestinal

SUMÁRIO

1	A IMPORTÂNCIA DOS COMPOSTOS BIOATIVOS NO COLOSTRO E SEU IMPACTO NO DESENVOLVIMENTO DE CORDEIROS	11
1.1	PERFIL METABÓLICO	11
1.2	IMPORTÂNCIA DO COLOSTRO.....	11
1.3	COMPOSTOS BIOATIVOS DO COLOSTRO	14
1.3.1	Insulina.....	14
1.3.2	Leptina.....	16
1.3.3	IGF-I	17
	REFERÊNCIAS	19
2	INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE INSULINA, LEPTINA E IGF-I NO COLOSTRO DE OVELHAS COM METABÓLITOS PLASMÁTICOS E SUA IMPORTÂNCIA NO DESENVOLVIMENTO DOS CORDEIROS	24
2.1	INTRODUÇÃO.....	24
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.2.1	Local, animais e condução do experimento.....	26
2.2.2	Análise do colostro.....	27
2.2.3	Análises sanguíneas.....	28
2.2.4	Acompanhamento do desempenho.....	28
2.2.5	Análise estatística	29
2.3	RESULTADOS	29
2.4	DISCUSSÃO	34
2.5	CONCLUSÃO.....	42
	REFERÊNCIAS.....	43
	ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO PARA USO DE ANIMAIS	52
	ANEXO B – COMPOSIÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DO <i>CREEP FEEDING</i>	53

1 A IMPORTÂNCIA DOS COMPOSTOS BIOATIVOS NO COLOSTRO E SEU IMPACTO NO DESENVOLVIMENTO DE CORDEIROS

1.1 PERFIL METABÓLICO

Com o passar dos anos a produção animal ficou cada vez mais intensiva, gerando índices elevados de produtividade. Entretanto, essa condição alavancou os riscos de transtornos metabólicos, os quais têm um desequilíbrio entre o fornecimento dos nutrientes ao organismo em relação a capacidade de metabolizar tais ingredientes e os níveis de produção atingidos.

Em 1970, devido as altas ocorrências das chamadas doenças de produção, desenvolveu-se um método para auxiliar no seu diagnóstico. O teste de perfil metabólico foi empregado por Payne *et al.* (1970), se referindo ao estudo de componentes hematobioquímicos, os quais inicialmente eram análises sanguíneas em vacas leiteiras, nas quais diagnosticava-se e prevenia-se os transtornos metabólicos e era utilizado como indicativo do balanço nutricional. Atualmente, além do sangue, é possível avaliar o perfil metabólico através de outros fluidos, como saliva, urina e sangue (Riccó, 2004).

O perfil metabólico é útil para monitorar a saúde e o desempenho de animais de produção, especialmente em sistemas intensivos de criação, no qual a nutrição é crítica para maximizar a produção e minimizar os custos. Portanto, o perfil metabólico é uma ferramenta importante para a gestão da saúde e do desempenho dos animais de produção, permitindo a detecção precoce de distúrbios metabólicos e a adoção de medidas preventivas e corretivas.

1.2 IMPORTÂNCIA DO COLOSTRO

Caracterizado como o primeiro fluido biológico gerado pela glândula mamária após o parto, o colostro possui importância fundamental quando se trata da sobrevivência e saúde dos ruminantes recém-nascidos. Com a placenta sindesmocorial das ovelhas, fatores imunológicos e imunoglobulinas não ultrapassam a barreira placentária, o que torna o cordeiro agamaglobulinêmico ao nascimento, com imunoglobulina circulante praticamente zerada (Stelwagen *et al.*, 2009; Hernández-Castellano *et al.*, 2014). Nos ruminantes, uma das principais imunoglobulinas a fornecer a imunidade passiva ao neonato é a imunoglobulina G (IgG) (Puppel *et al.*, 2019; Godden; Lombard; Woolums, 2019; Weaver *et al.*, 2000).

O colostro é uma secreção de grande importância, a qual fornece energia e água. Contém altas concentrações de nutrientes, hormônios e substâncias bioativas, além de ser a única fonte de IgG (Pattinson; Davies; Winter, 1995; Kertz *et al.*, 2017). As concentrações de IgG diminuem com o passar das horas após o parto. Além disso, a absorção, pelo cordeiro, também diminui, portanto, para se ter adequada absorção é importante a ingestão do colostro nas primeiras 36 horas de vida (Bond, 2020).

Ainda que as imunoglobulinas sejam as principais fontes de imunidade pelo colostro, existem outros fatores antimicrobianos presentes, como a lactoferrina, lisozima e lactoperoxidase (Pakkanen; Aalto, 1997). Além disso, o colostro possui diversos tipos de ácidos graxos, os quais auxiliam na atividade antioxidante, como também na resposta imunológica dos animais recém-nascidos (Mills *et al.*, 2011).

O colostro é responsável pela nutrição, reforço da proteção contra patógenos, proporciona melhor desenvolvimento do sistema imunológico e garante o crescimento, maturação e reparação de diversos tecidos (Shen *et al.*, 2015; Lönnerdal, 2013). Nos ovinos, verificou-se que cordeiros alimentados com colostro possuíam facilidade de reconhecer sua mãe (Goursaud; Nowak, 1999), o que torna primordial para a interação mãe e filhote seja bem-sucedida.

Quando realizada de maneira adequada, a colostragem pode melhorar a taxa de sobrevivência dos cordeiros, reduzir a incidência de doenças e infecções, melhorar o crescimento e desenvolvimento, além de trazer benefícios futuros na produção de leite e carne, já que seu consumo auxilia o desenvolvimento de tecidos e órgãos, como fígado, rim, baço e músculos (Bartol; Bagnell, 2012). Entretanto, quando a colostragem ocorre de maneira inadequada ou insuficiente, as taxas de mortalidade, doenças e problemas de crescimento e desenvolvimento são maiores, gerando impactos negativos na produção futura (Khan; Weary; Von Keyserlingk, 2011).

Para cordeiros, o requerimento de colostro na primeira mamada é em torno de 50 ml/kg, aumentando para 100 ml/kg nas primeiras seis horas de vida e chegando a 200 ml/kg nas primeiras 24 horas após o parto (Gascoigne; Davies, 2019). No entanto, essa quantidade pode variar dependendo da quantidade de energia que o animal precisa para produzir calor e regular sua temperatura corporal. O colostro de ovelhas possui uma composição nutricional rica, com cerca de 7 a 13% de gordura, 2 a 5% de lactose e 7 a 10% de proteína (Hadjipanayiotou, 1995), gerado em um valor energético de 6,3 a 7,3 kJ/ml (McCance; Alexander, 1959).

Autores relataram que o colostro bovino possui maiores teores de proteína em comparação ao leite (Wang *et al.*, 2020; Playford; Weiser, 2021), o que auxilia no fator de defesa natural extra para o recém-nascido (Hernández-Castellano *et al.*, 2014). As proteínas do colostro são importantes pois exercem inúmeras funções devido ao seu conteúdo de aminoácidos, podendo aumentar a proteína do sangue em cordeiros recém-nascidos (Zhu *et al.*, 2021).

Com a ingestão adequada de colostro, pode-se observar um aumento em compostos bioativos na circulação do animal, como a leptina e os hormônios da tireoide (Liermann *et al.*, 2020). Também pode-se ter um aumento de outros componentes que estão presentes em grandes concentrações no colostro, como os hormônios de crescimento e hormônios peptídicos da superfamília insulina-relaxina, bem como fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF), peptídeos e polipeptídeos (Fischer-Tlustos *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2021).

Inabu *et al.* (2019) relataram que bezerros que ingerem colostro, seus hormônios gastrintestinais podem melhorar, acarretando posteriormente em melhores secreções de insulina nos recém-nascidos. Sua ingestão também aumentou a secreção de peptídeos I e II semelhantes ao glucagon, o qual auxilia juntamente com o IGF-I no aumento e proliferação de células epiteliais e desenvolvimento do trato gastrintestinal. Além disso, a adequada utilização do colostro diminui a incidência de infecções do trato respiratório, pneumonia e casos de diarreia em bezerros (Zwierzchowski *et al.*, 2020; Kargar *et al.*, 2020), o que garante menores taxas de mortalidade e redução no uso de antibiótico, bem como a melhora do desempenho animal.

O colostro de qualidade garante um impulso no ganho de peso diário do animal, isso é devido ao rápido crescimento de bactérias no sistema digestivo, o que pode garantir o funcionamento adequado pós-natal (Puppel *et al.*, 2020). Segundo Yang *et al.* (2015), uma colostragem de grande qualidade aumentou o peso corporal no oitavo dia de vida em comparação aos animais alimentados com leite. Kargar *et al.* (2020) afirmam que a alimentação com colostro traz benefícios futuros, como desempenho de crescimento e produção de leite.

Um dos principais papéis do colostro é quanto ao desenvolvimento gastrintestinal, o qual estimula o desenvolvimento morfológico e maturação funcional e auxilia na proliferação de bactérias benéficas para colonização gastrintestinal. Este rico fluído é capaz de melhorar a eficiência digestiva pós-natal, já que promove o crescimento e diferenciação das células intestinais, aumenta a altura e profundidade das vilosidades e criptas, além de reduzir a

apoptose, consequentemente aumentando a longevidade das células epiteliais (Blattler *et al.*, 2001; Blum, 2006).

Pyo *et al.* (2020) relataram que com o prolongamento da ingestão do colostro houve aumento na maturação e desenvolvimento do intestino delgado, aumento nas vilosidades e na área de superfície do jejuno e íleo. Entretanto, em caso de postergar o fornecimento do colostro até 12 horas de vida, há efeitos negativos quanto ao desenvolvimento do jejuno e íleo (FischerTlustos *et al.*, 2020), consequência devido ao intestino delgado ser o principal local de absorção e digestão dos nutrientes presente no colostro (Blum, 2006; Zhu *et al.*, 2021), no qual a partir deste ponto, o colostro torna-se um substrato recomendado para melhorar o metabolismo (NRC, 2021).

Sabe-se que o colostro é composto por antimicrobianos, hormônios, imunoglobulinas, mas também outros fatores bioativos, como IGF-I, IGF-II, insulina, leptina e prolactina (Faber *et al.*, 2005; Bach, 2012). Vale ressaltar que a qualidade e concentração desses componentes imunológicos, endócrinos e nutricionais presentes no colostro depende de fatores maternos, como idade, estado nutricional, ambiente (Stelwagen *et al.*, 2009; Banchero *et al.*, 2015; Puppel *et al.*, 2019) e até mesmo ordem de parto.

1.3 COMPOSTOS BIOATIVOS DO COLOSTRO

1.3.1 Insulina

A insulina é um hormônio anabólico essencial produzido pelas células beta das ilhotas de Langerhans no pâncreas. Sua função principal é manter a estabilidade dos níveis de glicose no organismo, além de desempenhar papéis importantes no crescimento e diferenciação celular (Carvalho; Zecchin; Saad, 2002). A insulina atua em diversas vias metabólicas, promovendo a captação aumentada de glicose, estimulando o armazenamento dessa glicose como glicogênio e seu uso como substrato para a produção de lipídios. Ela também influencia positivamente o fluxo da via glicolítica e da via das pentoses, ao mesmo tempo que inibe a glicólise e a gliconeogênese, reduzindo a produção hepática de glicose e prevenindo a formação de corpos cetônicos (Berne; Levy, 2004).

A liberação de insulina é regulada de forma imediata e direta devido aos nutrientes, hormônios e neurotransmissores circulantes, além de ser modulado de forma retardada por

fatores dietético, hormonais e ontogênicos (Malaisse, 2015). A ação da insulina ocorre com a ligação ao seu receptor na superfície celular. Seus receptores são oligotetrâmeros compostos por duas subunidades α de ligação ao ligante extracelular e duas subunidades β transmembrana, com atividade de tirosina quinase estimulada por insulina (Kasuga; Karlsson; Kahn, 1982; Kahn; White, 1988). Quando a insulina se liga à subunidade α do receptor, ocorre a ativação da subunidade β , resultando em uma mudança conformacional e autofosforilação, o que amplifica a atividade quinase do receptor, assim como demonstrado na Figura 1.

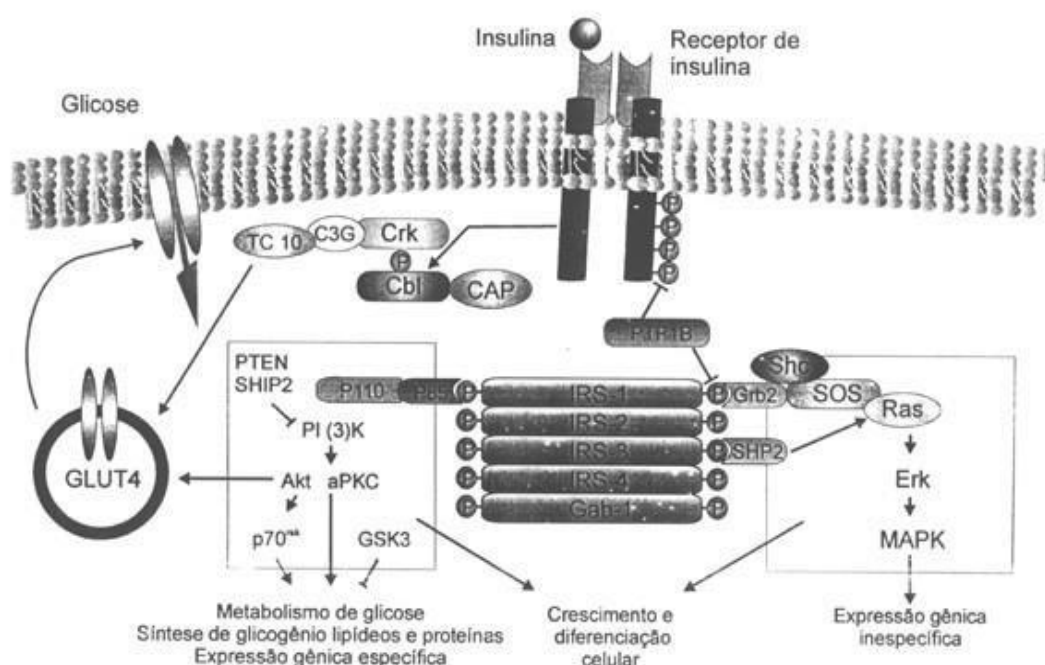


FIGURA 1. Vias de sinalização da insulina. As vias de sinalização da insulina envolvem o receptor de insulina, uma tirosina quinase que autofosforila e catalisa a fosforilação de proteínas intracelulares, como IRS, Shc e Cbl. Após a fosforilação, essas proteínas interagem com outras moléculas de sinalização através de seus domínios SH2, resultando na ativação de vias intracelulares, como a via da PI-3 quinase, a cascata da MAPK e a ativação do TC10 via CAP/Cbl. Essas vias são responsáveis por regular o transporte de glicose, a síntese de glicogênio, lipídeos e proteínas, coordenando e integrando o metabolismo intermediário. Fonte: Adaptado Carvalheira; Zecchin; Saad (2002).

O metabolismo dos não ruminantes apresentam algumas diferenças quanto aos ruminantes, os quais têm sua principal fonte de energia proveniente da fermentação microbiana, e a pouca glicose é resultado direto do trato gastrointestinal dos ruminantes (Sasaki, 2002). Com isso, espera-se que a insulina não tenha um papel crucial na regulação do metabolismo de

glicose nos ruminantes, mas atua em diversos tecidos, como o muscular, adiposo, fígado e glândula mamária (Brockman, 1993).

Com o sistema digestivo em desenvolvimento no período neonatal, o eixo glicoseinsulina dos animais é relativamente imaturo, sendo o alto teor de gordura proveniente do colostro o responsável por fornecer calorias ao animal (Hammon *et al.*, 2012), já que a produção de insulina é insuficiente para a regulação da glicemia (Berne; Levy, 2004). Entretanto, a insulina presente no colostro tem a capacidade de ativar os receptores do fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I), encontrados nas paredes do trato gastrointestinal. Através de sua ação local, a insulina colostrar também pode interagir com receptores híbridos de insulina e IGF-I, desencadeando eventos intracelulares que resultam em respostas biológicas benéficas para o crescimento intestinal, como a proliferação de enterócitos (Ontsouka; Albrecht; Bruckmaier, 2016).

Estudos demonstraram que existe diferenças consideráveis nos níveis de insulina plasmática de vacas peri-parturientes entre níveis colostrais e do leite. Concentrações de 20 a 100 vezes maiores foram encontrados no colostro em comparação ao plasma e 35 vezes maior em comparação ao leite, diferenças que corroboram com a ideia de que há um transporte ativo do plasma para a glândula mamária (Zinicola; Bicalho, 2019).

1.3.2 Leptina

A leptina é um hormônio derivado dos adipócitos que suprime a ingestão de alimentos e aumenta o gasto energético (Mcfadin *et al.*, 2002), também é considerada um neurotransmissor com neurônios e receptores localizados no hipotálamo e na hipófise anterior de ovelhas (Mostyn *et al.*, 2001). Esse hormônio desempenha um papel crucial na regulação da homeostase energética corporal, na secreção de hormônios, na reprodução, na imunidade, na hematopoiese, na angiogênese, na diferenciação celular e na proliferação celular, entre outros processos importantes (Chilliard; Delavaud; Bonnet, 2005).

A leptina presente no leite é sintetizada pelo epitélio da glândula mamária e está associada aos glóbulos de gordura do leite. Isso é evidenciado pelo alto sinal da presença de leptina no precipitado ácido do leite (Smith; Sheffield, 2002). Os níveis de leptina no colostro são significativamente mais altos em comparação aos níveis encontrados no leite. Durante os primeiros 20 dias de lactação, observa-se uma redução de até 56% nas concentrações de leptina

e a secreção diária de leptina no leite chega a ser cerca de 28% menor em comparação ao colostro (Pinotti; Rosi, 2006). As concentrações de leptina no leite são correlacionadas positivamente com as concentrações séricas de leptina no sangue de ovelha (Mcfadin *et al.*, 2002).

Concentrações elevadas de leptina no leite, durante os estágios iniciais da lactação, podem fornecer um mecanismo para termorregulação, saciedade e controle endócrino homeostático no recém-nascido (Mcfadin *et al.*, 2002). Estudos mostram que a administração de leptina, em cordeiros recém-nascidos, aumenta a temperatura retal e acelera a diminuição do tecido adiposo marrom (Mostyn *et al.*, 2001). Em contrapartida, a diminuição na concentração de leptina, em animais subalimentados, pode ser interpretada como um sinal para estimular a ingestão de alimentos, a secreção de glicocorticoides, a diminuição da atividade tireoidiana, o gasto de energia, a sensibilidade à insulina e a síntese de proteínas, além de bloquear as funções reprodutivas temporariamente (Catunda *et al.*, 2014).

1.3.3 IGF-I

Entre os peptídeos bioativos encontrados no colostro e no leite, os fatores de crescimento semelhantes à insulina I e II (IGFs) se destacam por sua capacidade de estimular a mitogênese e a diferenciação celular (Bagaldo, 2004). A concentração de IGF-I no colostro é significativamente maior em comparação ao leite, sugerindo um papel importante na fase inicial da lactação (Smith; Sheffield, 2002).

Especificamente, a síntese do IGF-I ocorre predominantemente no fígado (aproximadamente 75%), sendo esse processo desencadeado pela estimulação do hormônio do crescimento (GH). Este fator de crescimento desempenha um papel crucial ao estabelecer um *feedback* negativo sobre o eixo somatotrópico, composto por hormônios liberadores de hormônio do crescimento (GHRH), pelo GH e pelo próprio IGF-I (Lee; Kim, 2018). O sistema IGF funciona como um dos principais eixos reguladores endócrino, parácrino e autócrino para proliferação celular, sobrevivência e apoptose no trato gastrointestinal (Kuemmerle, 2012).

Para ovelhas jovens, as concentrações circulantes de IGF-I são reduzidas durante a restrição nutricional do crescimento, causando um atraso associado na puberdade, pois a atuação do IGF-I como um mensageiro circulante pode mediar os efeitos nutricionais na secreção de gonadotrofinas em ovinos (Adam *et al.*, 2000). IGF-I também tem importantes

efeitos reguladores sobre o crescimento intestinal em condições fisiopatológicas (Kuemmerle, 2012).

Os IGFs presentes no colostro são peptídeos ou pequenas proteínas que estimulam o crescimento, diferenciação e o desenvolvimento de um organismo (Playford; Weiser, 2021). Os efeitos biológicos dos IGFs presentes no colostro e no leite são observados em vários tecidos, por exemplo, os receptores de IGF tipo I e tipo II estão presentes nas células epiteliais da glândula mamária e ao longo do trato intestinal do neonato, desempenhando um papel crucial no crescimento e maturação do sistema digestivo, influenciando positivamente os níveis de IGF-I circulante (Bagaldo, 2004). Outras atividades estão relacionadas aos diversos efeitos desses receptores no crescimento somático, balanço energético e metabolismo de glicose, carboidratos e proteínas (Kuemmerle, 2012).

Os IGFs além de proporcionarem um melhor crescimento e desenvolvimento do trato gastrintestinal, podem afetar a futura reprodução (Baumrucker; Blum, 1993; GeorgE *et al.*, 2018). Vallet *et al.* (2015) relataram em suínos, que a falta do consumo de colostro e por consequência a não transferência dos compostos bioativos de mãe para filho pela amamentação, acarretou potenciais e permanentes problemas no desenvolvimento reprodutivo em fêmeas, reduzindo sua capacidade uterina. Os mesmos autores descrevem que leitões (fêmeas) que tiveram baixo consumo de colostro, foram 10 a 20 kg mais leves aos 200 dias de idade, uma semana mais velhas na puberdade e sua ninhada foi menor em comparação às que tiveram alto consumo de colostro. Leitões machos, que tiveram acesso *ad libitum* por 48 horas pós-parto ao colostro e outro com substituto do leite, demonstraram que os machos com acesso ao colostro tiveram maior proliferação de células de Sertoli em comparação ao outro grupo (Rahman *et al.*, 2014).

Apesar da presença de IGFs no colostro de ruminantes, informações sobre o desenvolvimento do sistema reprodutivo nesses animais ainda são limitadas (Bach, 2012). Estudos mostraram que a quantidade de IgG ingerida do colostro afetou a produção futura de leite de novilhas (Denise *et al.*, 1989; Faber *et al.*, 2005; Cuttance *et al.*, 2019). A concentração de IgG no colostro está fortemente relacionada ao volume de leite produzido na primeira lactação (Denise *et al.*, 1989). Além disso, vale ressaltar que existem outros compostos bioativos, como IGF-I e II, insulina, GH, leptina e prolactina no colostro (Faber *et al.*, 2005; Bach, 2012), o que torna essencial o fornecimento de colostro de qualidade e em quantidade aos neonatos.

REFERÊNCIAS

- ADAM, C. L.; GADD, T. S.; FINDLAY, P. A.; WATHES, D. C. IGF-I stimulation of luteinizing hormone secretion, IGF-binding proteins (IGFBPs) and expression of mRNAs for IGFs, IGF receptors and IGFBPs in the ovine pituitary gland. **Journal of Endocrinology**, v. 166, n. 2, p. 247–254, 2000.
- BACH, A. RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM: OPTIMIZING PERFORMANCE OF THE OFFSPRING: Nourishing and managing the dam and postnatal calf for optimal lactation, reproduction, and immunity^{1,2}. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 6, p. 1835–1845, 2012.
- BAGALDO, A. R. **Fator de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I) em bezerros recém-nascidos aleitados com colostro de vacas tratadas com rbST**. 2004. Tese de Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, Brasil, 2004.
- BANCHERO, G. E. *et al.* Colostrum production in ewes: a review of regulation mechanisms and of energy supply. **Animal: An International Journal of Animal Bioscience**, v. 9, n. 5, p. 831–837, 2015.
- BARTOL, F. F.; BAGNELL C. A. Lactocrine programming of female reproductive tract development: Environmental connections to the reproductive continuum. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 354, n. 1–2, p.16-21, 2012.
- BAUMRUCKER, C. R.; BLUM, J. R. Secretion of insulin-like growth factors in milk and their effect on the neonate. **Livestock Production Science**, v. 35, n. 1-2, p. 49–72, 1993.
- BERNE, R. M.; LEVY, M. N. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 1082, 2004.
- BLATTNER, U. *et al.* Feeding Colostrum, Its Composition and Feeding Duration Variably Modify Proliferation and Morphology of the Intestine and Digestive Enzyme Activities of Neonatal Calves. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 4, p. 1256–1263, 2001.
- BLUM, J. W. Nutritional physiology of neonatal calves. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 90, n. 1-2, p. 1–11, 2006.
- BOND, C. Evaluation of lamb colostrum supplements. **Veterinary Record**, v. 187, n. 11, e 100, 2020.
- BROCKMAN, R. P. 1993. Glucose and short-chain fatty acid metabolism. In: FORBES, J. M.; FRANÇA, J. (eds.). **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Wallingford (United Kingdom): CAB Internacional, p. 248–265, 1993.

CARVALHEIRA, J. B. C.; ZECCHIN, H. G.; SAAD, M. J. A. Vias de Sinalização da Insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 4, p. 419–425, 2002.

CATUNDA, A. G. V. *et al.* O papel da leptina na reprodução dos ruminantes [The role of leptin on the reproduction of ruminants]. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 38, n. 1, p. 3-9, 2014.

CHILLIARD, Y.; DELAVAUD, C.; BONNET, M. Leptin expression in ruminants: Nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 29, n. 1, p. 3–22, 2005.

CUTTANCE, E. L. *et al.* Relationships between failure of passive transfer and subsequent mortality, bodyweights and lactation performance in 12–36 month old heifers on pasture-based, seasonal calving dairy farms in New Zealand. **The Veterinary Journal**, v. 251, p. 105348, 2019.

DENISE, S. K. *et al.* Effects of passive immunity on subsequent production in dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 2, p. 552–554, 1989.

FABER, S. N. *et al.* Case study: effects of colostrum ingestion on lactational performance. **The Professional Animal Scientist**, v. 21, n. 5, p. 420–425, 2005.

FISCHER-TLUSTOS, A. J. *et al.* Oligosaccharide concentrations in colostrum, transition milk, and mature milk of primi- and multiparous Holstein cows during the first week of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 4, p. 3683–3695, 2020.

GASCOIGNE, E.; DAVIES, P. An approach to neonatal lamb post-mortem examinations. **Livestock**, v. 24, n. 4, p. 193–198, 2019.

GEORGE, A. F. *et al.* Effects of colostrum, feeding method and oral IGF1 on porcine uterine development. **Reproduction**, v. 155, n. 3, p. 259–271, 2018.

GODDEN, S. M.; LOMBARD, J. E.; WOOLUMS, A. R. Colostrum Management for Dairy Calves. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 35, n. 3, p. 535–556, 2019.

GOURSAUD, A.-P.; NOWAK, R. Colostrum Mediates the Development of Mother Preference by Newborn Lambs. **Physiology & Behavior**, v. 67, n. 1, p. 49–56, 1999.

HADJIPANAYIOTOU, M. Composition of ewe, goat and cow milk and of colostrum of ewes and goats. **Small Ruminant Research**, v. 18, n. 3, p. 255–262, 1995.

HAMMON, H. M. *et al.* Energy metabolism in the newborn farm animal with emphasis on the calf: endocrine changes and responses to milk-born and systemic hormones. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 43, n. 2, p. 171–185, 2012.

HERNÁNDEZ-CASTELLANO, L. E. *et al.* The Colostrum Proteome, Ruminant Nutrition and Immunity: A Review. **Current Protein & Peptide Science**, v. 15, n. 1, p. 64–74, 2014.

INABU, Y. *et al.* Effect of extended colostrum feeding on plasma glucagon-like peptide-I concentration in newborn calves. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 5, p. 4619–4627, 2019.

KAHN, C. R.; WHITE, M. F. The insulin receptor and the molecular mechanism of insulin action. **Journal of Clinical Investigation**, v. 82, n. 4, p. 1151–1156, 1988.

KARGAR, S. *et al.* Extended colostrum feeding for 2 weeks improves growth performance and reduces the susceptibility to diarrhea and pneumonia in neonatal Holstein dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 9, p. 8130–8142, 2020.

KASUGA, M.; KARLSSON, F. A.; KAHN, C. R. Insulin stimulates the phosphorylation of the 95,000-dalton subunit of its own receptor. **Science**, v. 215, n. 4529, p. 185–187, 1982.

KERTZ, A. F. *et al.* A 100-Year Review: Calf nutrition and management. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10151–10172, 2017.

KHAN, M. A.; WEARY, D. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Invited review: Effects of milk ration on solid feed intake, weaning, and performance in dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 3, p. 1071–1081, 2011.

KUEMMERLE, J. F. Insulin-Like Growth Factors in the Gastrointestinal Tract and Liver. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 41, n. 2, p. 409–423, 2012.

LEE, W. S.; KIM, J. Insulin-like growth factor-1 signaling in cardiac aging. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1864, n. 5, p. 1931–1938, 2018.

LIERMANN, W. *et al.* Effects of colostrum instead of formula feeding for the first 2 days postnatum on whole-body energy metabolism and its endocrine control in neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 4, p. 3577–3598, 2020.

LÖNNERDAL, B. Bioactive proteins in breast milk. **Journal of Paediatrics and Child Health**, v. 49, p. 1–7, 2013.

MALAISSÉ, W. J. Insulin Secretion Functional Biochemical Aspects. Reference Module in **Biomedical Sciences**. 2015

MCCANCE, I.; ALEXANDER, G. The onset of lactation in the Merino ewe and its modification by nutritional factors. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 5, p. 699, 1959.

MCFADIN, E. L. *et al.* Leptin concentrations in periparturient ewes and their subsequent offspring. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 3, p. 738–743, 2002.

MILLS, S. *et al.* Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. **International Dairy Journal**, v. 21, n. 6, p. 377–401, 2011.

MOSTYN, A. *et al.* The role of leptin in the transition from fetus to neonate. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 60, n. 2, p. 187–194, 2001.

National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle (NRC): Eighth Revised Edition**. Washington, DC: The National Academies Press. 2021.

ONTSOUKA, E. C.; ALBRECHT, C.; BRUCKMAIER, R. M. Invited review: Growth-promoting effects of colostrum in calves based on interaction with intestinal cell surface receptors and receptor-like transporters. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 6, p. 4111–4123, 2016.

PAKKANEN, R.; AALTO, J. Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. **International Dairy Journal**, v. 7, n. 5, p. 285–297, 1997.

PATTINSON, S. E.; DAVIES, R.; WINTER, A. G. Changes in the secretion rate and production of colostrum by ewes over the first 24 h *post partum*. **Animal Science**, v. 61, n. 1, p. 63–68, 1995.

PAYNE, J. M. *et al.* The use of a metabolic profile test in dairy herds. **Veterinary Record**, v. 87, n. 6, p. 150–158, 1970.

PINOTTI, L.; ROSI, F. Leptin in Bovine Colostrum and Milk Abstract. **Hormone and Metabolic Research**, v. 38, n. 4, p. 89–93, 2006.

PLAYFORD, R. J.; WEISER, M. J. Bovine Colostrum: Its Constituents and Uses. **Nutrients**, v. 13, n. 1, 2021.

PUPPEL, K. *et al.* Composition and Factors Affecting Quality of Bovine Colostrum: A Review. **Animals: an Open Access Journal from MDPI**, v. 9, n. 12, 2019.

PYO, J. *et al.* Feeding colostrum or a 1:1 colostrum:milk mixture for 3 days postnatal increases small intestinal development and minimally influences plasma glucagon-like peptide-2 and serum insulin-like growth factor-1 concentrations in Holstein bull calves. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 5, p. 4236–4251, 2020.

RAHMAN, K. M. *et al.* Nursing supports neonatal porcine testicular development. **Domest Anim Endocrinol**. v. 48, p. 84–92, 2014.

RICCÓ, D. **Indicadores sanguíneos e corporais de avaliação metabólico-nutricional em ruminantes**. 2004. Seminário (Pós-Graduação em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

SASAKI, S. Mechanism of insulin action on glucose metabolism in ruminants. **Animal Science Journal**, v. 73, n. 6, p. 423–433, 2002.

SHEN, R. L. *et al.* Early gradual feeding with bovine colostrum improves gut function and NEC resistance relative to infant formula in preterm pigs. **American Journal of Physiology–Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 309, n. 5, p. G310–G323, 2015.

SMITH, J. L.; SHEFFIELD, L. G. Production and regulation of leptin in bovine mammary epithelial cells. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 22, n. 3, p. 145–154, 2002.

STELWAGEN, K. *et al.* Immune components of bovine colostrum and milk¹. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. suppl_13, p. 3–9, 2009.

VALLET, J. L. *et al.* Relationships between day one piglet serum immunoglobulin immunocrit and subsequent growth, puberty attainment, litter size, and lactation performance. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 6, p. 2722–2729, 2015.

WANG, X. X. *et al.* Label-free quantitative proteomics analysis reveals the fate of colostrum proteins in the intestine of neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 11, p. 10823–10834, 2020.

WEAVER, D. M. *et al.* Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, n. 6, p. 569–577, 2000.

YANG, M. *et al.* Colostrum quality affects immune system establishment and intestinal development of neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 10, p. 7153–7163, 2015.

ZHU, H. L. *et al.* Evaluation of colostrum bioactive protein transfer and blood metabolic traits in neonatal lambs in the first 24 hours of life. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 1, p. 1164–1174, 2021.

ZINICOLA, M.; BICALHO, R. C. Association of peripartum plasma insulin concentration with milk production, colostrum insulin levels, and plasma metabolites of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 2, p. 1473–1482, 2019.

ZWIERZCHOWSKI, G. *et al.* Colostrum-supplemented transition milk positively affects serum biochemical parameters, humoral immunity indicators and the growth performance of calves. **Livestock Science**, v. 234, p. 103976, 2020.

2 INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE INSULINA, LEPTINA E IGF-I NO COLOSTRO DE OVELHAS COM METABÓLITOS PLASMÁTICOS E SUA IMPORTÂNCIA NO DESENVOLVIMENTO DOS CORDEIROS

2.1 INTRODUÇÃO

Um dos grandes desafios quando se trata de criação de ovinos é a elevada taxa de mortalidade de cordeiros nos primeiros dias de vida, que por consequência diminui os ganhos produtivos. Baixo peso ao nascimento, a não ingestão do colostro, partos múltiplos, idade da ovelha e fatores ambientais são algumas das razões que afetam diretamente a sobrevivência dos cordeiros (Christley *et al.*, 2003).

Após o nascimento, o trato gastrointestinal dos cordeiros passa por exposição aos microrganismos, colaborando para o desenvolvimento e maturação da mucosa intestinal (Wesemann *et al.*, 2013). O colostro é a primeira secreção da glândula mamária após o parto, sendo primeiro alimento essencial para os mamíferos neonatos (Zhu *et al.*, 2021). O colostro está intimamente envolvido com o desenvolvimento intestinal, além de ser responsável pelo fornecimento de imunoglobulinas e diferentes nutrientes essenciais para o desenvolvimento do neonato (Guerra *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2015).

Há poucas informações sobre o período ideal de absorção do colostro no intestino de ovinos neonatos. Relatos mostram aumento dos níveis de imunoglobulinas séricas quando a ingestão do colostro ocorre nas primeiras horas de vida, seguido por um grande decréscimo após 24 horas de vida (Tizard, 2009). Isso se deve ao amadurecimento das células intestinais, impedindo a permeabilidade das macromoléculas (Smeaton; Simpson-Morgan, 1985; Xu, 1999; Bessi *et al.*, 2002; Kindlein *et al.*, 2008). Cada vez mais estudos indicam sobre a importância da ingestão do colostro sobre o desenvolvimento e maturação do sistema imunológico da mucosa intestinal, abrangendo além do simples fornecimento de imunoglobulinas (Hernández-Castellano *et al.*, 2014, 2015; Hammon *et al.*, 2020)

As imunoglobulinas, presentes no colostro, são responsáveis pela transferência de imunidade passiva e a própria insulina, assim como os IGF-I e IGF-II que promovem diferenciação celular e crescimento, bem como desenvolvimento gastrointestinal (Hammon; Blum, 2002; Yang *et al.*, 2015). Esses fatores de crescimento consistem em cadeias polipeptídicas simples, com uma notável capacidade de preservação de até 70% de semelhança entre si, assim como 50% de semelhança com a pró-insulina. A estrutura de aminoácidos é

altamente preservada entre diversas espécies, chegando a uma homologia de 100% na IGF-I entre humanos, suínos, ovinos e bovinos, enquanto o IGF-II apresenta uma homologia de 96% entre bovinos e humanos (Odle; Zijlstra; Donovan, 1996).

A insulina presente no colostro é conhecida devido a sua ação no auxílio do desenvolvimento intestinal pós-natal (Shehadeh; Sukhotnik; Shamir, 2006; Hammon *et al.*, 2013). Estudos têm demonstrado que há maior concentração de insulina no colostro em relação à concentração plasmática, na qual se tem relatos de valores que variam de ~20 vezes mais que no plasma no pré-parto e ~35 vezes mais que no leite (Ronge; Blum, 1988). Também de ~80 vezes maior em relação ao plasma preparatório (Mann *et al.*, 2016), tendo relatos de chegar a ser 100 vezes maior no colostro do que no plasma no período pré-parto em bovinos. Essas diferenças sugerem um transporte ativo e passivo do sangue para a glândula mamária, mas que ainda não é totalmente conhecido (Zinicola; Bicalho, 2019).

Estudos em bezerros demonstraram importante influência da insulina do colostro no desenvolvimento intestinal com consequente incremento no metabolismo energético (Hare *et al.*, 2023a). Evidências mostram que fatores de crescimento ou hormônios afetam o desenvolvimento do trato gastrointestinal (TGI) de neonatos em diferentes espécies, onde certamente atua nos sítios de ligação de receptores específicos na mucosa intestinal (Arsenaut; Menard, 1987; Berseth, 1987; Burrin *et al.*, 1996; Alexander; Carey, 1999; Blum; Hammon, 2000; Blum, 2006). Bezerros neonatos possuem, ao longo do epitélio intestinal, a presença de expressão gênica de receptores de IGF e insulina, as quais podem ser afetadas pela alimentação e idade, além de estar em parte relacionadas ao crescimento das vilosidades e proliferação celular da mucosa (Ontsouka *et al.*, 2004).

De acordo com Zhu *et al.* (2021) o intestino delgado é um importante local de digestão e absorção dos componentes do colostro nos ruminantes, e as concentrações de proteínas do soro da digesta do intestino delgado são dependentes de sua transferência do lúmen intestinal para o sangue ou da degradação intestinal. Além disso, enzimas digestivas na mucosa do intestino delgado, como a aminopeptidase A e N e dipeptidil peptidase IV aumentaram sua atividade após ingestão de colostro, em bezerros e cabritos (Blättler *et al.*, 2001; Moretti *et al.*, 2012). Zhu *et al.* (2021), em estudo realizado com cordeiros, verificaram que a ingestão de colostro bovino melhorou o estado metabólico e imunológico de cordeiros neonatais. Além disso, os autores sugerem que as proteínas bioativas do colostro foram internalizadas e degradadas de maneira seletiva no intestino delgado. Entretanto, os trabalhos que avaliam os bioativos do

colostro, em ovinos, ainda são escassos. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar as concentrações de insulina, leptina e IGF-I no colostro de fêmeas ovinas primíparas e múltíparas e a correlação destes com o perfil metabólico e desempenho dos cordeiros.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Local, animais e condução do experimento

O presente trabalho foi conduzido na Fazenda Escola Capão da Onça (FESCON), pertencente à Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG, localizada no endereço Estrada Ponta Grossa/Itaiacoca, Km 07 – Zona Rural, Ponta Grossa - PR. A FESCON está a 25° 05' 49" latitude sul e 50° 03' 11" longitude oeste, situada a 900 metros de altitude, contendo 312,11 hectares. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal (CEUA) da UEPG sob protocolo 22.000052247-0.

Os animais utilizados no experimento foram manejados conforme a rotina da FESCON, sendo mantidos no sistema semi-intensivo. Durante o dia os animais eram soltos a pasto e a noite recolhidos em barracão dividido por baias, a fim de evitar possíveis predadores. No período de reclusão dos animais, silagem de milho e concentrado foi ofertado. Além disso, água e sal mineral foram ofertados *ad libitum*. O experimento foi realizado durante o período de parição dessas fêmeas, que durou 28 dias e mais 45 dias após o último nascimento, realizando a coleta de peso dos cordeiros.

Foram utilizadas 22 fêmeas das raças Ile de France e Texel, sendo 12 primíparas e 10 múltíparas da mesma estação de monta. Também foram utilizados todos os cordeiros nascidos dessas fêmeas, totalizando 27 cordeiros. Assim, constituindo 13 cordeiros provenientes de primíparas, sendo apenas um parto gemelar. E 14 cordeiros de múltíparas, onde se teve quatro partos gêmeos e os demais provenientes de mães distintas.

Ao observar os sinais de parto, se a fêmea estivesse a campo, a mesma era recolhida para dentro do barracão e observada. Se a fêmea apresentasse dificuldade de parir, a intervenção era realizada, caso contrário não ocorria esse auxílio. Após o nascimento, a mãe era deixada com o cordeiro, para a realização de todo processo instintivo de lambar para se ter o reconhecimento materno, limpar e aquecer seu cordeiro e assim que este fosse em busca do teto era realizada a primeira coleta de sangue antes da ingestão do colostro. Nesse momento também

se coletava sangue da fêmea parturiente e o colostro através de ordenha manual, descartando o primeiro jato e armazenando em tubo estéril.

As amostras de sangue foram coletadas por punção venojugular externa, utilizando agulha estéril acoplada a seringa descartável e armazenado em dois tubos com EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) de 4 ml. As coletas de sangue ocorreram em cinco momentos para os cordeiros: logo após ao nascimento (H0: hora zero), às 12 horas após o nascimento (H12: hora 12), 24 horas após o nascimento (H24: hora 24), 48 horas após o nascimento (H48: hora 48) e no sétimo dia de vida (H168: hora 168). Já nas fêmeas parturientes as coletas ocorreram apenas uma vez, realizada logo após o parto (H0).

O sangue coletado foi centrifugado a 3.000 rpm durante 10 minutos, para a separação dos elementos mais densos do sangue, obtendo o plasma sanguíneo. Com o auxílio de uma pipeta automática foi aspirado o soro e armazenado em dois *eppendorfs* de 2 ml cada, e assim como o colostro, foram mantidos em refrigeração e encaminhadas ao Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental pertencente a UEPG, permanecendo conservados em freezer a -80°C para posterior análises.

Todas as fêmeas parturientes foram mantidas por sete dias em confinamento, junto com seus cordeiros. Após esse período, as fêmeas voltavam para o pasto durante o dia e eram recolhidas ao meio-dia, para alimentar seus cordeiros. Neste momento, as mães permaneciam com seus filhotes por uma hora e meia. Após, retornavam para o pasto, onde permaneciam até o final da tarde (16:30h). A partir do início da adoção deste manejo, fornecia-se suplementação para os cordeiros em *creep feeding* (ANEXO B).

2.2.2 Análise do colostro

Para obtenção do soro do colostro foi realizada a ordenha manual em frascos estéreis e imediato congelamento. Para as análises, realizou-se o descongelamento do colostro em temperatura ambiente e posteriormente encaminhado para processo de centrifugação, em centrífuga refrigerada a 3.500 rpm durante 10 minutos à 12 °C. Após sua centrifugação retirou-se o sobrenadante e alocou o soro em dois *eppendorfs* de 2 ml cada.

O soro obtido foi utilizado para mensurar insulina por teste de Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) que aplica a técnica de imunoensaio enzimático sanduíche quantitativo, utilizando a metodologia descrita em *kit* comercial Biomatik® (EKC31515). Para leptina, também foi mensurada pela técnica de imunoensaio enzimático sanduíche para medição

quantitativa *in vitro*, com a metodologia descrita em *kit* comercial Biomatik® (EKN52148). Por fim, o IGF-I também foi mensurado através da tecnologia de ensaio de imunoabsorção ligado a enzima sanduíche, realizando a metodologia descrita em *kit* comercial Biomatik® (EKC39940).

O soro do colostro foi diluído com PBS (solução salina tamponada com fosfato) na proporção de 1:1 para dosagem da leptina com resultado expresso em ng/mL, 1:10 para insulina e IGF-I, sendo os resultados expressos em μ IU/ml e ng/dL, respectivamente.

2.2.3 Análises sanguíneas

Imediatamente após a coleta foi verificado a glicemia dos animais através do glicosímetro portátil (Accu Check Active Roche®). Para tal, foi colocado uma gota de sangue na tira reagente do aparelho. O resultado da glicemia foi expresso em mg/dL. Após a centrifugação e separação do soro, realizou-se a análise da proteína plasmática total através de refratometria, no qual os resultados foram expressos em g/dL. Após, o soro foi encaminhado para congelamento a -80°C.

Para realizar as análises bioquímicas, o soro do sangue foi descongelado em temperatura ambiente, no momento da análise. A mensuração de colesterol e triglicerídeo foi realizada pelo método enzimático colorimétrico, seguindo a metodologia descrita no *kit* comercial padrão da marca Ebram® em analisador bioquímico semiautomático BIO-200.

As análises de insulina, IGF-I e leptina foram realizadas através do teste de ELISA, utilizando-se o mesmo *kit* e metodologia citada anteriormente na análise do soro do colostro. Para insulina e leptina não houve necessidade de diluição do soro, sendo necessário apenas para o teste de IGF-I, o qual se realizou uma diluição de 1:5 para detecção das concentrações. Os resultados para leptina foram expressos em ng/mL, para IGF-I foram expressos em ng/dL, e a insulina expressa em μ IU/ml.

2.2.4 Acompanhamento do desempenho

Todos os cordeiros ao nascimento foram pesados e acompanhados até os 45 dias de vida. A pesagem foi realizada em uma balança tipo gaiola e móvel, modelo 602/SM, com plataforma suspensa de 1,50 x 0,50 m e capacidade máxima de 300 kg. Essas pesagens foram

realizadas em cinco momentos, ao nascimento, aos sete dias, 15 dias, 30 dias e 45 dias de idade (PN, P7, P15, P30, P45, respectivamente).

2.2.5 Análise estatística

Os resultados obtidos das análises sanguíneas, de colostro e pesagens dos grupos foram submetidos a análises estatísticas, as quais foram conduzidas por meio de testes que avaliam a variação das variáveis entre os grupos estudados. A avaliação estatística foi realizada utilizando o programa GraphPad Prism 6, aplicando-se o teste t de Student, que permitiu a comparação entre duas médias com um intervalo de confiança de 95% ($P \leq 0,05$). Para avaliação de uma possível correlação entre os metabólitos analisados no colostro com o desempenho e metabólitos plasmáticos dos cordeiros, os dados das parturientes foram pareados com os dados dos cordeiros e aplicado a função correlação do programa GraphPad Prism 6.

2.3 RESULTADOS

Os dados encontrados para as concentrações de insulina, leptina e IGF-I no colostro estão consubstanciados na Tabela 1.

TABELA 1. Valores médios de Insulina ($\mu\text{IU/mL}$), Leptina (ng/mL) e IGF-I (ng/dL) ($\pm$ desvio padrão) avaliados do colostro do grupo de primíparas (GP), múltiparas (GM) e média geral.

	Insulina ($\mu\text{IU/mL}$) $\pm$ DP	Leptina (ng/mL) $\pm$ DP	IGF-I (ng/dL) $\pm$ DP
GP	475,99 $\pm$ 302,01	0,10 $\pm$ 0,02 ^a	4,03 $\pm$ 1,86
GM	496,94 $\pm$ 332,62	0,08 $\pm$ 0,02 ^b	4,68 $\pm$ 0,93
Geral	485,97 $\pm$ 309,04	0,09 $\pm$ 0,02	4,34 $\pm$ 1,50

Letras diferentes na mesma coluna denotam que houve diferença significativa entre o grupo de primíparas e múltiparas ($p < 0,05$).

Fonte: A autora.

As concentrações de insulina e IGF-I, tanto para o colostro de primíparas quanto para o de múltiparas, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). Entretanto diferença foi observada na concentração de leptina, sendo que as primíparas apresentam maiores concentrações no colostro do que as múltiparas ($p < 0,05$).

Na avaliação da bioquímica sérica materna, imediatamente após o parto, ambos os grupos tiveram dados similares, exceto na dosagem de colesterol na qual as primíparas apresentaram valores de colesterol maiores do que as múltiparas ($p < 0,05$), conforme observado na Tabela 2.

TABELA 2. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) das variáveis sanguíneas das mães avaliadas no grupo de primíparas (GP), múltiparas (GM) e média geral.

	Glicemia (mg/dL) $\pm$ DP	PPT REF ¹ (g/dL) $\pm$ DP	PPT BIO ² (g/dL) $\pm$ DP	Colesterol (mg/dL) $\pm$ DP	Triglicerídeo (mg/dL) $\pm$ DP
GP	175,92 $\pm$ 51,34	8,05 $\pm$ 0,67	6,81 $\pm$ 0,69	72,37 $\pm$ 20,78 ^a	28,95 $\pm$ 16,42
GM	181,10 $\pm$ 44,85	8,50 $\pm$ 0,64	7,25 $\pm$ 0,81	55,13 $\pm$ 17,32 ^b	23,78 $\pm$ 5,91
Geral	178,27 $\pm$ 47,43	8,25 $\pm$ 0,68	7,01 $\pm$ 0,76	64,53 $\pm$ 20,78	26,60 $\pm$ 12,77

Letras diferentes na mesma coluna) denotam que houve diferença significativa entre o grupo de primíparas e múltiparas ($p < 0,05$).

¹Proteína plasmática total pelo método de refratometria

²Proteína plasmática total pelo método bioquímico de biureto

Fonte: A autora.

Os dados para dosagem de insulina, leptina e IGF-I no soro de cordeiros estão apresentados na Tabela 3. Os valores de insulina foram significativamente maiores em cordeiros oriundos de múltiparas do que os oriundos de primíparas ($p < 0,05$). Essas diferenças ocorreram no H0 (imediatamente após o parto). Após a ingestão do colostro, os valores de insulina foram iguais significativamente e apresentaram dados muito variáveis em ambos os grupos.

Os valores de leptina apresentam maiores concentrações em cordeiros de múltiparas no H0 e H12, ocorrendo no H24 uma inversão, na qual a concentração maior ocorreu no grupo de cordeiros de primíparas, demonstrando diferenças significativas em todos os tempos avaliados ($p < 0,05$). Os valores de IGF-I foram iguais em ambos os grupos e nos tempos mantém o mesmo comportamento de redução dos valores de IGF-I.

TABELA 3. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) das variáveis sanguíneas dos cordeiros filhos de primíparas (CP), múltiparas (CM) e média geral, nos tempos de 0, 12 e 24 horas (H0, H12 e H24, respectivamente).

		Insulina (μ U/mL) $\pm$ DP	Leptina (ng/mL) $\pm$ DP	IGF-I (ng/dL) $\pm$ DP
CP	H0	0,53 $\pm$ 0,74 ^a	0,11 $\pm$ 0,02 ^a	2,96 $\pm$ 0,81
	H12	10,98 $\pm$ 12,78	0,14 $\pm$ 0,02 ^a	2,47 $\pm$ 0,76
	H24	8,87 $\pm$ 9,35	0,16 $\pm$ 0,01 ^a	2,24 $\pm$ 0,74
CM	H0	2,47 $\pm$ 1,45 ^b	0,14 $\pm$ 0,01 ^b	3,12 $\pm$ 0,77
	H12	22,18 $\pm$ 29,39	0,15 $\pm$ 0,01 ^b	2,50 $\pm$ 1,02
	H24	16,56 $\pm$ 30,66	0,14 $\pm$ 0,02 ^b	2,37 $\pm$ 1,11
Geral	H0	1,50 $\pm$ 1,50	0,12 $\pm$ 0,02	3,04 $\pm$ 0,77
	H12	16,58 $\pm$ 22,85	0,15 $\pm$ 0,02	2,48 $\pm$ 0,88
	H24	12,72 $\pm$ 22,46	0,15 $\pm$ 0,02	2,30 $\pm$ 0,91

Letras diferentes na mesma coluna e tempo (H0, H12, H24) denotam que houve diferença significativa entre o grupo de cordeiros de primíparas e múltiparas ($p < 0,05$).

Fonte: A autora.

Mesmo o colostro apresentando altas concentrações de insulina, não foi observado aumento na concentração plasmática. Desta forma, sua ação deve estar relacionada ao epitélio intestinal. O mesmo podemos observar para IGF-I, apesar do colostro apresentar maiores concentrações que os níveis plasmáticos de cordeiro, após a mamada, os níveis séricos não aumentaram e ainda tenderam a baixar.

Os resultados para bioquímica nos cordeiros estão agrupados na Tabela 4. Em nenhum momento os grupos tiveram valores bioquímicos estatisticamente diferentes, quando comparados com os grupos primíparas e múltiparas em mesmo tempo de coleta. Ao contrário do esperado, as concentrações de insulina, leptina e IGF-I não tiveram nenhuma correlação com valores maiores ou menores dos metabólitos estudados.

Os valores de glicose dobraram em cordeiros de primíparas e múltiparas após a ingestão do colostro e se mantiveram próximos a 100mg/dL. A PPT também tem um comportamento de aumentar pós mamada, o que demonstra a absorção do colostro.

TABELA 4. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) das variáveis sanguíneas dos cordeiros filhos de primíparas (CP), múltiparas (CM) e média geral dos cordeiros (MG), avaliados nos tempos de 0, 12, 24, 48 e 168 horas (H0, H12, H24, H48 e H168, respectivamente).

		H0	H12	H24	H48	H168
CP	Glicemia (mg/dL)	43,08 $\pm$ 15,35	107,38 $\pm$ 31,60	106,77 $\pm$ 18,25	102,31 $\pm$ 25,26	87,31 $\pm$ 28,70
	PPT REF (g/dL)	6,29 $\pm$ 0,50	9,34 $\pm$ 1,21	9,32 $\pm$ 1,30	9,20 $\pm$ 1,09	8,52 $\pm$ 0,87
	Colesterol (mg/dL)	42,86 $\pm$ 8,00	63,91 $\pm$ 30,50	64,01 $\pm$ 16,22	130,23 $\pm$ 31,07	99,45 $\pm$ 27,31
	Triglicerídeo (mg/dL)	63,38 $\pm$ 24,77	139,56 $\pm$ 168,43	91,68 $\pm$ 49,61	95,83 $\pm$ 45,09	90,35 $\pm$ 37,87
CM	Glicemia (mg/dL)	41,93 $\pm$ 19,41	97,86 $\pm$ 39,52	112,21 $\pm$ 14,44	91,43 $\pm$ 17,67	91,29 $\pm$ 13,70
	PPT REF (g/dL)	6,39 $\pm$ 0,24	8,59 $\pm$ 0,98	8,97 $\pm$ 0,81	8,73 $\pm$ 0,69	8,01 $\pm$ 0,33
	Colesterol (mg/dL)	30,57 $\pm$ 10,98	61,22 $\pm$ 18,20	71,44 $\pm$ 23,42	129,14 $\pm$ 29,46	96,31 $\pm$ 18,01
	Triglicerídeo (mg/dL)	63,37 $\pm$ 50,63	200,04 $\pm$ 284,29	111,49 $\pm$ 42,18	102,53 $\pm$ 33,81	103,70 $\pm$ 41,27
Geral	Glicemia (mg/dL)	42,48 $\pm$ 17,25	102,44 $\pm$ 35,57	109,59 $\pm$ 16,30	96,67 $\pm$ 21,94	89,37 $\pm$ 21,87
	PPT REF (g/dL)	6,34 $\pm$ 0,38	8,95 $\pm$ 1,14	9,14 $\pm$ 1,07	8,96 $\pm$ 0,92	8,26 $\pm$ 0,69
	Colesterol (mg/dL)	36,48 $\pm$ 11,36	62,52 $\pm$ 24,43	67,86 $\pm$ 20,25	129,66 $\pm$ 29,66	97,82 $\pm$ 22,56
	Triglicerídeo (mg/dL)	63,38 $\pm$ 39,56	172,13 $\pm$ 235,49	101,95 $\pm$ 46,12	99,30 $\pm$ 39,01	97,27 $\pm$ 39,49

Fonte: A autora

Na tabela 5 pode-se observar o ganho de peso médio entre os períodos dos cordeiros dos dois grupos.

TABELA 5. Média de ganho de peso em quilogramas ($\pm$ desvio padrão) de cordeiros de primíparas (CP), múltiparas (CM) e média geral, nos períodos de 0 a 7 dias, 7 a 15 dias, 15 a 30 dias e 30 a 45 dias.

	0 a 7 d $\pm$ DP	7 a 15 d $\pm$ DP	15 a 30 d $\pm$ DP	30 a 45 d $\pm$ DP
CP	0,290 $\pm$ 0,11 ^a	0,309 $\pm$ 0,14 ^a	0,231 $\pm$ 0,13 ^a	0,285 $\pm$ 0,11 ^a
CM	0,314 $\pm$ 0,15 ^b	0,434 $\pm$ 0,11 ^b	0,270 $\pm$ 0,11 ^b	0,189 $\pm$ 0,16 ^b
Geral	0,300 $\pm$ 0,13	0,374 $\pm$ 0,14	0,250 $\pm$ 0,14	0,226 $\pm$ 0,14

Letras diferentes na mesma coluna denotam que houve diferença significativa entre o grupo de cordeiros primíparas e múltiparas ($p < 0,05$).

Fonte: A autora.

Nota-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) em todos os períodos. Cordeiros de múltiparas obtiveram maiores ganhos de peso nos primeiros 30 dias. Já na avaliação 30 a 45 dias, o maior ganho de peso ocorreu no grupo dos cordeiros das primíparas ($p < 0,05$). Neste momento, o ganho médio foi de 96 gramas em relação ao grupo das múltiparas. Este ganho compensatório no final pode estar relacionado ao manejo com *creep feeding* onde a ração era disponibilizada *ad libitum*. Não houve diferença na pesagem final entre cordeiros de múltiparas e primíparas ($p > 0,05$).

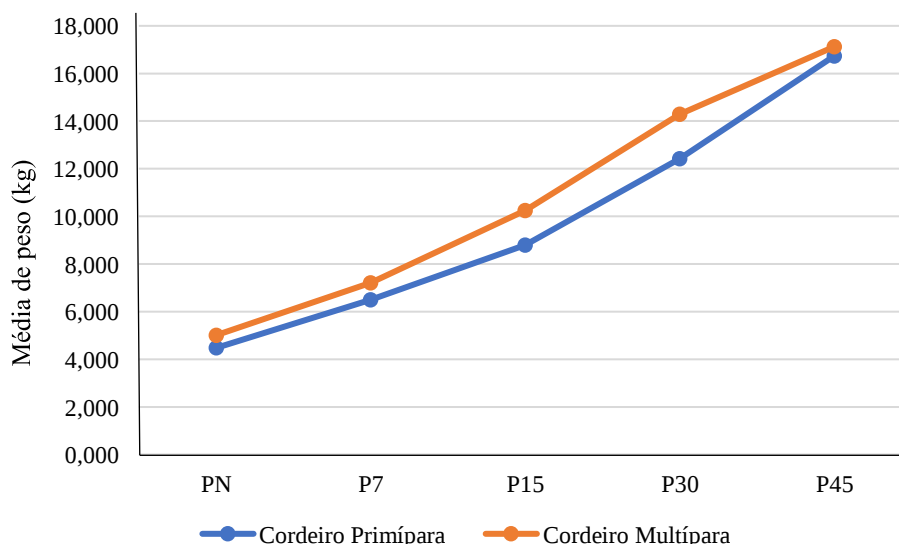
As médias das cinco pesagens dos cordeiros, filhos de primíparas e múltiparas, estão dispostas na Tabela 6. Cordeiros provenientes de mães múltiparas apresentaram pesos mais elevados em relação aos filhos de mães primíparas, mas sem diferença estatística. Entretanto, ao observar o gráfico de média de peso dos grupos (Figura 2), nota-se que apesar de o grupo dos cordeiros filhos de múltiparas se apresentarem mais pesados, estes não ficam muito distante do grupo dos cordeiros de primíparas, principalmente quando se observa o peso aos 45 dias, onde as médias estão muito próximas.

TABELA 6. Média de pesos em quilogramas ($\pm$ desvio padrão) de cordeiros de primíparas (CP), múltiparas (CM) e média geral referente aos pesos ao nascimento (PN), peso aos 7 dias (P7), peso aos 15 dias (P15), peso aos 30 dias (P30) e peso aos 45 dias (P45).

	PN $\pm$ DP	P7 $\pm$ DP	P15 $\pm$ DP	P30 $\pm$ DP	P45 $\pm$ DP
CP	4,475 $\pm$ 1,07	6,492 $\pm$ 1,63	8,792 $\pm$ 2,37	12,425 $\pm$ 3,90	16,733 $\pm$ 5,02
CM	5,008 $\pm$ 1,22	7,208 $\pm$ 2,15	10,246 $\pm$ 2,58	14,292 $\pm$ 4,08	17,123 $\pm$ 4,33
Geral	4,752 $\pm$ 1,16	6,862 $\pm$ 1,91	9,548 $\pm$ 2,54	13,396 $\pm$ 4,03	16,936 $\pm$ 4,58

Fonte: A autora

FIGURA 2. Média de peso (kg) do grupo de cordeiros filhos de primíparas e multíparas referente aos pesos ao nascimento (PN), peso aos 7 dias (P7), peso aos 15 dias (P15), peso aos 30 dias (P30) e peso aos 45 dias (P45)



Fonte: A autora

Na avaliação da correlação da concentração de insulina, IGF-1 ou leptina do colostro com os parâmetros bioquímicos sanguíneos de cordeiros ou com o desempenho não foi encontrado nenhuma correlação positiva. Em todos os resultados as correlações foram nulas ou fracas.

2.4 DISCUSSÃO

A insulina é um hormônio presente em abundância no colostro, podendo apresentar concentrações elevadas em comparação ao plasma (Zinicola; Bicalho, 2019; Hillebrant, 2022). Sua presença tanto no colostro, quanto no leite é devido a glândula mamária possuir diversos receptores, permitindo que a insulina proveniente do sangue se internalize e seja degradada pelos lisossomos (Aranda *et al.*, 1991). Com potencial de se acumular na glândula mamária no pré-parto, durante a fase final da gestação, pode apresentar quantidades de três a 10 vezes superior quando comparado aos valores presente no leite (Odle; Zijlstra; Donovan, 1996).

Zinicola e Bicalho (2019) em seu estudo com bovinos leiteiros, observaram concentrações de insulina no colostro de primíparas cerca de duas vezes mais em comparação as multíparas, diferentemente do encontrado no presente trabalho, em que não obtivemos diferenças entre os grupos. Apesar do conhecimento sobre as grandes concentrações de insulina

presente no colostro, ainda não é certo no que se refere ao mecanismo de seu transporte e sua taxa de degradação durante a produção do mesmo (Mann *et al.*, 2016).

Apesar de não mensurados no presente trabalho, a leptina plasmática sofre influência da composição corporal materna (Pereira, 2014), pois acredita-se que os níveis de leptina são influenciados pela nutrição, fatores hormonais e principalmente pela adiposidade (Cnop *et al.*, 2002). Xu *et al.* (2009) observaram em seu estudo, que ratas em lactação possuem níveis muito baixos de leptina e insulina, mas que com a retirada dos filhotes, durante a lactação, houve um aumento rápido da leptina, sendo maior que os níveis normais, o que provavelmente refletiu no elevado estoque de gordura corporal. Em ovelhas adultas foi relatado que a concentração plasmática de leptina está correlacionada com a gordura corporal e o escore de condição corporal (Blache *et al.*, 2000; Delavaud *et al.*, 2000). Já em outro estudo, sugere-se que a produção de leptina durante a lactação poderia estar sendo inibida de maneira ativa devido o gasto de energia devido a lactação e não pelo consumo das reservas de gordura (Vernon *et al.*, 2002).

O tecido adiposo branco é o principal local de produção da leptina, mas que também é expresso em outros tecidos, como os tecidos placentário e fetais, estômago, músculo e até mesmo na glândula mamária (Andrews, 1998). Bonnet *et al.* (2002) ao examinar a capacidade da glândula mamária ovina de sintetizar leptina durante a gestação e lactação, observaram mudanças na expressão do seu gene e receptor. Na primeira metade da gestação houve a maior expressão, detectada nos adipócitos mamários, mas que diminui logo após esta fase. Ao final da gestação, sua expressão gênica aumentou, mas de maneira suscinta, porém, agora nas células epiteliais. Já durante a lactação, apresentou-se nas células mioepiteliais. Assim, apesar das mudanças na localização e expressão, há produção de leptina no tecido mamário, mesmo sendo um sistema complexo. Com isso, podemos inferir que a leptina presente no colostro, relatada neste trabalho, pode estar relacionada tanto a produção local, quanto a um possível aumento na secreção de leptina na corrente sanguínea, chegando ao sistema mamário. No entanto, a contribuição dessas fontes ainda não está completamente esclarecida (Pinotti; Rossi, 2006).

Leroith e Raizada (1989) relatam que os peptídeos, como o IGF, se acumulam na glândula mamária pouco antes do parto, permanecendo nos espaços alveolares e ficando prontamente disponíveis para o neonato através do colostro. Ainda que os meios utilizados pelo IGF-I para chegar à secreção mamária não estejam esclarecidos por completo, estudos apontam

que este o IGF-I sanguíneo e o fluxo de sangue contribuem para aumentar sua concentração (Baumrucker; Blum, 1993).

Níveis plasmáticos de IGF-I das parturientes não foram avaliados, mas estudo com bovinos mostrou que primíparas apresentaram maiores concentrações plasmáticas (Taylor *et al.*, 2004), apontando que os níveis deste bioativo pode ser influenciado pela paridade (Ontsouka; Albrecht; Bruckmaier, 2016). Entretanto, esta condição não se aplicou com as ovelhas do presente trabalho, as quais não apresentaram diferença na concentração de IGF-I no colostro, ficando com valores muito próximos.

Os valores de referência dos metabólitos para ovinos, podem ser encontrados na literatura. Porém, estes se baseiam em valores de dados internacionais e não se considera as diferenças entre as categorias. É importante ressaltar que os níveis de metabólitos podem variar de acordo com diversos fatores, como idade e estado fisiológico, o que torna a interpretação dos resultados de um perfil metabólico complexo para determinar uma referência específica (González; Scheffer, 2002; Peixoto; Osório, 2007).

Os dois grupos das mães, os níveis glicêmicos apresentaram-se muito elevados em relação à literatura, chegando ao dobro de valores encontrados por Kaneko *et al.* (2008) que variam de 50 a 80 mg/dL e Silva *et al.* (2020) que se apresentaram entre 30 e 84 mg/dL. A estabilidade glicêmica dos ruminantes é responsável pela manutenção da concentração da glicose plasmática (Gressler *et al.*, 2015). Entretanto, alterações na sua concentração plasmática podem ocorrer devido às mudanças fisiológicas, como a prenhez, fatores ambientais, tal como estresse, que altera a dinâmica hormonal que regula a gliconeogênese e a utilização celular da glicose, elevando sua concentração (Kozloski, 2017).

Santos *et al.* (2006) e Araujo *et al.* (2014) também observaram hiperglicemia em ovelhas no momento do parto, independente da sua ordem de parto. Os elevados níveis de glicose sanguínea dessas fêmeas podem estar relacionados ao aumento das concentrações de glucagon e glicocorticoides que acarretam a depleção dos estoques de glicogênio hepático (Grummer, 1995) ou até mesmo em decorrência da liberação de glicocorticoides como sinalizador do parto de ovinos (González, 2000), como o cortisol. Segundo Reece (2007), o cortisol aumenta no final da gestação, devido a sua função de sinalizador no momento do parto. Estudo conduzido por Khan e Ludri (2002) com cabras prenhas, demonstraram que até dois dias pré-parto estes animais possuem níveis plasmáticos baixos de cortisol, aumentando um dia pré-parto e de maneira abrupta, chegando ao pico no momento do parto. Além disso, é importante

ressaltar que os níveis de cortisol tendem a aumentar em situações de estresse (Ford *et al.*, 1990), como o trabalho de parto, o que também contribui para elevação dos glicocorticoides plasmáticos e consequentemente o aumento dos níveis glicolíticos.

Os valores encontrados de colesterol das puérperas estavam dentro dos referidos pela literatura onde sem obtiveram uma variação de 30 a 94 mg/dL (Kaneko *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2020). Entretanto, os valores se apresentaram diferentes entre os grupos, tendo sido maiores na categoria das primíparas. Os níveis de colesterol plasmático demonstram ser um meio adequado para avaliar o balanço energético (Silva, 2013), já que nos ruminantes sua biossíntese ocorre principalmente no intestino delgado e no tecido adiposo, através do acetil-CoA de origem do ácido acético, que é produto da fermentação da fibra no rúmen (Kaneko *et al.*, 2008). Assim podemos sugerir que uma das hipóteses para esses maiores valores no referido grupo seja a preferência dessas borregas pela alimentação por forragens, apesar de ambas participarem do mesmo sistema de criação (semi-intensivo).

Contudo, uma segunda hipótese é possível, a qual pode estar relacionada ao estresse no momento do parto. Animais de primeira cria tendem a possuir níveis elevados de estresse em comparação a múltíparas, devido a inexperience em lidar com o processo de parto, já que não possuem familiaridade as sensações associadas ao nascimento. Em estudo realizado por Cezar *et al.* (2015) com ratas, observaram que a experiência reprodutiva pode interferir diretamente na percepção nociceptiva, ou seja, ao processo de dor, sentindo muito menos ao estímulo hiperalgésico mecânico. Com elevados níveis de estresse, ocorre uma liberação hormonal entre estes hormônios o cortisol, que é responsável por diversos efeitos no organismo, dentre eles, as modificações no metabolismo do colesterol e da glicose, na regulação do equilíbrio de fluídos e com o papel na resposta imunológica, principalmente nos efeitos antiinflamatórios (Roberts; Mcwade, 2021). Com isso, uma vez que o colesterol desempenha um papel fundamental como precursor para a síntese do cortisol, é possível relacionarmos que com o aumento dos níveis séricos de cortisol, podem estar relacionados ao aumento do colesterol total. Esta relação já foi observada em estudos anteriores, como de Catarina-Romero *et al.* (2013), o qual demonstraram uma correlação positiva entre o estresse e o distúrbio lipídico em humanos, destacando-se o aumento do colesterol total.

Os níveis de triglicerídeos das ovelhas avaliadas permaneceram dentro do citado por Kaneko *et al.* (2008) onde ficam na faixa de 9 a 30 mg/dL e por Silva *et al.* (2020) de 5 a 71 mg/dL, o que pode estar relacionado ao adequado aporte nutricional fornecido a estes animais,

já que além da disponibilidade do pasto, recebiam suplementação de silagem de milho e concentrado (cerca de 1% do peso corporal). Os triglicerídeos desempenham um papel crucial como fonte de energia metabólica celular e são armazenados no tecido adiposo, que constitui o principal local de metabolismo endógeno desses lipídios em ruminantes. Quando ocorre uma demanda energética no corpo, os triglicerídeos são mobilizados a partir do tecido adiposo para atender a essa necessidade (Mendoza-Martinez *et al.*, 2008). Vale ressaltar que assim como outros parâmetros, os valores de triglicerídeos podem modificar com as alterações fisiológicas, como gestação, parto e lactação, sendo importante observar os valores referência específico para cada fase (Pogliani; Birgel, 2007).

As PPT desempenham papéis cruciais no transporte de nutrientes, metabólitos, hormônios e produtos de excreção (Varanis, 2018). No entanto, ao contrário dos achados deste estudo, onde os valores seja por refratometria ou por bioquímico estavam dentro dos parâmetros da literatura (6 a 7,9 e 3,1 a 10,7 g/dL, respectivamente) (Kaneko *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2020). A diminuição dos níveis de PPT pode ser indicativa de deficiências alimentares, hemorragias e parasitismo. Nessas condições, o organismo pode degradar as proteínas de reserva dos músculos e do fígado, utilizando-as como fonte de glicose, resultando em uma diminuição na osmolaridade do plasma (González; Silva, 2006), condição que não ocorreu no decorrer deste trabalho.

Os parâmetros bioquímicos são importantes instrumento de avaliação da condição de saúde dos animais. Entretanto, como esperado, os níveis séricos de insulina, glicose, colesterol, triglicerídeos e PPT em cordeiros H0 foram baixos, mas aumentaram após a colostragem, resultados que corroboram com outros estudos (Zhu, *et al.*, 2021; Hammon; Blum, 1998; Tsiligianni; Dovolou; Amiridis, 2012; Hernández-Castellano *et al.*, 2015), portanto, demonstrando que o organismo obteve mesmo comportamento que em estudos anteriores.

Os níveis plasmáticos de insulina podem ser prejudicados devido à importância da glicose como fator de estímulo para sua secreção. Em razão a sua relevância, níveis baixos de glicose podem resultar em ausência da secreção de insulina. Em ovinos, foi observado que não houve praticamente nenhuma secreção de insulina com valores abaixo de 2,2 mmol/L, ou seja, 39,6 mg/dL, pois não se tem estimulação pancreática de glicose para a sua secreção (Berne; Levy, 2004). Portanto, podemos deduzir que no H0, as baixas concentrações de insulina decorrem em razão dos baixos valores de glicose plasmática observado.

De acordo com Svendsen *et al.* (1986) a insulina pode regular a permeabilidade intestinal, induzindo a síntese de proteínas estruturais na membrana do enterócito. Estudos também indicam que a insulina afeta a transferência de macronutrientes em bezerros neonatos, retardando o tempo de fechamento intestinal, embora não tenha impacto nas concentrações de pico de IgG (Hare *et al.*, 2023b). No entanto, um estudo recente de Hare *et al.* (2023b), demonstrou que a suplementação de insulina no colostro de fêmeas não influenciou a absorção de IgG em bezerros neonatos da raça Holandesa, indicando que as concentrações elevadas de insulina colostral não representam um fator de risco para a má transferência de imunidade passiva, fator de importância quando se trata de cordeiros neonatos. Com essas informações pode-se sugerir que comportamento semelhante ocorra nos ovinos, pois mesmo o colostro tendo altas concentrações de insulina, se essa fosse totalmente absorvida, induzira uma hipoglicemia pós prandial, demonstrando assim que a ação ocorre nas células intestinais.

Sabe-se que os níveis circulantes de insulina afetam diretamente nos níveis circulantes de IGF-I. A insulina é um hormônio presente em abundância no colostro, desempenhando um papel fundamental em conjunto com a somatotropina e o IGF-I, atuando na regulação do metabolismo energético, crescimento corporal e desenvolvimento de tecidos e órgãos, incluindo a maturação, crescimento e desenvolvimento do trato gastrointestinal do lactente (Blättler *et al.*, 2001; Blum; Hammon, 2000; Morise *et al.*, 2008). De acordo com Elfstrand *et al.* (2002), o IGF-I como um dos componentes importantes do colostro, sofre um declínio significativo para 16% do nível inicial ao longo de um período de quatro dias quando consumido até seis horas após o parto, o que se torna outro ponto importante no que diz respeito a colostragem eficiente.

A absorção dos IGFs e do GH do colostro é facilitada pela baixa acidez gástrica e pela quase ausência de atividade de digestão proteolítica durante as primeiras horas após o nascimento, permitindo que os fatores de crescimento alcancem o intestino sem serem digeridos. No trato gastrointestinal, o transporte e absorção dos IGFs colostral ocorre de maneira semelhante às imunoglobulinas, durante a fase neonatal (Pácha, 2000; Cardoso *et al.*, 2021). Os IGF tipo I e II presentes no colostro são eficientemente absorvidos em ambientes de baixa acidez na membrana apical do enterócito, desempenhando seu papel na diferenciação celular e no crescimento, com o auxílio dos fatores imunes presentes no colostro que protegem a integridade da mucosa, conforme apontado por Hammon *et al.* (2016) e Yang *et al.* (2015).

A insulina atua como um hormônio anabólico, promovendo a captação de glicose pelos tecidos, inclusive no tecido adiposo. Ela sinaliza a disponibilidade de energia no organismo,

desencadeando também a liberação de leptina para indicar a sensação de saciedade (Pereira, 2014). Apesar de suas diferenças, tanto a leptina quanto a insulina desempenham papéis importantes como sinalizadores para o cérebro, influenciando a ingestão alimentar e o gasto energético por meio da ativação dos neuropeptídeos hipotalâmicos, podendo ser considerados "sinalizadores de adiposidade corporal" (Benatti; Lancha Jr., 2007).

A colostragem promove impactos no desenvolvimento pós-natal e na homeostase da glicose em diversas espécies (Savino *et al.*, 2011), fato que explica o aumento significativo da glicemia dos cordeiros após o H0. Ao nascimento, os níveis de glicose se apresentam baixos (Kurz; Willet, 1991). Imediatamente pós-parto, o suprimento de glicose dos cordeiros muda de parental, via placenta, para suprimento de lactose, via alimentação colostrar e por leite (Aynsley-Green, 1998; Girard *et al.*, 1992). Entretanto, este suprimento não é o suficiente para atender a demanda de glicose do neonato, sendo as glicogenólise e a gliconeogênese vias importantes para manter a glicemia (Girard, 1990). Com isso, podemos inferir que os resultados do aumento dos valores de glicose nos demais tempos (H12; H24; H48 e H168) podem ser atribuídos aos níveis pós-prandiais, considerando que o horário da última mamada não foi precisamente conhecido no momento das coletas.

O colostro é uma secreção rica em componentes, entre eles a presença de proteínas, as quais são mais elevadas do que o leite (Wang *et al.*, 2020; Plyford; Weiser, 2021). As proteínas do colostro possuem mais funções devido ao conteúdo de aminoácidos, além de ser relatadas para aumentar a proteína total no sangue de cordeiros recém-nascidos (Zhu *et al.*, 2021), auxiliam na defesa natural extra (Hernández-Castellano *et al.*, 2014) e os aminoácidos são benéficos para o desenvolvimento e crescimento pós-natal (O'Callaghan *et al.*, 2021). Os ruminantes não recebem proteínas suficientes por via transplacentária, assim ao nascer os níveis plasmáticos são baixos (Silva *et al.*, 2011), vindo a aumentar pós-colostragem. Os cordeiros ao ingerir colostro tiveram aumento dos valores de PPT, resultado que nas primeiras horas de vida, pode estar diretamente atribuído ao aumento das concentrações de globulinas totais no sangue (Souza *et al.*, 2018).

Outros fatores como colesterol e triglicerídeos também tiveram o mesmo comportamento de elevar sua concentração pós-colostragem. Valores obtidos no presente trabalho apresentaram-se similares tanto pré quanto pós ingestão do colostro com os obtidos por Souza *et al.* (2014) também avaliando cordeiros. Cabritos neonatos também possuem baixas concentrações de triglicerídeos e de colesterol total, sendo próximas aos valores de caprinos

adultos, mas aumentando significativamente após a ingestão do colostro (Bennis *et al.*, 1992). Os baixos níveis séricos desses dois componentes podem ser devido a escassa produção endógena de ácidos graxos durante a vida fetal, e com o consumo do colostro, se tenha contribuição direta de nutrientes. Ainda, constata-se que cordeiros que ingerem quantidades satisfatórias de colostro apresentam hipertrigliceridemia, além do aumento nas concentrações de colesterol (Noble, 1979).

O colostro também tem papel fundamental quando se trata do desempenho de crescimento da prole, já que está relacionado à disponibilidade de nutrientes no intestino, metabolismo e crescimento desses mamíferos (Abdelsattar *et al.*, 2022). Estudos mostram que a ingestão adequada de colostro garantiu à bezerras um melhor ganho de peso corporal nos primeiros oito dias (Yang *et al.*, 2015), bem como maior ganho de peso no pré-desmame (Abuelo *et al.*, 2021), além de gerar benefícios na idade adulta, que melhorarão seu desempenho produtivo (Kargar *et al.*, 2020).

Em contrapartida, boa colostragem não significa cordeiros pesados, já que seu peso também é influenciado pelo seu tamanho. A idade da matriz pode desempenhar um papel significativo no aumento de peso ao nascer dos cordeiros, já que cordeiros nascidos de ovelhas primíparas geralmente apresentam menor peso em comparação com aqueles nascidos de ovelhas múltiparas. Essa diferença de peso pode ser atribuída, em parte, à menor eficiência reprodutiva das borregas em relação às ovelhas adultas, resultando em crias mais leves (Silva, 2013). Dwyer *et al.* (2005) relatam que a paridade da mãe está correlacionada com o peso do cordeiro e da placenta, o que é atribuído à expansão e vascularização progressiva do útero ao longo das gestações, além disso primíparas podem demonstrar tardiamente sua habilidade materna ou até mesmo dificultar o acesso do cordeiro ao úbere (Nowak, 2006). Consequentemente, os cordeiros nascidos com menor peso tendem a apresentar um desempenho inferior durante o período de desmame (Dwyer *et al.*, 2005) ou até mesmo reduzir sua taxa de sobrevivência (Nowak, 2006), contudo nesse trabalho os resultados encontrados demonstram pesos similares dos cordeiros, fato esse atribuído ao sistema de manejo adotado.

No estudo conduzido por Pereira (2014), foi observado em humanos que a menor concentração de leptina no leite materno está associada a um aumento no ganho de peso da prole durante o primeiro trimestre de vida. Esse resultado foi corroborado por vários estudos anteriores (Ilcol *et al.*, 2006; Miralles *et al.*, 2006; Savino; Liguori, 2008; Doneray *et al.*, 2009), nos quais os pesquisadores demonstraram que a presença de leptina no leite pode afetar o estado

nutricional do lactente, ainda, sugere-se que uma menor concentração de leptina possa resultar em um sinal de saciedade reduzido, levando a um maior consumo. Portanto, a idade e ordem de parto da matriz, quanto aos resultados obtidos na concentração do colostro deste trabalho, podem responder em relação ao melhor desempenho dos cordeiros de múltiparas. Entretanto, a média de peso dos 15 aos 30 dias, apesar de diferentes estatisticamente, numericamente ficaram próximas, o que pode estar relacionado ao acesso do *creep-feeding* pelos cordeiros, sendo notado um bom desempenho de cordeiros na média de ganho de peso de primíparas entre 30 e 45 dias de vida.

O *creep-feeding* é uma ferramenta utilizada para suplementação antes da fase de desmame, a fim de obter cordeiros mais pesados e facilitar a adaptação dos mesmos a alimentação sólida (Fernandes, 2021). Uma das alternativas como a utilizada durante a realização deste trabalho, prática a qual sempre foi realizada no local do experimento, foi fornecer no cocho o concentrado, com o objetivo de possibilitar o crescimento acelerado dos cordeiros, tornando-os mais precoces (Neres, 2000). Foi possível observar a importância deste manejo nas últimas coletas de peso, onde se obteve equivalência média de ganho de peso quando comparado os cordeiros mais leves inicialmente em relação aos cordeiros de maior peso no início da vida. Neiva *et al.* (2004) ressaltam que o cocho privativo do *creep-feeding* proporciona um melhor desempenho dos animais ao desmame, além de reduzir o desgaste das matrizes, principalmente quando se trata de ovelhas primíparas.

Além disso, entre a terceira e quarta semana pós-parto, se têm uma redução progressiva na produção leiteira, em contrapartida há um aumento da exigência nutricional dos cordeiros, sendo o cocho privativo uma alternativa que pode trazer vantagens no suprimento das necessidades nutricionais dos cordeiros (Neiva *et al.*, 2004). Este mesmo autor relata que o uso de *creep-feeding* traz a vantagem quando há uma necessidade de compensação na insuficiência da produção de leite nas ovelhas, especialmente em matrizes de partos gemelares e primíparas.

2.5 CONCLUSÃO

Admite-se que em ovinos os valores de insulina presente no colostro de primíparas e múltiparas são iguais, diferente do encontrado em bovinos. Mesmo que a concentração de insulina encontrada no colostro foi muitas vezes maior que no plasma dos cordeiros, podemos afirmar que esta insulina não é absorvida em sua totalidade, pois acarretaria uma hipoglicemia

pós prandial. Desta forma podemos sugerir que a insulina atue no intestino dos cordeiros. Apesar de informações escassas sobre os mecanismos dos parâmetros sanguíneos da espécie ovina, principalmente em relação à cordeiros neonatos, não se obteve alterações desses parâmetros dos cordeiros avaliados. Os compostos bioativos presente no colostro estudados nesta pesquisa não influenciaram o desenvolvimento dos cordeiros. Entretanto, necessita-se de mais estudos para compreensão clara de como o colostro e outros fatores podem afetar os constituintes sanguíneos neonatais, a maturação e desenvolvimento intestinal, bem como o desenvolvimento futuro desses animais.

REFERÊNCIAS

- ABDELSATTAR, M. M. *et al.* An updated and comprehensive review on the composition and preservation strategies of bovine colostrum and its contributions to animal health. **Animal Feed Science and Technology**, v. 291, p. 115379, 2022.
- ABUELO, A. *et al.* Impact of 2 versus 1 colostrum meals on failure of transfer of passive immunity, pre-weaning morbidity and mortality, and performance of dairy calves in a large dairy herd. **Animals**, v. 11, n. 3, p. 782, 2021.
- ALEXANDER, A. N.; CAREY, H. V. Oral IGF-I enhances nutrient and electrolyte absorption in neonatal piglet intestine. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 277, n. 3, p. G619–G625, 1999.
- ANDREWS, J.F. Leptin: energy regulation and beyond to a hormone with pan-physiological function. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 57, n. 3, p. 409–411, 1998.
- ARANDA, P. *et al.* Insulin in Bovine Colostrum and Milk: Evolution Throughout Lactation and Binding to Caseins. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 12, p. 4320– 4325, 1991.
- ARAÚJO, C. A. S. C. *et al.* Perfil energético de ovelhas Santa Inês do terço médio da gestação ao pós-parto. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 12, p. 1251-1257, 2014.
- ARSENAULT, P.; MENARD, D. Stimulatory effects of epidermal growth factor on deoxyribonucleic acid synthesis in the gastrointestinal tract of the suckling mouse. **Comparative Biochemistry and Physiology. B. Comparative Biochemistry**, v. 86, n. 1, p. 123–127, 1987.
- AYNSLEY-GREEN, A. Metabolic and endocrine interrelationships in the human fetus and neonate: An overview of the control of the adaptation to postnatal nutrition. In: B. S. Lindblad, editor, **Perinatal nutrition**. Academic Press, New York, NY. p. 161–191, 1998.

- BAUMRUCKER, C. R.; BLUM, J. R.; BLUM, J. W. Secretion of insulin-like growth factors in milk and their effect on the neonate. **Livestock Production Science**, v. 35, p. 49-72, 1993.
- BENATTI, F. B.; LANCHA JUNIOR, A. H. Leptina e exercício físico aeróbio: implicações da adiposidade corporal e insulina. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 13, n. 4, p. 263-269, 2007.
- BENNIS, A. *et al.* Effects of age of newborn and delivery by female goats on plasma lipids and lipoproteins. **Small Ruminant Research**, v.9, p. 243-253, 1992.
- BERNE, R. M.; LEVY, M. N. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 1082, 2004.
- BERSETH, C. L. Enhancement of intestinal growth in neonatal rats by epidermal growth factor in milk. **American Journal of Physiology**, v. 253, p. G662–G665, 1987.
- BESSI, R. *et al.* Absorção de anticorpos do colostro em bezerros. I. Estudo no intestino delgado proximal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 2314-2324, 2002.
- BLACHE, D. *et al.* Level of nutrition affects leptin concentrations in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. **Journal of Endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 625–637, 2000.
- BLÄTTLER, U. *et al.* Feeding colostrum, its composition and feeding duration variably modify proliferation and morphology of the intestine and digestive enzyme activities of neonatal calves. **The Journal of Nutrition**, v. 131, p. 1256–1263, 2001.
- BLUM, J. W. Nutritional physiology of neonatal calves. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 90, n. 1–2, p. 1–11, 2006.
- BLUM, J. W.; HAMMON, H. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. **Livestock Production Science**, v. 66, p. 151-159, 2000.
- BONNET, M. *et al.* Leptin expression in the ovine mammary gland: putative sequential involvement of adipose, epithelial, and myoepithelial cells during pregnancy and lactation. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 3, p. 723–728, 2002.
- BURRIN, D. G. *et al.* Orally administered IGF-I increases intestinal mucosal growth in formula-fed neonatal pigs. **American Journal of Physiology**, v. 39, p. R1085–R1091, 1996.
- CARDOSO, C. L. *et al.* Antenatal and post-natal influences on neonatal immunity, growth and puberty of calves— a review. **Animals**, v. 11, n. 5, p. 1212, 2021.
- CATALINA-ROMERO, C. *et al.* The relationship between job stress and dyslipidemia. **Scandinavian Journal of Public Health**, v. 41, n. 2, p. 142–149, 2013.

CEZAR, L. C. *et al.* A experiência reprodutiva pode tornar uma mãe mais resistente à dor? Aspectos moleculares, fisiológicos e comportamentais da nocicepção em ratas: papel do receptor opióide tipo delta. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 13, n. 1, p. 51-51, 2015.

CHRISTLEY R. M. *et al.* Factors related to the risk of neonatal mortality, birth-weight and serum immunoglobulin concentration in lambs in the UK. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 57, n. 4, p. 209-226, 2003.

CNOP, M. *et al.* The Concurrent Accumulation of Intra-Abdominal and Subcutaneous Fat Explains the Association Between Insulin Resistance and Plasma Leptin Concentrations: Distinct Metabolic Effects of Two Fat Compartments. **Diabetes**, v. 51, n. 4, p. 1005–1015, 2002.

DELAVALD, C. *et al.* Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. **Journal of Endocrinology**, v. 165, n. 2, p. 519–526, 2000.

DONERAY, H.; ORBAK, Z.; YILDIZ, L. The relationship between breast milk leptin and neonatal weight gain. *Acta Paediatrica*. v. 98, n. 4, p. 643-647, 2009.

DWYER, C. M. *et al.* E. Breed, litter and parity effects on placental weight and placentome number, and consequences for the neonatal behaviour of the lamb. **Theriogenology**, v. 63, n. 4, p. 1092- 1110, 2005.

ELFSTRAND, L. *et al.* Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 11, p. 879–887, 2002.

FERNANDES, M. V. B. Desempenho de cordeiros merino australiano x ideal criados em sistema creep feeding. In: **Anais de IV Seminário do NEPPER**. Anais...Porto Alegre (RS) on line, 2021.

FORD, E. J. H. *et al.* Cortisol in pregnancy toxemia of sheep. **The British veterinary journal**, v. 146, n. 6, p. 539–542, 1990.

GIRARD, J. *et al.* Adaptations of glucose and fatty acid metabolism during perinatal period and suckling-weaning transition. **Physiological reviews**, v. 72, n. 2, p. 507–562, 1992.

GIRARD, J. Metabolic adaptations to change of nutrition at birth. **Biology of the neonate**, 58 Suppl 1, p. 3–15, 1990.

GONZÁLEZ, F. H. D. 2000. Uso do perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte, p.63-74. In: González F.H.D., Barcellos J.O., Ospina H. & Ribeiro L.A.O. (Eds),

Perfil Metabólico em Ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 108p.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica metabólica e nutricional. Avaliação metabólico nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina). In: **Congresso Nacional de Medicina Veterinária**, 2002, Gramado-RS, Brasil. Anais... Gramado-RS: SBMV e SOVERGS, p. 5-17, 2002.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária.** Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 357 p. 2006.

GRESSLER, M. A. L. *et al.* Respostas bioquímicas de ovelhas submetidas à flushing de curto prazo em região subtropical. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 16, n. 1, p. 210–222, 2015.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2820-2833, 1995.

GUERRA, G. A. *et al.* Neonatologia em bezerros: a importância do colostro. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP. **São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária**, v. 15, n. 3, p. 32-41, 2017.

HAMMON, H. M. *et al.* Review: Importance of colostrum supply and milk feeding intensity on gastrointestinal and systemic development in calves. **Animal**, v. 14, n. S1, p. s133–s143, 2020.

HAMMON, H. M. *et al.* LACTATION BIOLOGY SYMPOSIUM: Role of colostrum and colostrum components on glucose metabolism in neonatal calves. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 2, p. 685–695, 2013.

HAMMON, H. M.; BLUM, J. W. Feeding different amounts of colostrum or only milk replacer modify receptors of intestinal insulin-like growth factors and insulin in neonatal calves. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 22, p. 155–168, 2002.

HAMMON, H. M.; BLUM, J. W. Metabolic and endocrine traits of neonatal calves are influenced by feeding colostrum for different durations or only milk replacer. **The Journal of Nutrition**, v. 128, n. 3, p. 624–632, 1998.

HARE, K. S. *et al.* Colostrum insulin supplementation does not influence immunoglobulin G absorption in neonatal Holstein bulls. **JDS Communications**, v. 4, n. 4, p. 313-317, 2023a.

HARE, K. S. *et al.* Colostrum Insulin Supplementation to Neonatal Holstein Bulls Affects Small Intestinal Histomorphology, mRNA Expression, and Enzymatic Activity with Minor Influences on Peripheral Metabolism. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 7, p. 5054–5073, 2023b.

HERNÁNDEZ-CASTELLANO, L. E. *et al.* The Colostrum Proteome, Ruminant Nutrition and Immunity: A Review. **Current Protein & Peptide Science**, v. 15, n. 1, p. 64–74, 2014.

HERNÁNDEZ-CASTELLANO, L. E. *et al.* The effect of colostrum source (goat vs. sheep) and timing of the first colostrum feeding (2h vs. 14h after birth) on body weight and immune status of artificially reared newborn lambs. **Journal of Animal Science**, v. 98, p. 204–210, 2015.

HILLEBRANT, R. S. **Relação da concentração de insulina, igf-1 e leptina no colostro de fêmeas bovinas de corte com metabólitos plasmáticos e desempenho de bezerros**. 2022. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2022.

ILCOL, Y. O.; HIZLI, Z. B.; OZKAN, T. Leptin concentration in breast milk and its relationship to duration of lactation and hormonal status. **International Breastfeeding Journal**, v. 1, p. 21, 2006.

KANEKO, J. J. *et al.* **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6 ed. Amsterdam: Elsevier Inc., 2008.

KARGAR, S. *et al.* Extended colostrum feeding for 2 weeks improves growth performance and reduces the susceptibility to diarrhea and pneumonia in neonatal Holstein dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 103, p. 8130–8142, 2020.

KHAN, J. R. E.; LUDRI, R. S. Hormone profile of crossbreed goats during the periparturient period. **Tropical animal health and production**, v. 34, n. 2, p. 151-162, 2002.

KINDLEIN, L. *et al.* Efeito da suplementação de colostro enriquecido sobre as características morfológicas da mucosa intestinal de bezerros neonatos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, n. 1, p. 31-34, 2008.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3.ed. Rio Grande do Sul: Fundação de Apoio a Tecnologia e Ciência - Editora UFSM, 2017.

KURZ, M. M.; WILLETT, L. B. Carbohydrate, Enzyme, and Hematology Dynamics in Newborn Calves. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 7, p. 2109–2118, 1991.

LEROITH, D. *et al.* Molecular and Cellular Aspects of the Insulin-like Growth Factor I Receptor. **Endocrine Reviews**, v. 16, n. 2, p. 143–163, 1995.

MANN, S. *et al.* Effect of dry period dietary energy level in dairy cattle on volume, concentrations of immunoglobulin G, insulin, and fatty acid composition of colostrum. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 2, p. 1515–1526, 2016.

MENDOZA-MARTINEZ, G. D. *et al.* Manejo nutricional para mejorar la eficiencia de utilización de la energía en bovinos. **Universidad y ciencia**, Villahermosa, v. 24, n. 1, p. 75-8, 2008.

MIRALLES, O. *et al.* A physiological role of breast Milk leptin in body weight control in developing infants. **Obesity**, v. 14, n. 8, p. 1371-7, 2006.

MORETTI, D. B. *et al.* Enzyme activity in the small intestine of goat kids during the period of passive immunity acquisition. **Small Ruminant Research**, v. 105, p. 321–328, 2012.

MORISE, A. *et al.* Growth and development of adipose tissue and gut and related endocrine status during early growth in the pig: Impact of low birth weight. **Animal**, v. 2, n. 1, p. 73-83, 2008.

NEIVA, J. N. M.; CAVALCANTE, M. A. B.; ROGÉRIO, M. C. P. **Uso do creep-feeding na criação de ovinos e caprinos**. Anais do 8º Seminário Nordestino de Pecuária, 2004. FortalezaCE. Anais Seminário Nordestino de Pecuária-PECNORDESTE. Fortaleza: Banco do Nordeste, 2004. v. 8. p. 69-76.

NERES, M. A. *et al.* Desempenho, peso e rendimentos de carcaças de cordeiros criados em creep feeding. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia/ Gnosis, [2000]. Nutrição de Ruminantes, 0934. CD-ROM.

NOBLE, R. C. Lipid metabolism in the neonatal ruminant. **Progress in Lipid Research**, v. 8, n. 4, p. 179-208, 1979.

NOWAK, R.; POINDRON, P. From birth to colostrum: early steps leading to lamb survival. **Reproduction Nutrition Development**, v. 46, n. 4, p. 431-446, 2006.

O'CALLAGHAN, T. F. *et al.* The bovine colostrum and milk metabolome at the onset of lactation as determined by 1 H-NMR. **International Dairy Journal**, v. 113, p. 104881–104881, 2021.

ODLE, J.; ZIJLSTRA, R. T.; DONOVAN, S. M. Intestinal Effects of Milkborne Growth Factors in Neonates of Agricultural Importance. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 25092522, 1996.

ONTSOUKA, E. C.; ALBRECHT, C.; BRUCKMAIER, R. M. Invited review: Growth promoting effects of colostrum in calves based on interaction with intestinal cell surface receptors and receptor-like transporters. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 6, p. 4111-4123, 2016.

ONTSOUKA, E. C.; HAMMON, H. M.; BLUM, J. W. Expression of insulin-like growth factors (IGF)-1 and -2, IGF-binding proteins-2 and -3, and receptors for growth hormone, IGF type-1 and -2 and insulin in the gastrointestinal tract of neonatal calves. **Growth Factors**, v. 22, n. 1, p. 63–69, 2004.

PÁCHA, J. Development of Intestinal Transport Function in Mammals. **Physiological reviews**, v. 80, n. 4, p. 1633–1667, 2000.

PEIXOTO, L. A. O.; OSÓRIO, M. T. M. Perfil metabólico proteico e energético na avaliação do desempenho produtivo em ruminantes. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 13, n. 3, p. 299304, 2007.

PEREIRA, T. A. D. **Concentração de leptina e grelina no sangue e leite materno e sua relação com o estado nutricional da nutriz e do lactante**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência Aplicada a Produtos para Saúde) – Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2014.

PINOTTI, L.; ROSI, F. Leptin in Bovine Colostrum and Milk. **Hormone and Metabolic Research**, v. 38, n. 2, p. 89–93, 2006.

PLAYFORD, R. J.; WEISER, M. J. Bovine Colostrum: Its Constituents and Uses. **Nutrients**, v. 13, n. 1, p. 265, 2021

POGLIANI, F. C.; BIRGEL JUNIOR, E. Reference Values Of The Lipid Profile Of Holstein Cattle Bred In State Of São Paulo. **Brazilian Journal Of Veterinary Research And Animal Science**, v. 44, n. 5, p. 373-383, 2007.

REECE, W. O. Dukes: **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12^a ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro; 2007. 926p.

ROBERTS, C.; MCWADE, B. Messengers of stress: Towards a cortisol sociology. **Sociology of Health & Illness**, v. 43, n. 4, p. 895-909, 2021.

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, n.3, p.168-176, 1988.

SANTOS, J. R. S. *et al.* Respostas fisiológicas e gradientes térmicos de ovinos das raças Santa Inês, Morada Nova e de seus cruzamentos com a raça Dorper às condições do semi árido nordestino. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 5, p. 995-1001, 2006.

SAVINO, F. *et al.* Breast milk hormones and regulation of glucose homeostasis. **International journal of pediatrics**, p. 803985, 2011.

SAVINO, F.; LIGUORI, S. A. Update on breast milk hormones: Leptin, ghrelin and adiponectin. **Clinical Nutrition**, v. 27, p. 42–47, 2008.

SHEHADEH, N.; SUKHOTNIK, I.; SHAMIR, R. Gastrointestinal tract as a target organ for orally administered insulin. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 43, n. 3, p. 276-281, 2006.

SILVA, D. A. P. *et al.* Parâmetros de metabólitos bioquímicos em ovinos criados no Brasil. **Caderno De Ciências Agrárias**, v. 12, p. 1-5, 2020.

SILVA, D. F. M. *et al.* Proteinograma sérico de cordeiros mestiços (Santa Inês x Dorper) do nascimento até o desmame: efeito do desenvolvimento etário e do monitoramento da ingestão de colostro. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n. 4, p. 794-805, 2011.

SILVA, R. S. M. **Comportamento sexual e materno-filial de ovinos da raça Morada Nova em diferentes ordens de parição**. 2013. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2013.

SMEATON, T. C.; SIMPSON-MORGAN, M. W. Epithelial cell renewal and antibody transfer in the intestine of the foetal and neonatal lamb. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, v. 63, n. 1, p. 41-51, 1985.

SOUZA, D. F. *et al.* Dinâmica pré e póscolostral de parâmetros bioquímicos em cordeiros. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, n. 3, p. 313-321, 2014.

SOUZA, D. F. *et al.* Dinâmicas pré e pós-colostral do eritroleucograma, da proteína plasmática total e do fibrinogênio de cordeiros. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, 2018.

SVENDSEN, L. S. *et al.* Insulin involvement in intestinal macromolecular transmission and closure in neonatal pigs. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 5, p. 299–304, 1986.

TAYLOR, V. J. *et al.* Relationships between the plasma concentrations of insulin-like growth factor-I in dairy cows and their fertility and milk yield. **Veterinary Record**, v. 155, n. 19, p. 583-588, 2004

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária: Uma Introdução**. São Paulo: ROCA. 608p, 2009.

TSILIGIANNI, T.; DOVOLOU, E.; AMIRIDIS, G. S. Efficacy of Feeding Cow Colostrum to Newborn Lambs. **Livestock Science**, v. 149, n. 3, p. 305–309, 2012.

VARANIS, L. F. M. **Prospecção de metabólitos sanguíneos referenciais para ovinos em distintas categorias**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Uberlândia, 2018.

VERNON, R. G. *et al.* Leptin and the adaptations of lactation in rodents and ruminants. **Hormone and Metabolic Research**, v. 34, n. 11/12 p. 678–685, 2002.

WANG, X. X. *et al.* Label-free quantitative proteomics analysis reveals the fate of colostrum proteins in the intestine of neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, v.103, p. 10823–10834, 2020.

WESEMANN, D. R. *et al.* Microbial colonization influences early B-lineage development in the gut lamina propria. **Nature**, v. 501, n. 7465, p. 112-115, 2013.

XU, J. *et al.* Regulation of Food Intake and Gonadotropin- Releasing Hormone/Luteinizing Hormone during Lactation: Role of Insulin and Leptin. **Endocrinology**, v. 150, n. 9, p. 4231–4240, 2009.

XU, R. J. Development of the newborn GI tract and its relation to colostrum/milk intake: a review. **Reproduction, fertility, and development**, v. 8, n. 1, p. 35-48, 1999.

YANG, M. *et al.* Colostrum quality affects immune system establishment and intestinal development of neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 7153–7163, 2015.

ZHU, H. L. *et al.* Evaluation of colostrum bioactive protein transfer and blood metabolic traits in neonatal lambs in the first 24 hours of life. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 1, p. 1164–1174, 2021.

ZINICOLA, M.; BICALHO, R. C. Association of peripartum plasma insulin concentration with milk production, colostrum insulin levels, and plasma metabolites of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 2, p. 1473–1482, 2019.

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO PARA USO DE ANIMAIS

05/04/2023, 10:58

SEI/UEPG - 1386777 - Carta



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <https://uepg.br>

CARTA**CARTA DE APROVAÇÃO**

Protocolo UEPG – 22.000052247-0

Título – Influência da concentração de insulina no colostro sobre as concentrações de IGF-1, leptina e perfil metabólico em ovinos.

Interessado – Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski

e-mail: leandrolipinski@yahoo.com.br

Data de Entrada – 08/03/2023

Resultado: Aprovado

Considerações

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CEUA-UEPG) certifica que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa acima especificado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA), estabelecida pelo Conselho Nacional para fins de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal. Dessa forma, fica autorizado o uso de 52 (cinquenta e dois) ovinos, 36 fêmeas e 16 machos.



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Ricardo Vicari, Membro da Comissão - PROPESP/CEUA**, em 31/03/2023, às 10:30, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador **1386777** e o código CRC **9B29ED0**.

22.000052247-0

1386777v2

ANEXO B – COMPOSIÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DO CREEP FEEDING

A composição da suplementação fornecida era formulada e realizada dentro da FESCON. Sua composição está embasada para quantidade final de 500 kg.

Milho triturado	262,5 kg
Farelo de soja	120 kg
Farelo de trigo	100 kg
Bovigold [®]	15 kg
Cloreto de amônia	2,5 kg

BOVIGOLD[®]

Níveis de garantia (por kg do produto):

Cálcio (mín.).....	31,40 g/kg
Cálcio (máx.).....	250,00 g/kg
Fósforo (mín.).....	40,00 g/kg
Enxofre (mín.).....	20,00 g/kg
Magnésio (mín.).....	25,00 g/kg
Potássio (mín.).....	10,00 g/kg
Sódio (mín.).....	70,00 g/kg
Cobalto (mín.).....	15,00 mg/kg
Cobre (mín.).....	750,00 mg/kg
Cromo (mín.).....	20,00 mg/kg
Iodo (mín.).....	40,00 mg/kg
Manganês (mín.).....	2.000,00 mg/kg
Selênio (mín.).....	22,00 mg/kg
Zinco (mín.).....	2.850,00 mg/kg
Vitamina A (mín.).....	350.000,00 UI/kg
Vitamina D3 (mín.).....	100.000,00 UI/kg
Vitamina E (mín.).....	2.000,00 UI/kg

