BRUNA MARCELE MARTINS DE OLIVEIRA

Avaliação do perfil Sanguíneo de vacas prenhes e vazias submetidas à IATF
com sêmen avaliado por sondas fluorescentes e sua relação com
hemodinâmica uterina

PIRASSUNUNGA

2015

BRUNA MARCELE MARTINS DE OLIVEIRA

**Avaliação do perfil sanguíneo de vacas prenhes e vazias submetidas à IATF
com sêmen avaliado por sondas fluorescentes e sua relação com
hemodinâmica uterina**

PIRASSUNUNGA

2015

BRUNA MARCELE MARTINS DE OLIVEIRA

**Avaliação do perfil sanguíneo de vacas prenhes e vazias submetidas à IATF
com sêmen avaliado por sondas fluorescentes e sua relação com
hemodinâmica uterina**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Reprodução Animal

Área de Concentração:

Reprodução Animal

Orientadora:

Profa. Dra. Eneiva Carla Carvalho Celeghini

De acordo: _____

Orientador(a)

Pirassununga
2015

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.3219
FMVZ

Oliveira, Bruna Marcelle Martins de

Avaliação do perfil sanguíneo de vacas prenhes e vazias submetidas à IATF com sêmen avaliado por sondas fluorescentes e sua relação com hemodinâmica uterina / Bruna Marcelle Martins de Oliveira. -- 2015.

166 f. il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, Pirassununga, 2015.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof.^a. Dr.^a. Eneiva Carla Carvalho Celeghini.

1. Perfil metabólico. 2. Perfil hormonal. 3. Proteínas de fase aguda. 4. Ultrassonografia Doppler. 5. Bovinos. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação do perfil sanguíneo de vacas prenhes e vazias submetidas ao protocolo de IATF com sêmen de diferentes qualidades avaliados por associação de sondas fluorescentes", protocolado sob o nº 2528/2012, utilizando 362 (trezentas e sessenta e duas) amostras de soro e plasma sanguíneos de bovinos, sob a responsabilidade do(a) Profa. Dra. Eneiva Carla Carvalho Celeghini, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 15/2/2012.

We certify that the Research "Blood profile evaluation of pregnant and empty cows submitted to FTAI protocol with semen assessed by fluorescent probes", protocol number 2528/2012, utilizing 362 (three hundred sixty-two) serum samples and plasma blood of bovine animals, under the responsibility Profa. Dra. Eneiva Carla Carvalho Celeghini, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 2/15/2012.

São Paulo, 16 de fevereiro de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: OLIVEIRA, Bruna Marcele Martins

Título: Avaliação do perfil sanguíneo de vacas prenhes e vazias submetidas à IATF com sêmen avaliado por sondas fluorescentes e sua relação com hemodinâmica uterina.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por me dar vida e saúde! Por me fazer ser forte para concluir mais uma etapa da minha vida e por permitir que eu continue trabalhando na construção da minha profissão. Hoje, um sonho se realiza... se não fosse por Ele nada teria sentido!

À professora Dra. Eneiva Carla Carvalho Celeghini. Seu nome aparece em meus agradecimentos desde o TCC e realmente tenho muito a lhe agradecer! Você me apresentou a reprodução animal. Com seu entusiasmo, conhecimento e jeito carinhoso, fez com que eu ficasse fascinada pelas aulas e me apaixonasse cada dia mais por essa área. Você é um exemplo de humildade, dedicação e sabedoria. Obrigada pela orientação, pela confiança, pelos ensinamentos, pela parceria, amizade e carinho! Desejo ser para meus alunos ao menos um pouco do que você representa para mim! Hoje repito exatamente o que escrevi nos agradecimentos do meu TCC... “Minha dedicação à profissão será, em parte, para que você se orgulhe de mim!” Meu carinho e admiração por você são enormes! Obrigada por tudo!

Aos meus pais, Osni e Telma. Agradeço por todo amor, dedicação, paciência e educação que me deram. Agradeço também por entenderem meus sonhos, valorizarem meus esforços e se orgulharem por minhas conquistas. Por entenderem minhas viagens e ausência, por tentarem superar a síndrome do ninho vazio, mesmo que façam isso com o coração em pedaços. Agradeço por terem me ensinado que estudo e trabalho são extremamente importantes, que devemos batalhar com todas as forças, mas que nada é mais importante que a família. Obrigada por fazerem eu ter certeza de que sempre terei um colo para correr! O amor que tenho por vocês é inexplicável e maior do que eu.

Aos meus irmãos Camila, Anicky e Leandro. O meu coração se derrete quando penso em vocês! A nossa relação é uma coisa abençoada! Os meus melhores momentos, as minhas melhores lembranças e as coisas mais lindas que imagino para o futuro envolvem vocês! Vocês são a certeza de que terei amigos fieis para sempre. Obrigada pelo amor incondicional, pelo companheirismo, por me incentivarem, me acolherem em momentos difíceis e por se orgulharem de mim. Sem vocês, eu seria apenas 1/4! Amo cada um de forma infinita!

Ao meu noivo Felipe, por desde o início ter apostado tanto em mim, por ser meu companheiro, meu porto seguro, minha paz, por me incentivar, se orgulhar, admirar até minhas loucuras, me acolher nos momentos de angústia, vibrar por minhas conquistas e sempre fazer questão de dizer que sou boa no que faço. A vida é mais fácil e mais leve, e o futuro é menos amedrontador, porque você está ao meu lado. Você é o responsável pela existência do meu mundo cor de rosa e pelo grande amor que hoje existe dentro do meu coração.

Aos meus cunhados Bruno e Flávio. Vocês não foram escolhidos por mim, mas ganhei um presente com as escolhas de minhas irmãs. Cada um, do seu jeito, se faz presente em minha vida de uma forma especial. Vocês me fazem acreditar que nossa família permanecerá unida. Desejo que a nossa convivência e amizade sejam cada dia maior!

Ao meu sobrinho(a). Você nem chegou ainda, eu nunca vi o seu rosto, não tenho certeza se você é menino ou menina, mas nada disso importa! A tia já te ama muito! Espero que um dia você leia esses agradecimentos e entenda a importância que você tem na minha vida desde o momento que eu soube que você estava a caminho. Você veio para renovar a nossa esperança e transformar as nossas vidas!

À Nadya Garcia Bianchi Pereira, por todo o apoio que me deu durante todos os esses anos. Sem dúvida, teria sido muito mais difícil sem você. Obrigada pela profissional que é e pelo laço que criamos. Estamos juntas!

Aos meus avós Ismênia (*in memoriam*), Francisco, Aparecida (*in memoriam*) e José. Me orgulho por ter vocês como exemplo. Se estou aqui hoje é porque vocês foram fortes para enfrentar todas as batalhas. O meu amor por vocês é um dos sentimentos mais puros que existe. Obrigada por cada afago e por terem me mostrado com tanto amor que a convivência com os avós torna a vida muito mais gostosa.

Ao prof. Dr. Rubens Paes de Arruda. O senhor tem grande participação na profissional que sou hoje. Me acompanhou de perto desde o início. Sempre me lembro de seus conselhos de educador, obrigada por isso! Agradeço também pelos ensinamentos, pelas oportunidades que me concedeu, pelas conversas e pela amizade. Fico feliz em sentir a ternura em sua voz e em seus gestos quando conta as coisas que a profa. Carla falava de mim, antes de eu chegar. Tenho um grande carinho e admiração pelo senhor.

Ao prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Júnior. Agradeço por ter acolhido nossa pesquisa, pela ajuda nas dosagens metabólicas, pelos conselhos para que este trabalho fosse desenvolvido da melhor maneira possível e também pela forma carinhosa que sempre nos atende.

Ao prof. Dr. Fábio Celidonio Pogliani. Pela participação efetiva no delineamento deste trabalho. Pelo tempo que sempre nos ofereceu, pelas vezes que me recebeu em sua sala para tirar dúvidas e por caminhar conosco até aqui. Tenha certeza de que sua participação foi fundamental. Agradeço também pelo profissional que você é... sábio, humilde e atencioso.

Ao prof. Dr. Luciano Andrade Silva. Pelas intermináveis horas que passou no curral para me ensinar sobre ultrassonografia Doppler, por sempre se esforçar para atender nossas necessidades e sanar as dúvidas. Você também me acompanhou desde o início e fico feliz em dividir esse momento com um professor que me ensinou tanto e que admiro muito. Obrigada por dividir seus conhecimentos, por me ensinar sobre humildade, por valorizar nosso trabalho e por suas excelentes sugestões.

À Dra. Daniela Becker Birgel. Por todo esforço e paciência para que nossas análises fossem feitas de maneira impecável, por nos tratar sempre de forma tão acolhedora. Você é uma profissional admirável e merece todo reconhecimento e sucesso.

Ao prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues, por dividir os conhecimentos sobre estatística de forma tão brilhante e prazerosa, por dispor de seu tempo na tentativa de conceder

maior independência aos alunos, de modo que sejam capazes de realizar as análises e por sempre estar disponível quando alguma dúvida surge. Ao senhor, meu carinho e admiração.

Ao Dr. Helder Esteves Thomé, pela parceria no desenvolvimento deste trabalho.

Aos queridos amigos Carina de Fátima Guimarães, Guilherme Cain de Oliveira, e Dr. Milton Maturana Filho, por toda dedicação na execução deste trabalho. O esforço foi grande... fico feliz pelo fato de a amizade que construímos ser ainda maior! Vocês tem o meu carinho, respeito, amor e gratidão.

A todos os queridos amigos pós-graduandos, mas em especial aos que tenho grande carinho e desejo que sempre estejamos próximos: Fernanda Machado Regazzi, Leonardo Batissaco, Renata Lançoni, Roberta Harue Tsunoda, Moana Rodrigues França. A caminhada foi muito mais divertida com a companhia de vocês. Obrigada pelo privilégio de poder conviver com vocês, pelos ensinamentos que levo de cada um e por cada momento que passamos juntos.

À equipe do LEPPaR Octávio Fabián Bao Tarragó, Maíra Bianchi Rodrigues Alves, Leonardo Batissaco, Shirley Andrea Florez Rodriguez, Elena Carolina Serrano Recalde, Felipe Barbosa dos Santos, Victor Hugo Guilger Gonzaga e Roberto Romano do Prado Filho, pelo trabalho em equipe e amizade.

Ao Clayton Costa e à Harumi Doi Shiraishi, por toda atenção e disponibilidade em atender os pós-graduandos.

À Fazenda Fronteira e seus funcionários. Em nome do Sr. Geraldo Natividade Tarallo e da M.V. Fernanda Tarallo Libertini, por terem aberto suas portas para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Departamento de Reprodução Animal, professores e funcionários, pelo convívio e apoio.

À FMVZ – USP e seus funcionários, por todo apoio e dedicação ao ensino e pesquisa. Agradeço à todos que de alguma maneira contribuíram para que esse trabalho fosse realizado.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro (processos n. 2011/22833-9 e 2014/12757-1).

Muito Obrigada!

RESUMO

OLIVEIRA, B. M. M. **Avaliação do perfil sanguíneo de vacas prenhes e vazias submetidas à IATF com sêmen avaliado por sondas fluorescentes e sua relação com hemodinâmica uterina.** [Blood profile evaluation of pregnant and non pregnant cows subjected to TAI protocol with semen evaluated by fluorescent probes and their relationship with uterine hemodynamics]. 2015. 162f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

Neste trabalho foram estudados os perfis renal, hepático, energético, hormonal e de proteínas de fase aguda (proteinograma) para avaliar possíveis interações com o desempenho reprodutivo em bovinos. Para isso, foram delineados três experimentos. No experimento 1 o objetivo foi verificar se a inseminação artificial (IA) causa alterações nos perfis renal, hepático, energético, hormonal e de proteínas de fase aguda e estudar as relações entre esses perfis e a hemodinâmica uterina. Foram utilizadas amostras de sangue de vacas Nelore que foram inseminadas (GIA, n=9) ou não (GC, n=9). As amostras foram coletadas 30 horas antes da IA, 4, 24, 48 e 168 horas após a IA. No experimento 2 o objetivo foi estudar os efeitos da qualidade do sêmen sobre o perfil hepático e proteinograma, e estudar a relação dos perfis renal, hepático, energético, hormonal e proteinograma sobre a vascularização uterina. Foram utilizadas amostras sanguíneas de 362 vacas, que foram divididas em três grupos experimentais de acordo com a qualidade do sêmen: Boa (n=121), Média (n=121) e Regular (n=120). As amostras foram coletadas 30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA. Por fim, o experimento 3 é um estudo retrospectivo, realizado com o objetivo de comparar os perfis renal, hepático, energético, hormonal, e proteínas de fase aguda entre animais prenhes e vazios após a IA, e verificar se há relação entre a hemodinâmica uterina e a fertilidade. Neste experimento, os animais foram divididos em dois grupos experimentais de acordo com o resultado da IA (prenhe, n=76 X vazia, n=45). Em todos os experimentos, nos mesmos momentos da coleta de sangue, foram realizadas avaliações ultrassonográficas do útero no modo color Doppler e espectral. As amostras dos experimentos 1, 2 e 3 foram submetidas à quantificação das proteínas de fase aguda e dos componentes metabólicos utilizando analisador bioquímico automático (RX Daytona) e à dosagem hormonal, pela técnica de radioimunoensaio. Os dados foram analisados pelo PROC MIXED (SAS, versão 9.2, 2010). Foram consideradas diferenças estatísticas quando $P < 0,05$. No experimento 1, os grupos não diferiram quanto aos perfis renal, hepático, energético, hormonal e proteinograma, no entanto, o RI apresentou correlações positivas com AST e BHB e correlação negativa com estradiol. O estradiol também foi correlacionado com EV, entretanto essa correlação foi positiva. No experimento 2, os animais inseminados com sêmen B, M ou R

apresentaram concentrações semelhantes das variáveis do perfil hepático e proteínograma. O RI foi correlacionado positivamente com colesterol, HDL, LDL, e progesterona, e negativamente com glicose, estradiol, albumina e proteína total. Já o EV apresentou correlações negativas com ureia, GGT e cortisol. No experimento 3, os grupos Vazio e Prenhe foram semelhantes quanto aos perfis renal, hepático, energético, hormonal, proteiograma e hemodinâmica uterina. Sendo assim, conclui-se que o processo da IA e a qualidade do sêmen utilizado não causam alterações sistêmicas, bem como a fertilidade não pode ser explicada por estas alterações. Adicionalmente, a hemodinâmica uterina é correlacionada com diversos parâmetros, no entanto, o padrão vascular do útero não mostrou relação com a fertilidade.

Palavras- chave: Perfil metabólico. Perfil hormonal. Proteínas de fase aguda. Ultrassonografia Doppler. Bovinos.

ABSTRACT

OLIVEIRA, B. M. M. Avaliação do perfil sanguíneo de vacas prenhes e vazias submetidas à IATF com sêmen avaliado por sondas fluorescentes e sua relação com hemodinâmica uterina. [Blood profile evaluation of pregnant and non pregnant cows subjected to TAI protocol with semen evaluated by fluorescent probes and their relationship with uterine hemodynamics]. 2015. 162f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

In this study, were evaluated kidney, liver, energy, hormonal and acute phase proteins profiles to evaluate the possible interactions with the reproductive performance in cattle. For this, three experiments were designed. In experiment 1 the objective was to verify if artificial insemination (AI) causes changes in renal, liver, energetic, hormonal and acute phase proteins profiles and to study the relationship between these profiles and uterine hemodynamics. Blood samples from inseminated (GIA, n = 9) or non inseminated Nellore cows (CG, n = 9) were used. Samples were collected 30 hours before AI, 4, 24, 48 and 168 hours after AI. In experiment 2 the objective was to study the effects of semen quality on liver and protein profiles and study the relationship of renal, liver, energetic, hormonal and protein profiles on uterine vascularization. Blood samples of 362 cows were used, which were divided into three groups according to semen quality: Good (n = 121), medium (n = 121) and Regular (n = 1200). Samples were collected 30 hours before AI, 4 and 24 hours after AI. Finally, experiment 3 is a retrospective study, carried out in order to compare the renal, liver, energetic, hormonal, and acute phase proteins profiles between pregnant and non pregnant animals after AI, and check for relationship between uterine hemodynamics and fertility. In this experiment, animals were divided into two groups according to the result of AI (pregnant, n = 76 and non pregnant, n = 45). In all experiments, at the same time of blood sampling were performed sonographic evaluations of the uterus in color Doppler and spectral mode. The samples of experiments 1, 2 and 3 were subjected to quantification of acute phase proteins and metabolic components using automatic biochemical analyzer (RX Daytona) and to hormone dosage, by radioimmunoassay. Data were analyzed using PROC MIXED (SAS, version 9.2, 2010). Statistics differences were considered when $P < 0,05$. In experiment 1, the groups did not differ about kidney, liver, energetic, hormonal and protein profiles, however, the RI showed positive correlations with AST and BHB and negative correlation with estradiol. Estradiol was also correlated with EV, however this correlation was positive. In experiment 2, the animals inseminated with semen B, M or R showed similar concentrations of the variables of liver and proteinogram profiles. The RI was positively correlated with cholesterol, HDL, LDL, and progesterone, and negatively

with glucose, estradiol, albumin and total protein. EV showed negative correlations with urea, GGT and cortisol. In Experiment 3, the non pregnant and pregnant groups were similar about kidney, liver, energetic, hormonal, proteiogram profiles and uterine hemodynamics. Thus, in this study were not observed systemic changes caused by AI process and by quality of semen, and systemic differences did not notice is between non pregnant and pregnant animals. Additionally, uterine hemodynamic is correlated with various parameters, however, the vascular pattern of the uterus was not correlated with fertility.

Key words: Metabolic profile. Hormonal profile. Acute phase proteins. Doppler ultrassound. Cattle.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Médias $\pm$ erro padrão das médias de ureia e creatinina dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC).....	47
Tabela 2 –	Médias $\pm$ erro padrão das médias de uréia e creatinina de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA).....	49
Tabela 3 -	Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK) séricos dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC).....	49
Tabela 4 –	Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK) séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA).....	50
Tabela 5 -	Médias $\pm$ erro padrão das médias de glicose plasmática, triglicérides, colesterol, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), ácido graxo não esterificado (NEFA) e beta-hidroxibutirato (BHB) séricos dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC).....	52
Tabela 6 –	Médias $\pm$ erro padrão das médias de glicose plasmática, triglicérides, colesterol, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), ácido graxo não esterificado (NEFA) e beta-hidroxibutirato (BHB) séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA).....	55
Tabela 7 -	Médias $\pm$ erro padrão das médias de cortisol, estradiol e progesterona plasmáticos dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC).....	59

Tabela 8 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de cortisol, estradiol e progesterona plasmáticos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA).....	60
Tabela 9 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de albumina e proteína total séricos dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC).....	62
Tabela 10– Médias $\pm$ erro padrão das médias de albumina e proteína total séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA).....	63
Tabela 11 – Coeficientes de correlação (r) e valores de p (p) entre aspartato aminotransferase (AST), creatina-quinase (CK), ácidos graxos não esterificados (NEFA), beta-hidroxibutirato (BHB) e cortisol.....	66
Tabela 12 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK) séricos dos animais inseminados com sêmen Bom (B), Médio (M) ou Regular (R)...	82
Tabela 13 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK) séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24 horas após a IA).....	83
Tabela 14 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de albumina (g/dL), sérica dos animais que foram inseminados sêmen Bom (B), Médio (M) ou Regular (R) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA).....	86
Tabela 15 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de proteína total sérica dos animais que foram inseminados sêmen Bom (B), Médio (M) ou Regular (R).....	86
Tabela 16 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de proteína total séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA).....	87

Tabela 17 - Coeficientes de correlação (r) entre uréia, gama-glutamil transferase (GGT), cortisol, glicose, colesterol, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), estradiol, progesterona, albumina e proteínas totais e os dados de ultrassonografia Doppler (índice de resistência uterina (RI) e escore de vascularização uterina (EV)).....	88
Tabela 18 - Coeficientes de correlação (r) e valores de p (p) entre aspartato aminotransferase (AST), creatina-quinase (CK), glicose e cortisol.....	92
Tabela 19 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de ureia (mg/dL) sérica dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA).....	108
Tabela 20 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de creatinina sérica dos animais dos grupos Vazio e Prenhe.....	110
Tabela 21 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de creatinina séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24 horas após a IA).....	111
Tabela 22 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK) séricos dos animais do grupo Vazio e Prenhe.....	111
Tabela 23 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK) séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA).....	112
Tabela 24 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de glicose plasmática, triglicérides, colesterol, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), séricos dos animais do grupo Vazio e Prenhe.....	113
Tabela 25 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de glicose plasmática, triglicérides, colesterol, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24 horas após a IA).....	115

Tabela 26 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de cortisol, estradiol e progesterona plasmáticos dos animais dos grupos Vazio e Prenhe.....	116
Tabela 27 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de cortisol, estradiol e progesterona plasmáticos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA).....	118
Tabela 28 - Médias $\pm$ erro padrão das médias dos valores de albumina e proteína total séricos dos animais dos grupos Vazio e Prenhe.....	119
Tabela 29 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de albumina e proteína total séricas de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA).....	120
Tabela 30 - Médias $\pm$ erro padrão das médias do escore de vascularização (EV) dos animais dos grupos Prenhe e Vazio.....	121
Tabela 31 - Médias $\pm$ erro padrão das médias do índice de resistência da artéria uterina (RI) (0 a 1) dos grupos vazio e prenhe de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA).....	122
Tabela 32 - Médias $\pm$ erro padrão das médias do escore de vascularização (EV) dos animais de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA).....	123

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AST	Aspartato aminotransferase
B	Bom
BHB	Beta-hidroxibutirato
CK	Creatina-quinase
dL	Decilitro
EV	Escore de vascularização
FSH	Hormônio folículo estimulante
g	grama
GC	Grupo controle
GGT	Gama-glutamil transferase
GIA	Grupo inseminado
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
L	litro
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LH	Hormônio luteinizante
M	Médio
mg	Miligrama
mL	mililitro
NEFA	Ácidos graxos não esterificados
ng	nanograma
nM	nanomol
PFA	Proteína de fase aguda
pg	picograma
PGF2 α	Prostaglandina F2 α
R	Regular
RI	Índice de resistência
U	unidade
VLDL	Lipoproteínas de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	22
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	24
2.1	METABÓLITOS.....	24
2.1.1	Ureia.....	25
2.1.2	Creatinina.....	26
2.1.3	AST, GGT e CK.....	26
2.1.4	Glicose.....	28
2.1.5	Triglicérides	28
2.1.5	Colesterol.....	29
2.1.6	HDL, LDL e VLDL	30
2.1.7	Ácido graxo não esterificado (NEFA).....	30
2.1.8	Betahidroxibutirato (BHB).....	31
2.2	RESPOSTA INFLAMATÓRIA, PROTEINOGRAMA E PROTEÍNAS DE FASE AGUDA.....	32
2.2.1	Albumina.....	34
2.2.2	Proteínas totais.....	35
2.3	HORMÔNIOS	36
2.3.1	Cortisol	36
2.3.2	Estradiol	36
2.3.3	Progesterona	37
2.4	QUALIDADE DO SÊMEN.....	37
2.5	ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER.....	38
3	OBJETIVOS	39
	ARTIGO 1.....	39
	ARTIGO 2.....	39
	ARTIGO 3.....	39
4	HIPÓTESES.....	39
	ARTIGO 1.....	40
	ARTIGO 2.....	40
	ARTIGO 3.....	40

5	ARTIGO 1: A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO E SEUS REFLEXOS SOBRE OS PERFIS RENAL, HEPÁTICO, ENERGÉTICO, HORMONAL E PROTEICO E A RELAÇÃO DESSES PERFIS COM A HEMODINÂMICA UTERINA EM VACAS NELORE.....	41
5.1	INTRODUÇÃO.....	41
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	42
5.2.1	Seleção dos animais	42
5.2.2	Divisão dos grupos experimentais.....	43
5.2.3	Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)	43
5.2.4	Coletas e armazenamento do sangue	44
5.2.5	Avaliação da vascularização uterina	44
5.2.6	Quantificação das Proteínas de fase aguda e dos Componentes metabólicos do sangue.....	45
5.2.7	Quantificação dos Componentes hormonais do sangue.....	45
5.2.8	Análise estatística.....	46
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
5.3.1	Perfil Renal.....	47
5.3.2	Perfil hepático	49
5.3.3	Perfil energético	51
5.3.4	Perfil hormonal.....	58
5.3.5	Proteinograma/Proteínas de fase aguda.....	62
5.3.6	Correlação dos componentes metabólicos, hormonais e proteínas de fase aguda com a hemodinâmica uterina.....	64
5.4	CONCLUSÃO.....	67
	REFERÊNCIAS.....	68
6	ARTIGO 2: AVALIAÇÃO DOS PERFIS RENAL, HEPÁTICO, ENERGÉTICO, HORMONAL E DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA DE VACAS NELORE INSEMINADAS COM SÊMEN DE DIFERENTES QUALIDADES E A RELAÇÃO DESSES PERFIS COM A HEMODINÂMICA UTERINA.....	75
6.1	INTRODUÇÃO.....	75
6.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	76
6.2.1	Seleção dos animais	77
6.2.2	Avaliação do sêmen	77
6.2.3	Divisão dos grupos experimentais.....	79

6.2.4	Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)	79
6.2.5	Coletas e armazenamento do sangue	79
6.2.6	Avaliação da vascularização uterina	80
6.2.7	Quantificação das Proteínas de fase aguda e dos Componentes metabólicos do sangue.....	80
6.2.8	Quantificação dos Componentes hormonais do sangue.....	81
6.2.9	Análise estatística.....	81
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	82
6.3.2	Perfil Hepático	82
6.3.5	Proteinograma/Proteínas de fase aguda.....	84
6.3.6	Correlação dos componentes metabólicos, hormonais e proteínas de fase aguda com a hemodinâmica uterina.....	88
6.4	CONCLUSÃO	93
	REFERÊNCIAS.....	94
7	ARTIGO 3: A HEMODINÂMICA UTERINA E OS PERFIS RENAL, HEPÁTICO, ENERGÉTICO, HORMONAL E DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA DE VACAS NELORE INFLUENCIAM AS TAXAS DE CONCEPÇÃO?.....	101
7.1	INTRODUÇÃO.....	101
7.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	102
7.2.1	Seleção dos animais	102
7.2.2	Escolha da partida de sêmen	103
7.2.3	Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)	104
7.2.4	Coletas e armazenamento do sangue	105
7.2.5	Avaliação da vascularização uterina	105
7.2.6	Diagnóstico de gestação.....	106
7.2.7	Divisão dos grupos experimentais.....	106
7.2.8	Quantificação das Proteínas de fase aguda e dos Componentes metabólicos do sangue.....	106
7.2.9	Quantificação dos Componentes hormonais do sangue.....	107
7.2.10	Análise estatística.....	107
7.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	108
7.3.1	Perfil Renal.....	108
7.3.2	Perfil Hepático	111
7.3.3	Perfil Energético	113

7.3.4	Perfil Hormonal.....	116
7.3.5	Proteínograma/Proteínas de Fase Aguda.....	119
7.3.6	Hemodinâmica uterina	121
7.4	CONCLUSÃO	124
	REFERÊNCIAS	125
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	133
	REFERÊNCIAS.....	134
	APÊNDICE A	150
	APÊNDICE B	158
	APÊNDICE C	161

1 INTRODUÇÃO

A pecuária nacional exige que os produtores apresentem máxima eficiência para manter a rentabilidade da atividade, sendo que um dos principais fatores que contribuem para melhorar o desempenho e lucratividade dos rebanhos é a eficiência reprodutiva (BARUSELLI et al., 2001), seja em rebanhos de leite ou corte. Neste sentido, vários estudos têm sido realizados tentando encontrar formas eficientes e econômicas de melhorar o desempenho reprodutivo em rebanhos de corte (PFEIFER et al., 2014; BARUSELLI et al., 2015; SALES et al., 2015), de forma que a fertilidade aparece como um dos parâmetros de maior importância em um rebanho bovino comercial.

A fertilidade é influenciada por vários fatores, entre eles podem-se citar as condições do trato reprodutivo das fêmeas, a qualidade do sêmen utilizado, os eventos que acontecem no organismo da fêmea, além de todas as alterações metabólicas e hormonais. Segundo Ribeiro et al. (2011), a fertilidade pode ser prejudicada por diversos fatores já que seus estudos demonstram que vacas afetadas por doenças clínicas, subclínicas ou ambas apresentam maiores taxas de anovulação, redução da taxa de prenhez e aumento da taxa de abortamento.

O balanço energético é um dos fatores que mais impactam o crescimento, saúde, lactação, e principalmente, o desempenho reprodutivo (MONDAL; PRAKASH, 2004), pois os requerimentos energéticos para a fecundação e manutenção da gestação são maiores (VAN SOEST, 1994). O perfil bioquímico sanguíneo tem sido amplamente utilizado para identificar e indicar distúrbios metabólicos e baixa produtividade (LEE et al., 1978). Além disso, é constatado que o estudo dos metabólitos sanguíneos pode ajudar a entender as peculiaridades dos animais, nas mais diversas condições de criação (RENDINA et al., 2007; HAGAWANE et al., 2009).

O perfil metabólico sanguíneo e as características do rebanho são importantes ferramentas para o diagnóstico e prevenção de distúrbios metabólicos que afetam a saúde, a fertilidade e a capacidade reprodutiva dos animais (GONZÁLEZ et al., 2000), sendo o fígado o principal órgão metabólico do animal, que é responsável pela síntese de diversas proteínas, incluindo as proteínas de fase aguda que estão relacionadas aos processos inflamatórios. Por ser um órgão pouco acessível aos métodos semiológicos tradicionais, o diagnóstico de alterações que possam refletir no metabolismo e produção de proteínas de fase aguda fica dificultado, no entanto é possível dosar vários parâmetros bioquímicos que avaliam as

condições do fígado de forma minimamente invasiva, pela coleta de amostras de sangue (BOBE; YOUNG; BEITZ, 2004).

O perfil hormonal nos dá informações sobre as alterações que acontecem no organismo da fêmea durante o ciclo estral. O ciclo estral pode ser definido como intervalo entre duas ovulações (SAUTÉ, 2013) e é regulado por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos, sendo caracterizado por mudanças morfológicas do trato reprodutivo, alterações de comportamento e alterações nas concentrações hormonais (NÄÄS et al., 2008). A avaliação das concentrações desses hormônios no sangue pode ser capaz de transmitir informações relevantes para que o desempenho reprodutivo das fêmeas seja melhor compreendido.

Esses aspectos são amplamente estudados em vacas leiteiras, já que a produção de leite tem aumentado ao longo dos anos. Como consequência esses animais passaram a ser mais susceptíveis a desordens metabólicas e ao desenvolvimento de doenças hepáticas durante o período de transição (KALAITZAKIS et al., 2010). Além disso, Butler (2000) afirma que avaliar o sangue dos animais é importante para caracterizar situações que podem estar relacionadas com a função reprodutiva. No entanto, essas investigações não são aplicadas com a mesma frequência em gado de corte, tão pouco além da visão nutricional que envolve o balanço energético negativo no período pré e pós-parto. Este estudo é pioneiro em realizar tais investigações, com o intuito de avaliar animais que passam pelo processo de IA ou não, animais que foram inseminados com sêmen de diferentes qualidades e animais que emprenharam ou não após a IA. Por isso, é importante que as análises bioquímicas sanguíneas de vacas Nelore sejam utilizadas como ferramenta para avaliar possíveis alterações no perfil metabólico, hormonal e de proteínas de fase aguda que possam elucidar causas de desempenho insatisfatório na produção e reprodução.

Neste estudo, serão avaliados os perfis renal (uréia e creatinina), hepático [aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK)], energético [glicose, triglicérides, colesterol e suas frações (HDL, LDL e VLDL), ácidos graxos não esterificados (NEFA) e beta-hidroxibutirato (BHB)], perfil hormonal (cortisol, estradiol e progesterona) e proteínograma/proteínas de fase aguda (albumina e proteínas totais) para avaliar suas possíveis interações no sistema e desempenho reprodutivo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Para a compreensão das relações existentes entre a bioquímica sanguínea e a reprodução em bovinos, serão revisados os temas relacionados aos metabólitos, resposta inflamatória, proteinograma e proteínas de fase aguda e hormônios, bem como a qualidade do sêmen e o uso da ultrassonografia Doppler para sustentar nossas hipóteses e objetivos.

2.1 METABÓLITOS

Inúmeras pesquisas tem demonstrado que o perfil metabólico do animal influencia suas funções reprodutivas (PAYNE et al., 1970; BLOWEY et al., 1973; ROWLANDS et al., 1974; ROWLANDS, 1980, ROBINSON, 1996). A utilização do perfil metabólico em animais de produção atua como um método auxiliar na avaliação de rebanhos, atuando também como uma importante ferramenta no diagnóstico clínico de doenças do metabolismo (PEIXOTO e OSÓRIO, 2007).

A interação entre o perfil metabólico e a reprodução é estudada desde a década de 70 em bovinos leiteiros por diversos autores (PAYNE et al., 1970; BLOWEY et al., 1973; ROWLANDS et al., 1974; ROWLANDS, 1980). Entretanto, na bovinocultura de corte os trabalhos ainda são escassos e não conclusivos.

Payne et al. (1970) utilizaram o termo “perfil metabólico” para se referir aos componentes bioquímicos do sangue em vacas de leite. Desde então, pesquisadores utilizam o perfil metabólico como método auxiliar na avaliação de rebanhos com diferentes índices produtivos e reprodutivos. A partir do surgimento do termo perfil metabólico, a química sanguínea passou a ter maior interesse no campo zootécnico.

Para que a interpretação do perfil metabólico sanguíneo seja realizada de maneira correta, é preciso ter conhecimento da fisiologia e bioquímica animal, conhecer a fonte e a função de cada um dos metabólitos avaliados e utilizar métodos adequados na sua determinação (WITTWER, 1995).

2.1.1 Ureia

A ureia demonstra o estado proteico do animal em curto prazo, de modo que a concentração sérica de ureia é um dos principais indicadores do metabolismo proteico em ruminantes (PAYNE; PAYNE, 1987). É sintetizada no fígado em quantidades proporcionais à concentração de amônia produzida no rúmen (WITTWER et al., 1993) sendo que os teores sanguíneos de uréia são reflexos da ingestão de proteína, da degradabilidade das fontes protéicas e da energia disponível no rúmen (ROSELER et al. 1993).

A concentração de uréia no sangue pode sofrer alterações passageiras durante o dia, principalmente após a alimentação. A rápida fermentação, seguida da absorção de amônia, eleva a uréia após esse período (GARCIA, 1997).

Alguns trabalhos indicam que altas concentrações de nitrogênio ureico apresentam um efeito deletério sobre a concepção em vacas, já que níveis elevados de ureia no sangue provocam aumento nos níveis deste metabólito nos tecidos e fluídos reprodutivos (FERGUSON e CHALUPA, 1989).

Butler et al. (1996) verificaram em vacas holandesas que a possibilidade de gestação decrescia à medida que a concentração de ureia do plasma e do leite ultrapassavam 19 mg/dl. Ferguson et al. (1993) observaram que vacas prenhes apresentavam concentração plasmática de ureia menor que 20 mg/dl. Apesar de ainda não ser totalmente esclarecida a forma como a ureia afeta a fertilidade, Carrol et al. (1987) sugerem que altas concentrações de ureia podem resultar em presença de subprodutos do metabolismo proteico que podem afetar o ambiente uterino e alterar a sobrevivência espermática, do oócito ou do embrião, redução dos níveis de progesterona e aumento dos níveis de nitrogênio ureico no lúmen uterino, que podem potencializar a secreção de prostaglandina F2 α (PGF2 α). Adicionalmente, Rhoads et al. (2006) afirmam que o aumento da ureia sérica interfere no pH uterino, reduzindo-o para abaixo do ideal, o que pode comprometer a fertilidade, prejudicando o desenvolvimento e sobrevivência de embriões.

Segundo Gilbert (1996), o efeito prejudicial do excesso de ureia na reprodução de ruminantes parece estar associado à função hormonal. Foi demonstrado *in vitro* que na presença de ureia, a progesterona não é capaz de manter o gradiente de pH no útero o que resulta em aumento da secreção de PGF2 α .

Além disso, a elevação da concentração de ureia plasmática pode ocasionar problemas na ovulação devido às menores secreções de hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) (FERNANDEZ, 1988).

A concentração de nitrogênio ureico no sangue pode ser difícil de ser interpretada, pois os valores mudam rapidamente durante o primeiro mês pós-parto (MOORE; VARGA, 1996). De acordo com Barros Filho (1995), o valor de referência para ureia em fêmeas zebuínas da raça Nelore em idade reprodutiva no Brasil varia de 25,32 a 25,91 mg/dL.

2.1.2 Creatinina

A creatinina é um metabólito que avalia diretamente a filtração glomerular e, portanto, é indicativa de função renal (MORAIS et al., 2000), é um composto nitrogenado produzido a partir da fosfocreatina muscular. A quantidade de creatinina formada por dia depende da quantidade de creatina no organismo, que por sua vez depende da massa muscular. Entretanto, a quantidade de creatinina formada é relativamente constante para um determinado indivíduo, sendo pouco afetada pela alimentação, principalmente pelo consumo de proteína. Usualmente, os valores de creatinina são dosados em conjunto com a ureia com o objetivo de avaliar a função renal dos animais domésticos, fornecendo subsídios para o diagnóstico ou prognóstico de inúmeras nefropatias (KANEKO et al., 2008), já que seus valores se tornam elevados quando ocorre comprometimento renal da ordem de 60% a 75% dos néfrons de ambos os rins (MORAIS et al., 2000). De acordo com Barros Filho (1995), o valor de creatinina para fêmeas zebuínas da raça Nelore em idade reprodutiva no Brasil varia de 1,76 a 1,85 mg/dL.

2.1.3 AST, GGT e CK

A AST é utilizada como marcador da função hepática (PEIXOTO et al., 2006), no entanto, está também relacionada ao metabolismo muscular, sendo que índices elevados de AST podem indicar lesões cardíacas (COLES, 1984), hemólise, deficiência de selênio/vitamina E, além disso, pode se elevar em casos de exercício físico intenso (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

A enzima GGT é encontrada em células com altas taxas de secreção e absorção com atividade significativa nos rins e fígado. É considerada um marcador sérico de doenças do sistema hepatobiliar (KANEKO et al., 2008).

A CK é uma enzima amplamente utilizada para determinação de alterações musculares dos animais domésticos e é considerada um indicador músculo-específico, já que os principais tecidos fontes dessa enzima são as fibras musculares (KANEKO et al., 2008). Pode ocorrer incremento da atividade desta enzima por injeção intramuscular, decúbito prolongado, convulsões, esforço prolongado, transporte por longos períodos, esforço durante o parto e outras lesões musculares. A CK é altamente sensível e estável (SHPIGEL; AVIDAR; BOGIN, 2003) e é avaliada em conjunto com a AST para especificar se o aumento da AST é devido a lesões hepáticas ou musculares, já que se as lesões musculares forem descartadas pela concentração normal de CK, o aumento da atividade enzimática da AST pode ser interpretado como consequência de lesão hepática.

A AST, GGT e CK são enzimas comumente utilizadas para a avaliação hepática de bovinos. Em condições normais, são encontradas em pequenas quantidades no plasma sanguíneo e em grandes quantidades no interior das células de alguns tecidos. Quando acontece o escape dessas enzimas para o sangue, há indicação de lesão tecidual, com aumento da permeabilidade da membrana celular ou até ruptura da referida membrana (KANEKO et al., 2008). A suposição de que essas enzimas podem ser alteradas por fenômenos do aparelho reprodutivo vem sendo avaliada desde 1980, quando Bouda e colaboradores avaliaram a influência da gestação sobre a atividade das mesmas. Assim, o estudo dessas enzimas pode trazer informações sobre lesões ou respostas inflamatórias do útero, já que após a deposição do sêmen no trato reprodutivo, as fêmeas apresentam uma reação inflamatória (TROEDSSON, 1999). De acordo com Barros Filho (1995), o valor de referência para AST e GGT em fêmeas zebuínas da raça Nelore em idade reprodutiva no Brasil varia de 33,19 a 34,71 U/L e 9,77 a 10,95 U/L, respectivamente. Já para CK, os valores de referência para a espécie bovina variam entre 4,8 a 12,1 U/L de acordo com Kaneko et al. (2008), no entanto, os valores citados na literatura são variáveis.

2.1.4 Glicose

Grande parte da energia utilizada no metabolismo dos ruminantes é obtida de ácidos graxos voláteis provenientes da fermentação ruminal. A base para a síntese de glicose são os ácidos graxos voláteis e essa síntese é dependente do perfeito funcionamento do fígado, já que este órgão é o regulador da concentração de glicose no sangue e da oferta de glicose aos tecidos, sendo essencialmente o único local para a gliconeogênese, ainda que exista uma pequena contribuição do córtex renal (HERDT, 2000).

Na década de 80 a glicose era o componente de escolha no perfil metabólico de bovinos de corte (PAYNE; PAYNE, 1987) por representar a via metabólica da energia, porém o déficit de energia deve ser muito intenso para que a concentração de glicose no sangue seja diminuída (ROWLANDS, 1980). Referências mais recentes relatam que a glicose é o indicador menos expressivo para monitorar o perfil energético, devido ao forte controle homeostático hormonal que o organismo mantém sobre sua concentração e por sua sensibilidade ao estresse (GONZÁLEZ, 2000). A relação desse metabólito com a reprodução se dá pelo fato de que níveis baixos de glicose (hipoglicemia) deprimem a atividade do sistema nervoso, reduzindo a secreção de GnRH, resultando em menor atividade ovariana (BEAL et al., 1990; FERREIRA; TORRES 1993). Resultados de estudos em vacas de corte realizados por Downie e Gelman (1976) demonstram que à medida que a glicemia aumenta a fertilidade melhora enquanto que baixos níveis de glicose reduzem as chances de prenhez. Segundo Kanko (2008) os valores de referência de glicose para bovinos situam-se no intervalo entre 45 e 75 mg/dL.

2.1.5 Triglicérides

Os triglicérides compõem a gordura e são originados pela esterificação dos NEFAs ao composto alcoólico glicerol. Os triglicérides são lipídeos esterificados considerados como um dos lipídios importantes para o organismo animal e exerce muitas funções, tais como estoque e reserva de energia, isolamento térmico e isolamento elétrico. Tais funções parecem estar relacionadas com a reprodução principalmente por seu papel de reserva energética, já que as atividades reprodutivas requerem grande demanda energética. Os triglicérides devem se ligar a

proteínas para serem transportados pelo sangue. Em razão da insolubilidade em água, os lipídios não exercem força osmótica no sistema biológico podendo ser estocados em grandes quantidades no tecido adiposo. Ainda que a maioria das células consiga sintetizar triglicérides, o fígado, tecido adiposo, glândula mamária e intestino delgado são os mais adaptados para esta síntese (KANEKO et al., 2008), sendo que os triglicérides produzidos no intestino representam 65% do total dos triglicérides circulantes (HOCQUETTE; BAUCHART, 1999). A quantidade de triglicérides encontrada no sangue sempre segue a relação do que é ingerido pelo animal, menos o que é utilizado pelo organismo (HOCQUETTE; BAUCHART, 1999). De acordo com Santos (2014) o valor de triglicérides para animais da Raça Nelore varia de 6,46 a 115 mg/dL.

2.1.5 Colesterol

O colesterol pode ter sua origem exógena, por via alimentar e endógena. Sua síntese acontece no fígado, gônadas, placenta, intestino, glândula adrenal e pele (KANEKO et al., 2008), sendo armazenado nos tecidos na forma de ésteres de colesterol. É precursor dos esteroides do organismo, como corticosteroides, ácidos biliares, vitamina D e faz parte da composição da membrana lipídica (KANEKO et al., 2008). Além disso, trata-se de um componente importante do ponto de vista reprodutivo já que é precursor dos hormônios sexuais esteróides (PEIXOTO; OSORIO, 2007).

Sua biossíntese no organismo é inibida com a ingestão de colesterol exógeno. O colesterol circula no plasma ligado às lipoproteínas [lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL)], sendo que mais da metade dele está esterificado com ácidos graxos (KANEKO et al., 2008). É provável que as concentrações de colesterol apresentem variações de acordo com a faixa etária do animal. Segundo Arave, Miller e Lamb (1975), as concentrações de colesterol tendem a aumentar com o evoluir da idade.

Por sua importância reprodutiva, o acompanhamento dos níveis de colesterol é relevante já que baixos níveis desse metabólito diminuem sua concentração no ovário, podendo prejudicar a produção de hormônios esteroides (GODOY et al., 2004). De acordo com González et al. (1996), os valores normais para o colesterol em bovinos estão entre 80 e 260 mg/dL.

2.1.6 HDL, LDL e VLDL

As lipoproteínas presentes no plasma sanguíneo dos ruminantes são classificadas de acordo com a densidade: lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) (KANEKO et al., 2008).

A HDL representa mais de 80% do total das lipoproteínas do sangue e é responsável pela captação das partículas livres de colesterol nos tecidos periféricos. A LDL tem como principal função transportar o colesterol do fígado até as células dos demais órgãos e tecidos. A VLDL tem sua produção estimulada pela alta ingestão de carboidratos e sua síntese é comprometida pela presença de maiores concentrações de glucagon (GIBBONS, 1990). Essa lipoproteína carrega basicamente lipídeos e apesar da HDL representar mais que 80% do total das lipoproteínas, o transporte dos triglicérides é realizado pelas lipoproteínas de menor densidade, principalmente pela VLDL (HOCQUETTE; BAUCHART, 1999; KANEKO et al., 2008).

Além da importância já conhecida das lipoproteínas pelo transporte de colesterol e triglicérides, alguns autores afirmam que as lipoproteínas, principalmente a HDL, estimulam a síntese de progesterona na circulação (WILLIAMS, 1989; MANCIO et al., 1999).

2.1.7 Ácido graxo não esterificado (NEFA)

A síntese dos ácidos graxos pode ocorrer em diversos tecidos, porém somente são produzidos em grande quantidade pelo fígado, tecido adiposo e glândula mamária (KANEKO et al., 2008). Os NEFA são utilizados por grande parte dos tecidos como fonte energética e, estão relacionados com a taxa de mobilização das reservas lipídicas em situação de balanço energético negativo (PEIXOTO; OSORIO, 2007), refletindo basicamente o grau de lipólise do animal, ou seja, o quanto está sendo demandado pelo organismo para suprir as necessidades energéticas (MONDAL; PRAKASH, 2004). Trata-se então de uma variável muito sensível, e indicada para determinar o balanço energético e a condição corporal.

A concentração de NEFA no sangue reflete a magnitude da mobilização do tecido adiposo (PULLEN et al., 1989), sendo que quanto maior o balanço energético negativo, mais

NEFA é liberado do tecido adiposo, aumentando a sua concentração no sangue (CAMERON et al., 1998), de forma que a concentração plasmática de NEFA é um indicador para avaliar a intensidade da mobilização das reservas de gordura corporal (BRICKNER; RASTANI; GRUMMER, 2007). Alta concentração de NEFA na circulação devido ao intenso balanço energético negativo resulta em um acúmulo de gordura, o qual está associado com alta incidência de desordens metabólicas (CAMERON et al., 1998).

Em ruminantes, a alta concentração de NEFA no fígado é fator determinante no acúmulo de triglicerídeos neste órgão, resultado da intensa lipólise, todavia, o fígado não pode aumentar a produção das proteínas de muito baixa densidade “Very Low Density Lipoprotein” (VLDL), que são encarregadas de levar os triglicerídeos acumulados no fígado até os tecidos. Sendo assim, o fígado acumula triglicerídeos e como resultado a função hepática é comprometida, o animal apresenta baixa produtividade, reduz a ingestão de alimentos e apresenta baixo desempenho reprodutivo (CAMERON et al., 1998).

A relação dos NEFA com a reprodução vem sendo explicada por algumas pesquisas. Estudos realizados *in vitro* por Jorritsma et al. (2004), demonstram que altas concentrações de NEFA reduzem a proliferação de células da granulosa, retardando a maturação do oócito, prejudicando, desta forma, a produção de blastocistos. Além disso, os níveis de NEFA estão ligados com a ação leucocitária, o que explica a relação entre esse metabólito e o risco de doenças uterinas (GUNNINK, 1984). O Laboratório de Diagnóstico Veterinário do Colégio de Medicina Veterinária da Universidade do Estado de Oregon, Estados Unidos (2015), utiliza o limite de 0,91 mmol/L como limite para a normalidade de NEFA em bovinos de corte.

2.1.8 Betahidroxibutirato (BHB)

Da mesma maneira que os NEFA, o BHB está relacionado com a taxa de mobilização das reservas lipídicas em situação de balanço energético negativo (PEIXOTO; OSORIO, 2007). Devido ao fato de a concentração de glicose no sangue ser diminuída apenas quando o déficit de energia é muito intenso, a concentração de BHB no sangue pode ser utilizada como indicador de déficit energético (ROWLANDS, 1980), porém de forma limitada, já que só é útil em situações em que a demanda de glicose é crítica, como no caso do balanço energético negativo. Nessas situações, a concentração de BHB é maior devido a alta demanda energética requerida

(VASQUEZ-AÑON et al., 1994). Essa elevação promove efeitos prejudiciais na saúde e produção devido à suposta relação dessa deficiência e imunossupressão (HAMMON et al., 2006). A escolha do BHB como corpo cetônico para a avaliação clínica se justifica por sua estabilidade no plasma ou soro e por não possuir controle homeostático tão estreito quanto a glicose (HERDT, 2000). Por estarem relacionados ao balanço energético negativo (BEN), Ospina et al. (2010) relatam que concentrações elevadas de NEFA e BHB diminuiram as chances de concepção. Studer et al. (1993) citam que a concentração de 10,4 mg/dL de BHB é o limite da normalidade para esse metabólito.

2.2 RESPOSTA INFLAMATÓRIA, PROTEINOGRAMA E PROTEÍNAS DE FASE AGUDA

Logo após a deposição do sêmen no trato reprodutivo, as fêmeas apresentam uma reação inflamatória. Esta reação inflamatória induzida pós-inseminação é fisiológica e transitória, e serve para remoção do excesso de espermatozoides mortos e outros contaminantes uterinos introduzidos com a deposição do sêmen, sendo caracterizada pela rápida infusão de polimorfonucleares (PMN) (TROEDSSON, 1999).

Uma resposta inflamatória aguda é de curta duração e, além de reação local, ocorre também uma reação sistêmica, chamada de resposta de fase aguda (BILATE, 2007). Esta resposta é uma condição fisiológica que ocorre no início do processo inflamatório (SAUT et al., 2009) e é caracterizada pela produção de diversos hormônios e proteínas de fase aguda (GRUYS et al., 2005). Essas proteínas são encontradas no sangue dos animais em concentrações que diferem dos valores de referência em situações de lesões intra ou extracorpóreas (GRUYS et al., 1994; GANHEIM et al., 2007).

Nas situações de dano tecidual, o fígado do animal produz uma série de produtos denominados reagentes da fase aguda, entre esses, as proteínas de fase aguda (PFA), que são consideradas indicadoras de resposta aguda de processos inflamatórios de diferentes causas (GRUYS et al., 1994).

Essas proteínas tem sido consideradas como potenciais indicadoras da presença de doenças e bem-estar em animais e também estão relacionadas a sanidade do rebanho (MURATA et al., 2004)

A resposta de fase aguda é uma reação complexa e inespecífica de um organismo animal e se desenvolve rapidamente após qualquer injúria tecidual, antes mesmo do estímulo da resposta imune específica e, em muitos casos, antes do início dos sinais clínicos, por isso, as proteínas de fase aguda (PFA) podem ser consideradas marcadores precoces de qualquer processo patológico (CERÓN et al., 2005).

A origem desta resposta pode ser atribuída a causas infecciosas, imunológicas, neoplásicas, traumáticas ou outras e o seu propósito é restaurar a homeostase e remover a causa do desequilíbrio (CERÓN et al., 2005). Como consequência deste processo, ocorrem diferentes efeitos sistêmicos que incluem aumento do cortisol sanguíneo e mudanças metabólicas (lipólise, glicogenólise, catabolismo muscular). A resposta também inclui variações nas concentrações de proteínas plasmáticas, conhecidas como PFA (ECKERSALL, 2005), que variam mais de 25% quando comparadas com as concentrações basais (JAIN, 1989).

As lesões teciduais ativam o sistema complemento, opsoninas e agregação plaquetária que geram uma resposta local imediata e inespecífica; como a atuação dos linfócitos, macrófagos, fibroblastos e células endoteliais que liberam as IL-1, IL-6 e IL-8 e TNF- α que estimulam o sistema imunológico, o cérebro (eixo hipotálamo-hipófise-adrenal) e os hepatócitos, os quais passam a sintetizar e liberar as PFAs que seguem para o local da injúria tecidual. Assim as PFAs em conjunto com as demais alterações sistêmicas irão mediar a inflamação (GRUYS et al., 2005; JAIN; GAUTAM; NASEEM, 2011).

O estímulo para a produção das PFAs ocorre entre seis e oito horas após a agressão, mas a persistência de concentrações elevadas depende da gravidade do processo desencadeador e da resposta do organismo (JAIN, 1989; CERÓN et al., 2005). Sua concentração máxima normalmente é atingida entre 24 e 48 horas após a estimulação e o declínio ocorre com a resolução do processo desencadeador (JAIN; GAUTAM; NASEEM, 2011).

A maioria dessas proteínas é formada por glicoproteínas sintetizadas principalmente por hepatócitos e são consideradas indicadores fiéis da resposta sistêmica frente aos processos inflamatórios e infecciosos (JAIN, 1989).

De acordo com Cerón et al. (2005) e Calazans et al. (2009) existem dois tipos de proteínas de fase aguda, as positivas e as negativas. As PFA positivas são aquelas que aumentam suas concentrações durante a resposta de fase aguda. Existem também proteínas que tem sua concentração diminuída durante a resposta de fase aguda. Essas são as PFA negativas e dentre elas pode-se citar a albumina.

A alteração nas concentrações de PFA demonstra que houve uma agressão a algum órgão ou sistema. Alterações nas concentrações dessas proteínas embora não nos ajudem a afirmar especificamente qual é a agressão, demonstram que o organismo ainda está lutando contra a injúria (PALTRINIERI, 2007).

2.2.1 Albumina

A albumina é sintetizada no fígado e suas concentrações no sangue são utilizadas como indicador da função hepática e do estado proteico do animal. Sendo considerada um indicador sensível dessa condição, de forma que a má nutrição pode causar a queda desta proteína no sangue (GONZÁLEZ, 2000). De acordo com Payne e Payne (1987) é a principal proteína plasmática e contribui com 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo. Sua função está relacionada com o transporte de substâncias no plasma pelo fato de ter capacidade de se ligar com uma série de compostos. Ruminantes apresentam baixa velocidade de síntese e degradação dessa proteína e por esta razão é necessário um longo período para detectar mudanças significativas nas concentrações de albumina (WITTWER et al., 1987).

A baixa concentração dessa proteína é reflexo de baixa integridade do fígado ou baixa suplementação de aminoácidos oriundos da dieta. As causas podem ser diferenciadas pela velocidade do surgimento de seus efeitos, quando sua redução estiver ligada à dieta, apenas irá aparecer após severa e prolongada subnutrição e quando ligada à doença hepática, o efeito deve ser imediato (WITTWER et al., 1987). Os mesmo autores afirmam que a concentração sérica de albumina pode variar ao longo do ano, conforme as variações climáticas e seu efeito sobre as pastagens, sendo que quanto melhor as condições das pastagens, mais altos são os valores de albumina.

A hipoalbuminemia pode afetar o metabolismo de outras substâncias devido ao papel da albumina como transportador. A relação dessa proteína com a reprodução possivelmente está associada com sua capacidade de transporte de substâncias no sangue, principalmente com o transporte de hormônios já que bovinos com hipoalbuminemia falham em apresentar todo o seu potencial reprodutivo (ROWLANDS; MANSTON, 1983) e vacas com teores de albumina $\geq 2,8$ g/dl apresentam maiores taxas de prenhez (78%) do que vacas com teores reduzidos (50%)

(GREGORY; SIQUEIRA, 1983). Sendo assim, os níveis de albumina são positivamente relacionados com o desempenho produtivo e reprodutivo (PAYNE; PAYNE, 1987).

Além de ser a principal proteína plasmática, contribuir fortemente com a osmolaridade sanguínea e exercer função de transporte de diversas substâncias no sangue (PAYNE; PAYNE, 1987; COLES, 1984), a albumina também é indicativa da resposta inflamatória, sendo caracterizada como uma PFA negativa (CERÓN et al., 2005; CALANZAS et al., 2009). De acordo com Barros Filho (1995), o valor de referência para albumina em fêmeas zebuínas da raça Nelore em idade reprodutiva no Brasil varia de 3,09 a 3,17 g/dL.

2.2.2 Proteínas totais

As proteínas exercem funções importantes, como o transporte de substâncias, dentre elas, os hormônios, manutenção do equilíbrio ácido básico, equilíbrio osmótico e da viscosidade do sangue e participam do processo de coagulação do sangue (DUNCAN et al., 1982). As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que sua taxa de síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal e com a funcionalidade hepática (PAYNE; PAYNE, 1987). A alteração das proteínas totais pode ser causada por algumas lesões tais como queimaduras, peritonite, ingestão inadequada de alimentos, aumento da degradação proteica na gliconeogênese, desidratação, neoplasia e quadros de choque (COLES, 1984). A diminuição das proteínas totais no plasma está relacionada a transtornos renais e intestinais, hemorragias ou por deficiência na alimentação (KANEKO et al., 2008).

A relação das proteínas totais com a reprodução, possivelmente está relacionada ao transporte de substâncias, principalmente de hormônios. De acordo com Barros Filho (1995), o valor de referência para proteína total em fêmeas zebuínas da raça Nelore em idade reprodutiva no Brasil varia de 6,90 a 7,19 g/dL. No entanto, Kaneko et al. (2008) afirma que esse valor pode variar de 7 a 8,5 g/dL.

2.3 HORMÔNIOS

Com relação ao perfil hormonal, a dosagem de estradiol, progesterona e cortisol poderiam sugerir causas de falha na reprodução. Para compreender e predizer o desempenho reprodutivo das fêmeas é necessário conhecer os mecanismos fisiológicos que regulam a atividade reprodutiva e suas variações (CHEMINEAU et al., 1993).

2.3.1 Cortisol

O cortisol é um glicocorticoide produzido no córtex da glândula adrenal. Trata-se de um mediador do metabolismo intermediário com funções de estimulação da glicogênese, aumento da glicose no sangue, lipólise, bloqueio da resposta inflamatória e depressão do sistema imune. É um dos principais hormônios envolvidos na resposta ao estresse crônico, podendo apresentar efeitos negativos sobre a reprodução (GRECO; STABENFELDT, 1999). De acordo com Doornenbal, Tong e Murray (1988) o valor médio de cortisol para fêmeas bovinas de corte é 68,9 nM/L.

2.3.2 Estradiol

O estradiol é o hormônio produzido durante o crescimento dos folículos (FORTUNE et al., 2004) e realiza parte do controle da liberação de gonadotrofinas pelo hipotálamo. O aumento deste hormônio na circulação sanguínea sensibiliza o sistema nervoso central, fazendo com que a fêmea manifeste sinais de estro. Atua também nos centros controladores da onda pré-ovulatória, fazendo com que grande quantidade de GnRH seja liberada na circulação (BURATINI, 2007), provocando o efeito *feedback* positivo (FORTUNE et al., 2004). Perry et al. (2014) avaliaram as concentrações de estradiol em vacas de corte durante o protocolo de IATF e observaram que no pico de estradiol as concentrações deste hormônio variam entre 6,2 e 12,8 pg/mL em animais que não mostram sinais de cio e os que mostram sinais de cio,

respectivamente. Chenault et al. (1975) citam que em fase de diestro os valores médios para este hormônio são de 2 pg/mL.

2.3.3 Progesterona

A progesterona está relacionada ao estabelecimento e manutenção da gestação (BAIRD, 1992). Em altas concentrações, este hormônio promove redução da frequência na pulsatilidade de LH, influenciando desta maneira, o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (WEBB et al., 1999). Durante o estro espera-se que a concentração plasmática de progesterona seja menor que 1ng/mL (WISE et al., 1982). Com a formação do corpo lúteo e produção deste hormônio pelas células luteínicas os valores aumentam gradativamente e atingem valores máximos ao redor de 10 dias após a ovulação (WISE et al., 1982) quando atinge um valor próximo a 7,5 ng/mL (VIANA et al., 1999).

2.4 QUALIDADE DO SÊMEN

Além das condições fisiológicas da fêmea, a qualidade do sêmen utilizado para a IATF também influencia a fertilização. A qualidade do sêmen depende da integridade e função de todas as estruturas que compõem a célula espermática, tais como membrana plasmática, flagelo, mitocôndrias, acrossomo e cromatina. Estas estruturas vêm sendo avaliadas por técnicas separadas, que nem sempre correspondem à capacidade fecundante do espermatozoide, visto que este precisa apresentar um conjunto de características para cumprir sua função (CELEGHINI et al., 2010).

De acordo com o Manual do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013) uma palheta de sêmen bovino é considerada apta para a comercialização e uso na IA quando apresentar pelo menos 10×10^6 espermatozoides com motilidade progressiva, sendo $\geq 30\%$ de motilidade progressiva, escore de vigor ≥ 3 e $\leq 30\%$ de defeitos morfológicos totais, sendo que admite-se entre 6×10^6 e 10×10^6 espermatozoides móveis/palheta quando o total de defeitos espermáticos for $\leq 20\%$. Técnicas para avaliar mais características espermáticas

simultaneamente, como integridade de membrana plasmática e acrossomal e função mitocondrial, vêm sendo desenvolvidas (CELEGHINI et al., 2007) e podem corresponder de forma mais precisa à capacidade fertilizante do sêmen do que somente a motilidade progressiva (OLIVEIRA et al., 2014a).

A qualidade do sêmen pode também exercer influência sobre a resposta inflamatória que acontece no útero após a IA. Independente da qualidade do sêmen, sua deposição no útero na fêmea induz uma resposta que é caracterizada pelo aumento de células polimorfonucleadas (TROEDSSON et al., 1995) e essa resposta tem como objetivo a limpeza do útero, removendo o excesso de espermatozoides e a contaminação que é a associada com a entrada do sêmen no trato reprodutivo da fêmea (TROEDSSON, 1997). De acordo com Rozeboom et al. (1997), a persistência de produtos inflamatórios no útero pode ser a causa de queda na fertilidade. Além disso, Bollwein, Sowade e Stolla (2003) observaram aumento do fluxo sanguíneo do útero de éguas que tiveram sêmen *in natura* depositado no trato reprodutivo e atribuíram este aumento à maior resposta inflamatória uterina devido à presença de células mortas que intensificavam a inflamação. Sendo assim, é possível que amostras de sêmen que possuam maior quantidade de células lesadas possam intensificar a resposta inflamatória do útero e que esta resposta possa ser observada por alterações sistêmicas.

2.5 ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER

Desde que a ultrassonografia em tempo real foi introduzida na Medicina Veterinária, a possibilidade de acompanhar as mudanças no trato reprodutivo por uma técnica não-invasiva tornou-se possível (BOLLWEIN et al., 2000). Com a ultrassonografia Doppler, que tem sido aplicada na obstetrícia e na ginecologia humana e de várias espécies animais (BOLLWEIN et al., 2004), pode-se estudar o fluxo sanguíneo e, portanto, identificar alterações vasculares nos órgãos reprodutivos (CHUANG et al., 1999). Informações sobre o fluxo sanguíneo de vasos, tecidos e órgãos do aparelho reprodutor podem ser obtidas por meio desta ferramenta (FERREIRA; MEIRA, 2011). Desse modo a ultrassonografia Doppler pode ser utilizada para avaliar as alterações que ocorrem no fluxo sanguíneo do útero de acordo com a condição sistêmica do animal e de acordo com seu desempenho no programa de IATF.

3 OBJETIVOS

O estudo foi dividido em três experimentos, que estão apresentados no formato de três artigos científicos, apresentados em capítulos, com os seguintes objetivos:

Artigo 1

1. Estudar os componentes metabólicos, hormonais e proteínas de fase aguda do sangue, verificando se existe diferença nas suas concentrações entre vacas que foram inseminadas e vacas que não passaram pelo processo de inseminação.
2. Estudar a relação dos componentes metabólicos, hormonais e proteínas de fase aguda do sangue sobre as alterações que ocorrem na hemodinâmica uterina.

Artigo 2

1. Estudar os efeitos da qualidade do sêmen sobre perfil hepático e proteínas de fase aguda do sangue em vacas.
2. Estudar a relação dos componentes metabólicos, hormonais e proteínas de fase aguda do sangue sobre a vascularização uterina avaliada por modo espectral e modo color Doppler.

Artigo 3

1. Comparar os componentes metabólicos, hormonais e proteínas de fase aguda do sangue entre animais que se tornaram prenhes ou não (prenhe X vazia).
2. Verificar se há relação das alterações que ocorrem na hemodinâmica uterina com a fertilidade das vacas (prenhe X vazia)

4 HIPÓTESES

As hipóteses de cada artigo estão descritas a seguir:

Artigo 1

O processo da IA reflite de forma sistêmica no organismo do animal, devido à resposta inflamatória uterina que é causada pela deposição do sêmen, alterando assim alguns parâmetros dos perfis avaliados. Adicionalmente, a vascularização uterina é correlacionada com parâmetros que são indicativos de inflamação, bem como com os componentes hormonais.

Artigo 2

A qualidade do sêmen utilizado na IA causa alterações que refletem de forma sistêmica no organismo do animal, devido à resposta inflamatória uterina que é causada pela deposição do sêmen, alterando assim alguns parâmetros dos perfis avaliados. Adicionalmente, a vascularização uterina é correlacionada com parâmetros que são indicativos de inflamação, bem como com os componentes hormonais.

.

Artigo 3

Vacas vazias apresentam perfil sanguíneo e hemodinâmica uterina diferente de vacas prenhes, e essas diferenças são capazes de elucidar causas de falha na concepção.

5 ARTIGO 1: A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO E SEUS REFLEXOS SOBRE OS PERFIS RENAL, HEPÁTICO, ENERGÉTICO, HORMONAL E PROTEICO E A RELAÇÃO DESSES PERFIS COM A HEMODINÂMICA UTERINA EM VACAS NELORE

5.1 INTRODUÇÃO

A inseminação artificial teve grande impacto na constituição genética da população de bovinos em todo o mundo, já que esta biotécnica possibilita a multiplicação de material genético superior (CARVALHO et al., 2008). Adicionalmente, o intenso progresso observado na sincronização da ovulação e na manipulação do ciclo estral tem facilitado o emprego da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (BARUSELLI et al., 2007).

A IATF, como todas as biotécnicas reprodutivas, visa melhorar as taxas de fertilidade que é um dos parâmetros de maior importância em um rebanho bovino comercial. No entanto, a fertilidade pode ser influenciada por vários fatores dentre os quais podem ser citados os eventos que acontecem no organismo da fêmea, incluindo as alterações na hemodinâmica uterina, além de todas as alterações metabólicas e hormonais.

Esses eventos e alterações são amplamente estudados em vacas que são criadas para a produção de leite, no entanto, em gado de corte as investigações são escassas e inconclusivas. Kaufmann et al. (2009) sugerem que as fêmeas bovinas apresentam uma reação inflamatória uterina após a IA e estudos realizados por Oliveira et al. (2014b) demonstraram que alterações na hemodinâmica uterina são observadas após IATF em vacas paridas da raça Nelore. Com base nesses achados, o objetivo deste trabalho é verificar, pela primeira vez, se o processo da IA (contenção do animal, passagem da pipeta pela cérvix e deposição do sêmen no corpo uterino) causa alterações que podem refletir de forma sistêmica no organismo animal. Para isso, é importante estudar os componentes metabólicos, avaliando o perfil renal (ureia e creatinina), perfil hepático (ALTs, GGT e CK), perfil energético (glicose, triglicérides, colesterol, HDL, LDL, VLDL, NEFA e BHB), perfil hormonal (cortisol, estradiol e progesterona) e proteinograma (albumina e proteínas totais), verificando se existe diferença nas suas concentrações entre vacas que foram inseminadas e vacas que não passaram pelo processo de

inseminação e ainda estudar as relações dos componentes metabólicos, hormonais e proteínas de fase aguda do sangue sobre as alterações que ocorrem na hemodinâmica uterina.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia do Sêmen e Andrologia do Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga; no Laboratório Multiusuário de Análises Clínicas Veterinárias do Departamento de Medicina Veterinária da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga; e no Instituto Gênese de Análises Científicas, de novembro de 2010 a julho de 2015.

5.2.1 Seleção dos animais

Foram avaliados 40 animais, dos quais foram selecionadas 20 vacas paridas (entre 50 e 90 dias pós-parto) da raça Nelore. As fêmeas foram avaliadas previamente quanto à sanidade e higidez do trato reprodutivo e escore de condição corporal. Por ultrassonografia transretal, foram avaliados o escore uterino de 1 a 3, sendo 1 o útero com involução completa, sem líquido; 2 o útero com pequena quantidade de líquido em sua luz, com involução incompleta e pouco distendido; e 3 o útero que apresenta líquido em sua luz, podendo apresentar algum tipo de infecção, distendido e sem involução (OLIVEIRA et al., 2014b) e ovariano de 1 a 3, sendo 1 o ovário com diâmetro maior que 30 mm, com folículos em crescimento com diâmetro maior que 8,5 mm na presença de um corpo lúteo ou folículos maiores que 12 mm na ausência de corpo lúteo, 2 o ovário menor que 30 mm com folículos entre 5 e 8,5 mm; e 3 o ovário com diâmetro menor que 12 mm com folículos que apresentavam até 5 mm de diâmetro (MADUREIRA; PIMENTEL, 2005). Os animais apresentando escores uterino e/ou ovariano 3 foram excluídos do experimento. O escore de condição corporal foi classificado de 1 a 9 (SPITZER, 1986).

Nenhum dos animais avaliados no experimento apresentou escore de condição corporal <4 e >7 .

Durante o experimento, duas vacas vieram a óbito acidentalmente e então passaram a ser utilizadas somente 18 vacas.

5.2.2 Divisão dos grupos experimentais

Partindo do ponto que os animais selecionados para o experimento eram homogêneos, as unidades experimentais foram divididas de maneira inteiramente casualizada em dois grupos: Grupo inseminado (GIA, $n=9$) e Grupo não inseminado (controle) (GC, $n=9$).

5.2.3 Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

Os 18 animais foram submetidos a um protocolo de sincronização do estro e da ovulação e divididos em dois grupos experimentais homogêneos, foram dispostos da seguinte forma: grupo controle, não inseminado (GC, $n=9$) e grupo submetido à inseminação artificial (GIA, $n=9$).

O protocolo de sincronização do estro e da ovulação foi realizado de acordo com Oliveira et al. (2014a) e Oliveira et al. (2014b) colocando um implante subcutâneo (3 mg de norgestomet, Crestar[®]) mais a aplicação intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol (Estrogin[®]), após 8 dias, o implante foi retirado, foi administrado 1 mg de benzoato de estradiol, 0,5 mg de cloprostenol sódico (Sincrocio[®]) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (Novormon[®]), realizando-se a IATF 30 horas depois,

O sêmen utilizado de um touro Nelore foi avaliado previamente e apresentava um total de $15,625 \times 10^6$ espermatozoides por palheta com 57% de motilidade total, 41,25% de motilidade progressiva (avaliadas pelo sistema computadorizado da motilidade espermática – CASA, Hamilthon Thorne Biosciences, modelo Ivos 12.3) e 25% de defeitos totais (analisados pela técnica da câmara úmida sob microscopia de contraste de interferência diferencial).

Para o procedimento, o sêmen foi descongelado a 37°C por 30 segundos e a inseminação foi realizada por um inseminador experiente.

5.2.4 Coletas e armazenamento do sangue

Para todos os animais do experimento, amostras foram coletadas por punção da veia jugular externa, utilizando o sistema Vacutainer®, antes do início do experimento (30 horas antes da IA) e em quatro momentos: 4, 24, 48 e 168 horas após a IA. De cada animal, coletou-se sangue para a obtenção de soro e de plasma, utilizando-se tubos sem e com a adição de anti-coagulante, respectivamente.

O sangue foi centrifugado (Centrífuga clínica Centerbio®, modelo 80-2B-15 mL, 420 g, por 15 minutos), o soro e o plasma foram separados com o auxílio de pipetas em triplicatas em microtubos de 1,5 mL, identificados e armazenados congelados a temperatura de -80°C.

5.2.5 Avaliação da vascularização uterina

Nos mesmos momentos da coleta de sangue a vascularização uterina foi avaliada utilizando um aparelho de ultrassonografia Doppler com probe linear transretal (6,5 mHz), (M5vet, Mindray®, China) no modo espectral e no modo color Doppler.

Os exames foram realizados como descrito anteriormente por Oliveira et al. (2014a) e Oliveira et al. (2014b). O modo espectral foi utilizado para avaliação do fluxo sanguíneo das artérias uterinas, sendo que a localização das artérias uterinas para seu escaneamento foi realizada de acordo com Bollwein et al. (2000). O dado utilizado para avaliação foi o índice de resistência (RI) das artérias. O exame foi realizado até que fossem obtidas, no mínimo, nove ondas semelhantes do ciclo cardíaco. Posteriormente a avaliação dessas ondas foi realizada, de modo que a cada três ondas semelhantes formadas, o valor de RI da onda mediana era anotado e somado com as outras duas ondas medianas dos próximos ciclos obtidos. Para a análise estatística foi utilizada a média das três ondas. O modo color foi utilizado para a avaliação

subjetiva da vascularização dos cornos uterinos. Foi realizado o escaneamento dos cornos uterinos direito e esquerdo de modo a obter a imagem de um corte transversal com a probe localizada na metade de cada corno uterino. A vascularização foi avaliada em escores, sendo atribuídos escores de vascularização (EV) de 0 a 4, sendo 0 (zero) referente a vascularização mínima e 4 (quatro) à vascularização máxima.

5.2.6 Quantificação das Proteínas de fase aguda e dos Componentes metabólicos do sangue

Os componentes metabólicos e proteína de fase aguda foram quantificados no Laboratório Multiusuário de Análises Clínicas Veterinárias do Departamento de Medicina Veterinária da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, utilizando analisador bioquímico automático (RX Daytona), com auxílio de kits específicos da Randox® (urea: UR3825, creatinina: CR3814, AST: AS3804, GGT: GT3817, CK: CK110, glicose: GL3815, triglicérides: TR3823, colesterol: CH3810, HDL: CH3811, NEFA: FA115, BHB: RB1007, albumina: AB3800, proteína total: TP4001. Os valores de VLDL e LDL foram calculados por fórmulas matemáticas ($VLDL = \text{Triglicérides} / 5$ e $LDL = \text{colesterol Total} - HDL - VLDL$ (mg/dL)) (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972). As análises foram realizadas a 37°C.

5.2.7 Quantificação dos Componentes hormonais do sangue

A quantificação dos componentes hormonais do sangue, estradiol, progesterona e cortisol foi realizada no Instituto Gênese de Análises Científicas, em São Paulo, pela técnica de radioimunoensaio, utilizando kits específicos para cada hormônio (cortisol: IM1841; estradiol: Ultra-Sensitive Estradiol RIA, DSL4800; progesterona: IM1188) (Immunotech®).

5.2.8 Análise estatística

Após verificar as variáveis do GIA e GC no início do tratamento (tabelas no apêndice A), utilizaram-se apenas os dados coletados 4, 24 e 48 horas após a IA para a avaliação do efeito de grupo, ou seja, dados coletados após o estabelecimento do tratamento, pois o objetivo era avaliar o efeito da IA sobre as variáveis após o procedimento, não sendo relevante utilizar os dados coletados 30 horas antes da IA. Para avaliar efeito de grupo também não foram utilizados os dados coletados 168 horas após a IA, já que esse período se encontrava muito distante do momento do procedimento. No entanto, os dados coletados em todos os momentos foram utilizados para avaliar o efeito de tempo, já que a variação pode ser mais precoce ou mais tardia, dependendo do parâmetro avaliado.

As variáveis foram avaliadas quanto a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-wilk e homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. Após os outliers serem retirados, os dados foram analisados pelo PROC MIXED (SAS, versão 9.2, 2010), utilizando modelo para medidas repetidas no tempo, avaliando efeito de grupo, tempo e interação grupo*tempo. As matrizes foram testadas e foi utilizada a que apresentava menor valor de AIC. Para a comparação das médias foi utilizado o teste de Tukey e foram consideradas diferenças estatísticas quando $P < 0,05$. Para verificar a correlação entre as variáveis, foi utilizado o PROC CORR (SAS, versão 9.2, 2010) e os coeficientes de correlação foram considerados significativos quando $P < 0,05$.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para nenhuma das variáveis foi observada interação grupo*tempo (ureia ($p=0,846$), creatinina ($p=0,168$), GGT ($p=0,936$), AST ($p=0,986$), CK ($p=0,956$), glicose ($p=0,626$), colesterol ($p=0,985$), LDL ($p=0,992$), HDL ($p=0,872$), VLDL ($p=0,549$), triglicérides ($p=0,549$), proteína total ($p=0,138$), albumina ($p=0,380$), BHB ($p=0,864$), NEFA ($p=0,754$), cortisol ($p=0,643$), estradiol ($p=0,712$) e progesterona ($p=0,947$)). Sendo assim, os resultados serão apresentados de acordo com o grupo, independente do tempo e de acordo com o tempo,

independente do grupo. As tabelas que apresentam os resultados das variáveis de cada grupo em cada momento de avaliação podem ser encontradas no apêndice A.

5.3.1 Perfil Renal

Na tabela 1 estão apresentados os resultados de ureia e creatinina do GIA e GC. Para nenhuma das variáveis foi observada diferença entre os grupos, demonstrando que o perfil renal de vacas que foram inseminadas ou não é semelhante.

Tabela 1 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de ureia e creatinina dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC)

Variável	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
Ureia (mg/dL)	15,94 $\pm$ 1,03	16,00 $\pm$ 1,12	0,965
Creatinina (mg/dL)	1,47 $\pm$ 0,04	1,46 $\pm$ 0,03	0,865

Fonte: Oliveira (2015).

Tendo em vista que os animais foram divididos de forma homogênea entre os grupos experimentais, que estavam livres de qualquer problema de sanidade e que foram avaliados previamente ao experimento, não era esperado que o perfil renal apresentasse diferenças entre os grupos, já que os animais foram mantidos sob as mesmas condições e passaram pelos mesmos procedimentos. A única diferença entre os grupos foi a deposição do sêmen no trato reprodutivo dos animais do GIA e não foram encontrados estudos que avaliassem a influência deste procedimento sobre a atividade dos rins, sendo assim, supõe-se que a IA não deveria acarretar nenhuma alteração renal.

As alterações que ocorreram no decorrer do tempo com relação às dosagens de ureia e creatinina estão apresentadas na tabela 2. Para ambas as variáveis, foi notado efeito de tempo.

Para a ureia, foi observada uma redução nos períodos de 4 e 168 horas após a IA comparados aos valores notados 30 horas antes e 24 horas após a IA, notou-se também que 48 horas após a IA foram observados valores mais baixos de ureia do que 24 horas após a IA.

Levando em consideração que não houve diferença na concentração de ureia entre os grupos, o que indica que tanto o GIA quanto o GC estavam saudáveis quanto ao perfil renal, a variação observada entre os períodos de avaliação corrobora a afirmação de Garcia (1997), que cita que a concentração de ureia no sangue pode variar, principalmente após a alimentação, já que é reflexo da ingestão de proteína, degradabilidade das fontes proteicas e energia disponível no rúmen (ROSELER et al., 1993).

Sobretudo, vale considerar que para ambos os grupos e em todos os momentos de avaliação os valores de ureia estavam dentro dos estipulados por Barros Filho (1995).

Para a creatinina, foi encontrado valor mais baixo 24 horas após a IA quando comparado a 30 horas antes da IA, não diferindo entre os outros períodos. O fato de a quantidade de creatinina formada por dia ser dependente da massa muscular, como citado por Kaneko et al. (2008), explica a ausência de diferença desse metabólito entre os grupos, já que os grupos apresentavam animais homogêneos quanto ao escore de condição corporal. Já a pequena alteração que foi notada de acordo com os períodos de avaliação pode ser explicada pelo fato de que mesmo sendo relativamente constante para um indivíduo, pode ser levemente alterada devido à alimentação, principalmente pela ingestão de proteína (KANEKO et al., 2008).

Apesar de a mesma causa ser atribuída às alterações de diferentes metabólitos, vale lembrar que a resposta a essas alterações pode não seguir os mesmos padrões para todas as variáveis, podendo ser mais precoce ou mais tardia, dependendo dos mecanismos envolvidos. De acordo com Barros Filho (1995), o valor de creatinina em fêmeas zebuínas da raça Nelore em idade reprodutiva no Brasil varia de 1,76 a 1,85 mg/dL. Em ambos os grupos e em todos os momentos de avaliação, os valores de creatinina observados foram mais baixos do que o sugerido pelo autor, no entanto, os animais não apresentaram nenhuma indicação física que pudesse sugerir que esses menores valores pudessem significar alguma alteração renal.

Tabela 2 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de uréia e creatinina de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Ureia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
-30	19,47 $\pm$ 1,71 ^{ab}	1,58 $\pm$ 0,06 ^a
4	11,39 $\pm$ 0,75 ^c	1,55 $\pm$ 0,05 ^{ab}
24	21,11 $\pm$ 0,96 ^a	1,37 $\pm$ 0,03 ^b
48	15,41 $\pm$ 1,02 ^{bc}	1,46 $\pm$ 0,04 ^{ab}
168	11,82 $\pm$ 0,57 ^c	1,42 $\pm$ 0,04 ^{ab}
Valor de P	<0,0001	0,020

^{a,b} Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre os momentos.

Fonte: Oliveira (2015).

5.3.2 Perfil hepático

A tabela 3 apresenta os resultados de AST, GGT e CK do GIA e GC. Não houve diferença entre os grupos para nenhuma das variáveis.

Tabela 3 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK) séricos dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC)

Variável	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
AST (U/L)	143,92 $\pm$ 12,11	150,62 $\pm$ 10,93	0,683
GGT (U/L)	5,76 $\pm$ 1,11	6,29 $\pm$ 1,24	0,754
CK (U/L)	1432,09 $\pm$ 287,02	1260,63 $\pm$ 164,89	0,606

Fonte: Oliveira (2015).

A atividade muscular dos grupos foi semelhante, já que todos os animais foram igualmente manejados para que o protocolo de IATF fosse realizado. Sendo assim, realmente não seria esperada diferença entre os grupos com relação à AST e CK, já que essas são dosadas em conjunto para especificar se o aumento da AST é devido a lesões hepáticas ou musculares e por a CK ser um indicador muscular específico, altamente sensível e estável (SHPIGEL; AVIDAR e BOGIN, 2003). Outro fato que deve ser relatado e que colocaria os animais sob as mesmas exigências hepáticas é atividade exigida para a metabolização dos hormônios exógenos, que foi a mesma para os dois grupos, já que ambos passaram pelo protocolo de IATF.

No entanto, Kaneko et al. (2008) afirmam que em condições normais, a AST, GGT e CK são encontradas em pequena quantidade no sangue e em grandes quantidades no interior das células de alguns tecidos e que o extravasamento dessas enzimas para o sangue pode ser indicativo de lesão tecidual. Sendo assim, seria possível que o grupo inseminado apresentasse maiores valores dessas enzimas em decorrência da resposta inflamatória que causa lesão tecidual e que, de acordo com Troedsson (1999), acontece no útero após a IA. Entretanto, essa diferença não foi observada, possivelmente pelo fato de essa reação inflamatória ser uma resposta local, incapaz de alterar a concentração das enzimas hepáticas. Os resultados das dosagens de AST, GGT e CK em cada momento de avaliação estão apresentados na tabela 4. Para todas as variáveis, foi notado efeito de tempo.

Tabela 4 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK) séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	AST (U/L)	GGT (U/L)	CK (U/L)
-30	98,22 $\pm$ 3,83 ^b	2,88 $\pm$ 0,72 ^b	199,52 $\pm$ 36,18 ^b
4	139,27 $\pm$ 12,37 ^{ab}	7,16 $\pm$ 1,46 ^a	1544,81 $\pm$ 321,62 ^a
24	155,66 $\pm$ 17,17 ^a	4,11 $\pm$ 1,01 ^{ab}	1566,88 $\pm$ 324,01 ^a
48	146,88 $\pm$ 12,54 ^a	6,72 $\pm$ 01,69 ^{ab}	927,37 $\pm$ 169,51 ^{ab}
168	110,50 $\pm$ 6,40 ^{ab}	6,55 $\pm$ 1,60 ^{ab}	167,62 $\pm$ 28,77 ^b
Valor de P	0,0001	0,048	<0,0001

^{a,b} Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre os momentos.

Fonte: Oliveira (2015).

Notou-se aumento da enzima AST 24 e 48 horas após a IA, comparados ao valor observado 30 horas antes da IA, não diferindo entre os outros momentos. Por outro lado, a enzima GGT apresentou aumento somente 4 horas após a IA em relação a 30 horas antes da IA, se mantendo similar nos demais períodos. Já com relação à CK, é possível notar que houve um aumento de seus valores 4 e 24 horas após IA comparados aos valores encontrados 30 horas antes e 168 horas após a IA, mas semelhante aos valores encontrados 48 horas após a IA.

Com esses resultados é possível inferir que as alterações nas concentrações de AST e CK que ocorreram de acordo com os períodos de avaliação são decorrentes da intensa atividade muscular causada pelas aplicações intramusculares de hormônios, pelo exercício forçado de levar os animais do pasto para o curral diversas vezes e principalmente pelo estresse muscular

causado pelas inúmeras passagens pelo tronco de contenção. Essa suposição pode ser reforçada pela afirmação de Shpigel, Avidar e Bogin (2003) que dizem que pode ocorrer incremento da enzima CK quando há atividade muscular prolongada. Nota-se que tanto para a AST quanto para a CK, os maiores valores são encontrados entre 4 e 48 horas após a IA, que foi o período de intensa atividade dos animais. Para as duas enzimas, os valores observados quando os animais ainda não estavam em intensa atividade (30 horas antes da IA) ou quando tiveram um período de descanso entre as avaliações (168 horas após a IA) foram mais baixos quando comparados aos dos períodos de maior atividade. De acordo com Peixoto et al. (2006) a AST pode ser avaliada como marcador da função hepática, mas suas alterações podem também ser relacionadas com o metabolismo muscular (COLES, 1984). Tais resultados demonstram que o aumento da AST foi decorrente de atividade muscular e não de alteração da função hepática, já que houve alteração dos valores de CK simultaneamente e, segundo Kaneko et al. (2008), as duas enzimas são avaliadas em conjunto para especificar se o aumento da AST é devido a lesões hepáticas ou musculares.

As enzimas hepáticas não seguiram os padrões estabelecidos por Barros Filho (1995) e por Kaneko et al. (2008) o que demonstra que as exigências de exercício pelas quais os animais de ambos os grupos passaram podem ter sido capazes de alterar esses parâmetros.

5.3.3 Perfil energético

A tabela 5 apresenta os resultados de glicose, triglicérides, colesterol, HDL, LDL, VLDL, NEFA e BHB dos GIA e GC. Não foi observado efeito de grupo para nenhuma das variáveis.

Tabela 5 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de glicose plasmática, triglicérides, colesterol, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), ácido graxo não esterificado (NEFA) e beta-hidroxibutirato (BHB) séricos dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC)

Variável	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
Glicose (mg/dL)	87,97 $\pm$ 4,61	95,00 $\pm$ 5,19	0,333
Triglicérides (mg/dL)	27,60 $\pm$ 2,47	27,24 $\pm$ 2,63	0,923
Colesterol (mg/dL)	166,21 $\pm$ 9,30	165,24 $\pm$ 7,65	0,936
HDL (mg/dL)	75,24 $\pm$ 1,48	79,47 $\pm$ 3,30	0,293
LDL (mg/dL)	85,44 $\pm$ 8,93	80,31 $\pm$ 4,72	0,596
VLDL (mg/dL)	4,81 $\pm$ 0,45	5,27 $\pm$ 0,35	0,430
NEFA (mmol/L)	0,96 $\pm$ 0,09	0,92 $\pm$ 0,08	0,790
BHB (mg/dL)	7,08 $\pm$ 0,61	8,20 $\pm$ 0,49	0,160

Fonte: Oliveira (2015).

A síntese de glicose é dependente do perfeito funcionamento do fígado, já que é este órgão que regula a concentração deste metabólito no sangue e sua oferta aos tecidos (HERDT, 2000). Tendo em vista que o perfil hepático dos grupos não foi diferente, entende-se que a atividade deste órgão seja semelhante para todos os animais, seja do grupo inseminado ou não e, desta forma, não seria esperado que a glicose apresentasse concentração diferente entre os grupos. Outro fator que sustenta a hipótese de que a diferença nas concentrações de glicose não era esperada entre os grupos é que esta diferença é esperada apenas em animais de idades diferentes, já que segundo Wathes et al. (2007) baixas concentrações de glicose no sangue podem ser causadas pela demanda de glicose que as atividades reprodutivas requerem. Neste experimento todos os animais estavam ativos do ponto de vista reprodutivo e por isso era esperado que não apresentassem diferenças quanto às concentrações desse metabólito.

Os triglicérides compõem a gordura e estão relacionados a funções como estoque e reserva de energia e isolamento térmico, podendo ser estocados em grande quantidade no tecido adiposo (KANEKO et al., 2008). Essas afirmações explicam o fato de não ter havido diferença entre os grupos, pois os animais foram distribuídos de forma homogênea quanto ao escore de condição corporal que reflete a quantidade de gordura presente no animal.

Os resultados da dosagem de colesterol encontrados neste experimento corroboram as afirmações de diversos autores. Segundo Kaneko et al. (2008), o colesterol pode ser sintetizado no fígado, gônadas, placenta, intestino, glândula adrenal e pele. Com base nessas informações, não era esperado que os grupos apresentassem concentrações diferentes deste metabólito já que o perfil hepático dos grupos foi semelhante; os ovários de todas as fêmeas foram avaliados de

acordo com Madureira e Pimentel (2005), sendo que os animais utilizados no experimento apresentavam características ovarianas e uterinas semelhantes; as fêmeas não estavam gestantes e foram divididas de forma homogênea entre o GIA e o GC. Sendo assim, não era esperado que nenhum órgão responsável pela sintetização do colesterol apresentasse funcionamento diferente entre os animais. Além disso, de acordo com Arave, Miller e Lamb (1975) a concentração de colesterol tende a aumentar com o evoluir da idade e como citado anteriormente todas as fêmeas utilizadas no experimento eram paridas, e estavam em idade reprodutiva.

Os grupos também apresentaram concentrações semelhantes entre si de HDL e LDL. Esses resultados corroboram a afirmação de Kaneko et al. (2008) que citam que o colesterol circula no sangue ligado às lipoproteínas e dessa forma, era esperado que as concentrações de HDL e LDL nos dois grupos fossem semelhantes, já que a concentração de colesterol foi semelhante entre os grupos. Essa teoria é reforçada pelo fato de os grupos apresentarem concentrações semelhantes de VLDL, já que essa lipoproteína também é responsável por carrear o colesterol. As concentrações semelhantes de VLDL também vão de acordo à afirmação de Hocquette e Bauchart (1999) que dizem que a VLDL realiza principalmente o transporte de triglicérides, que neste experimento também foi semelhante entre os grupos.

Segundo Kaneko et al. (2008) os NEFA são produzidos em grande quantidade pelo fígado, tecido adiposo e glândula mamária. Como relatado anteriormente, o perfil hepático dos animais foi semelhante entre os grupos. Os grupos foram divididos de forma homogênea quanto ao escore de condição corporal e todas as fêmeas tinham bezerro ao pé, ou seja, eram lactantes. Sendo assim, não era esperado que os valores de NEFA fossem diferentes entre os grupos já que os órgãos responsáveis pela produção de NEFA estavam passando pelas mesmas exigências nos animais de ambos os grupos. Além disso, Mondal e Prakash (2004) afirmam que a concentração de NEFA no sangue reflete o grau de lipólise do animal, ou seja, o quanto está sendo demandado pelo organismo para suprir as necessidades energéticas. Esta afirmação também vai de acordo com os resultados encontrados neste experimento, já que os animais estavam sob as mesmas condições alimentares e tinham necessidades energéticas semelhantes já que todos os animais eram lactantes e passaram pelas mesmas exigências de exercício.

De acordo com Peixoto e Osório (2007), assim como o NEFA, o BHB está relacionado com a taxa de metabolização de reservas lipídicas, sendo assim a diferença na concentração desse metabólito entre GC e GIA também não era esperada pelos mesmos motivos descritos anteriormente em relação ao NEFA.

A tabela 6 apresenta os resultados das dosagens de glicose, triglicérides, colesterol, HDL, LDL, VLDL, NEFA e BHB em cada momento de avaliação.

Tabela 1 – Médias ± erro padrão das médias de glicose plasmática, triglicérides, colesterol, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), ácido graxo não esterificado (NEFA) e beta-hidroxibutirato (BHB) séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Variável	Tempo em relação à IA (horas)					Valor de P
	-30	4	24	48	168	
Glicose (mg/dL)	84,41±4,60 ^b	113,36±9,47 ^a	90,32±4,59 ^{ab}	91,11±5,18 ^{ab}	106,49±8,02 ^{ab}	0,040
Triglicérides (mg/dL)	41,56±2,07 ^a	30,77±1,70 ^{ab}	23,64±3,11 ^b	21,23±1,95 ^b	24,893±1,672 ^b	<0,0001
Colesterol (mg/dL)	180,27±8,78	174,47±10,30	180,44±10,59	172,15±9,70	159,24±10,18	0,484
HDL (mg/dL)	80,57±2,89	82,21±3,51	82,25±3,62	78,32±3,23	74,18±3,52	0,327
LDL (mg/dL)	91,46±6,63	86,10±7,34	93,45±7,77	89,58±7,04	77,91±7,71	0,560
VLDL (mg/dL)	8,31±0,41 ^a	6,15±0,34 ^{ab}	4,73±0,62 ^b	4,24±0,39 ^b	7,14±2,19 ^{ab}	<0,0001
NEFA (mmol/L)	0,78±0,08 ^{ab}	0,78±0,10 ^{ab}	1,13±0,10 ^a	0,91±0,10 ^{ab}	0,68±0,09 ^b	0,031
BHB (mg/dL)	5,14±0,34 ^c	5,93±0,37 ^{bc}	7,25±0,66 ^b	9,74±0,66 ^a	5,27±0,37 ^{bc}	<0,001

Fonte: Oliveira (2015).

^{a,b,c} Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística.

A maior concentração de glicose foi notada 4 horas após a IA comparada a concentração encontrada 30 horas antes da IA, mas com valores semelhantes nos outros períodos de observação. A glicose é sintetizada principalmente no fígado, através da gliconeogênese (HERDT, 2000) e segundo Peixoto et al. (2010) tem sua concentração sanguínea relativamente constante no organismo animal. No entanto, neste experimento, foram notadas alterações na concentração de glicose de acordo com os períodos de avaliação. Esses resultados contestam os achados de Kenny et al. (2002) que observaram que não há variação das concentrações de glicose entre as fases do ciclo estral.

Grummer (1995) e Mendes et al. (2005) citam que uma das causas da variação dos níveis de glicose é o estresse que aumenta a gliconeogênese hepática. Essa afirmação pode sugerir explicações para as alterações observadas neste experimento, sendo que o estresse causado durante o manejo no momento da coleta de sangue possivelmente teve influência sobre os resultados. Em humanos, a dosagem de glicose no sangue é feita após jejum de 12 horas (SOCIEDADE, 2005). Neste experimento, os animais não foram privados de alimentação para a realização da coleta das amostras e Mendes et al. (2005) afirmam que a quantidade de carboidratos ingerida também é uma das causas de alterações nas concentrações de glicose. Sendo assim, qualquer diferença na alimentação dos animais nos diferentes períodos de avaliação, pode ter sido a causa da flutuação dos resultados.

Adicionalmente, fatores externos como exercícios físicos dos animais (BARBOSA; ANDRADE, 2008), bem como acondicionamento, preservação e transporte da amostra biológica até o momento da dosagem podem gerar um resultado final incorreto (SOCIEDADE, 2005). Estudos demonstram que ocorre alteração da concentração de glicose durante o período de armazenamento da amostra havendo dificuldade em controlar a rápida glicólise (DIMAS; SOHLER, 2008; PENG et al., 2010). Apesar de o experimento ter seguido o máximo de padronização possível, inevitavelmente, a amostra de sangue coletada do primeiro animal a passar no tronco de contenção demorou mais tempo para ser processada do que as amostras seguintes e, além disso, depois de centrifugadas e congeladas a -80 °C, as amostras permaneceram armazenadas por um longo período até a dosagem ser realizada. Estes fatos podem ter influenciado os resultados, justificando as alterações apresentadas de acordo com os períodos de avaliação.

Com relação aos triglicérides, valores mais altos foram notados 30 horas antes da IA em relação aos observados 24, 48 e 168 horas após a IA, não diferindo do valor observado 4 horas após a IA. Segundo Hocquette e Bauchart (1999) a quantidade de triglicérides encontrada no

sangue segue a relação do que é ingerido pelo animal, menos o que é utilizado pelo organismo. Neste experimento foi possível notar uma queda nos valores de triglicérides com o passar do tempo. Essa alteração possivelmente ocorreu pelo exercício físico exigido dos animais pela obrigação de caminhar do pasto ao tronco de contenção inúmeras vezes e pelo próprio estresse dos procedimentos fazendo que a demanda por energia aumentasse e a relação do que foi ingerido menos o que foi utilizado pelo animal, diminuísse. Um achado interessante é que as variações que ocorreram para VLDL são muito semelhantes às de triglicérides, o que corrobora a afirmação de Hocquette e Bauchart (1999) e Kaneko et al (2008) que citam que essa lipoproteína é responsável por carrear este metabólito.

Não foram observadas diferenças nas concentrações de colesterol, HDL e LDL entre os períodos de avaliação. Esses resultados também vão de acordo à afirmação de Kaneko et al. (2008) de que o colesterol circula no sangue ligado a essas lipoproteínas e por esta razão o comportamento dessas variáveis durante os períodos de avaliação foi semelhante.

Com relação ao NEFA notou-se maior concentração 24 horas após a IA do que 168 horas após a IA, sendo os resultados semelhantes nos outros períodos de avaliação.

O pico de BHB foi observado 48 horas após a IA, sendo diferente de todos os outros períodos avaliados, ainda notou-se maior concentração de BHB 24 horas após a IA do que os valores encontrados 30 horas antes da IA.

Segundo Pullen et al. (1989), a concentração de NEFA no sangue reflete a magnitude da mobilização do tecido adiposo, sendo que quanto mais tecido adiposo for mobilizado, maior é a concentração de NEFA no sangue. Mondal e Prakash (2004) também afirmam que a concentração de NEFA reflete o grau de lipólise que acontece para atender a demanda energética do animal. Nota-se que durante o período de intensa atividade dos animais (4, 24 e 48 horas após a IA) os valores de NEFA foram mais elevados quando comparados com os valores obtidos 168 horas após a IA, possivelmente pelo fato de os animais terem tido cerca de 5 dias de descanso e alimentação à vontade, ou seja, a exigência durante este período (de 4 a 48 horas após a IA) foi maior. Essa afirmação poderia ser comprovada se durante todo o experimento o ECC dos animais tivesse sido mensurado, no entanto isso não aconteceu, já que o ECC foi avaliado apenas no início do experimento.

Segundo Peixoto e Osório (2007), a concentração de BHB está relacionada com a taxa de mobilização das reservas lipídicas, da mesma maneira que o NEFA, de forma que a concentração de BHB é maior quando a demanda energética é alta (VASQUEZ-AÑON et al., 1994). Os resultados deste experimento vão de acordo com as afirmações destes autores, já que

nota-se que a concentração de BHB tem os valores mais baixos 30 horas antes da IA, vai aumentando gradativamente no decorrer do experimento, possivelmente pela demanda energética que as atividades exigiram dos animais, atingindo um pico 48 horas após a IA, e decai quando os animais tem um período de descanso entre as avaliações.

As alterações observadas de acordo com o momento de cada avaliação deste experimento demonstram que apesar de alguns metabólitos supostamente terem sido alterados pela mesma causa, a intensidade e o tempo que essa alteração leva para acontecer pode ser diferente para cada variável.

Com relação à adequação aos valores de referência estabelecidos pela literatura, apenas os resultados de glicose e NEFA chamaram atenção. Em ambos os grupos e em todos os momentos de avaliação os animais apresentaram valores de glicose acima do esperado (KANKO, 2008). No entanto, como relatado anteriormente, diversos fatores podem influenciar os resultados das dosagens de glicose e por este motivo a interpretação desses dados se torna dificultosa. Os valores de NEFA excederam o limite citado pelo Laboratório de Diagnóstico Veterinário do Colégio de Medicina Veterinária da Universidade do Estado de Oregon, Estados Unidos (2015) 24 horas após a realização da IA, fato que reforça as afirmações feitas anteriormente de que as atividades exigidas dos animais possivelmente influenciaram a alteração destes valores.

5.3.4 Perfil hormonal

O resultado das dosagens de cortisol, estradiol e progesterona do GIA e GC estão apresentados na tabela 7. Para nenhuma das variáveis foi observada diferença da concentração hormonal entre os grupos.

Tabela 7 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de cortisol, estradiol e progesterona plasmáticos dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC)

Variável	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
Cortisol (nM/L)	51,99 $\pm$ 5,76	74,87 $\pm$ 17,20	0,220
Estradiol (pg/mL)	2,24 $\pm$ 0,52	2,49 $\pm$ 0,50	0,734
Progesterona (ng/mL)	0,70 $\pm$ 0,06	0,91 $\pm$ 0,17	0,273

Fonte: Oliveira (2015).

Com relação ao cortisol que, segundo Greco e Stabenfeldt (1999), é um dos principais hormônios relacionados à resposta ao estresse, esperava-se que o GIA apresentasse concentrações maiores que o GC, já que para a realização da IA, os animais tiveram que passar por processos estressantes como a passagem pelo tronco de contenção, palpação transretal e passagem da pipeta pela cérvix.

Apesar de o nível de estresse, mensurado pela concentração de cortisol, ter sido semelhante entre os grupos, de acordo com Doornenbal, Tong e Murray (1988) o valor médio de cortisol para fêmeas bovinas de corte é 68,9 nM/L e isso demonstra que o GC está abaixo desse parâmetro, enquanto o GIA está acima. Sendo assim, é possível inferir que quando submetido à IA, os animais apresentam aumento do cortisol acima dos níveis normais.

Fortune et al. (2004) descrevem que o estradiol é o hormônio produzido durante o crescimento dos folículos. Webb, Woad e Armstrong (2002) relatam que a progesterona é secretada pelas células luteínicas e tem grande importância no desenvolvimento embrionário e manutenção da gestação além de bloquear as ondas de LH e a ovulação. Neste experimento, todos os animais passaram pelo processo de sincronização do estro e da ovulação, ou seja, todas as fêmeas receberam a mesma quantidade de hormônios exógenos. Sendo assim, tanto para estradiol como para progesterona, não era de se esperar que os grupos apresentassem concentrações diferentes.

Os resultados das dosagens de cortisol, estradiol e progesterona em cada momento de avaliação estão apresentados na tabela 8. As concentrações de estradiol e progesterona variaram de acordo com o tempo, enquanto que os valores de cortisol não apresentaram alterações significativas.

Tabela 8 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de cortisol, estradiol e progesterona plasmáticos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Cortisol (nM/L)	Estradiol (pg/mL)	Progesterona (ng/mL)
-30	60,82 $\pm$ 7,03	1,21 $\pm$ 0,22 ^{bc}	3,25 $\pm$ 1,17 ^{ab}
4	88,06 $\pm$ 12,10	5,38 $\pm$ 1,00 ^a	0,93 $\pm$ 0,17 ^b
24	75,79 $\pm$ 14,96	3,38 $\pm$ 0,67 ^{ab}	1,22 $\pm$ 0,28 ^b
48	66,91 $\pm$ 11,76	1,48 $\pm$ 0,28 ^{bc}	0,98 $\pm$ 0,23 ^b
168	75,49 $\pm$ 9,25	0,73 $\pm$ 0,17 ^c	5,85 $\pm$ 0,97 ^a
Valor de P	0,416	0,0001	0,0007

^{a,b,c} Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística nos períodos.

Fonte: Oliveira (2015).

Neste experimento, os animais passaram por diversos manejos para o ideal desenvolvimento do projeto de pesquisa e para que os dados pudessem ser coletados. Os manejos envolviam atividades como exercício físico, já que os animais precisavam caminhar até o tronco de contenção, passagem pelo tronco de contenção, palpação transretal, aplicação de injeções intramusculares e punção da veia jugular externa. Todos esses procedimentos, apesar de realizados da maneira mais cautelosa possível, são eventos estressantes para os animais, principalmente para animais de corte criados em sistema extensivo. Sendo assim, esperava-se que as concentrações de cortisol aumentassem de acordo com os momentos de avaliação, já que este hormônio está envolvido na resposta ao estresse (GRECO; STABENFELDT, 1999). No entanto, esse aumento não foi observado no presente experimento, contrariando a afirmação destes autores. Apesar disso, 4, 24 e 168 horas após a IA, os animais apresentam concentrações de cortisol acima do considerado normal (68,9 nM/L) (DOORNENBAL; TONG E MURRAY, 1988).

O ciclo estral dos bovinos dura aproximadamente 21 dias, podendo ser dividido em duas fases. A fase estrogênica é marcada pelas altas concentrações de estrógeno e a fase lútea pelas altas concentrações de progesterona (SIQUEIRA et al., 2009). Na fase estrogênica, ocorre o crescimento dos folículos ovarianos, com consequente produção de estradiol (FORTUNE et al., 2004) e a fase lútea ocorre entre a ovulação e a luteólise, durando em média 17 dias (SIQUEIRA et al., 2009).

Neste experimento, os maiores valores de estradiol, foram notados 4 horas após a IA, seguidos de valores semelhantes que foram observados 24 horas após a IA. Este último foi similar aos encontrados 48 horas após a IA e 30 horas antes da IA e os menores valores de

estradiol apareceram 168 horas após a IA, sendo que este não foi diferente estatisticamente dos valores encontrados 48 horas após a IA e 30 horas antes da IA.

Segundo Kulick et al. (1999) e Ginther et al. (2001), o estradiol circulante começa a aumentar no momento do desvio folicular. A produção deste hormônio aumenta até o momento da ovulação, quando acontece a formação do corpo lúteo e consequente produção de progesterona. Neste experimento os animais foram submetidos a um protocolo de sincronização do estro e da ovulação que é refletido nos resultados das dosagens de estradiol e progesterona em alguns dos períodos de avaliação. Estes resultados demonstram que o protocolo foi eficiente já que os hormônios exógenos foram detectados no plasma dos animais. Os resultados das dosagens de estradiol mostram que 30 horas antes da IA a concentração de estradiol é intermediária. Esses valores aumentam 4 horas após a IA quando se observa um pico de estradiol, provavelmente causado pela aplicação de 1 mg de benzoato de estradiol, que foi realizada no momento da retirada do implante de progestágeno, e pela produção de estradiol na fase folicular dos animais que foi também estimulada pela aplicação de 300 UI de gonadotrofina coriônica equina. Após, é possível observar uma queda gradativa deste hormônio, já que ocorreu a ovulação e consequente aumento da progesterona que causa *feedback* negativo no eixo hipotalâmico.

Até o momento havia grande dificuldade em realizar a dosagem de estradiol no Brasil, devido à inexistência de uma técnica confiável. Com base nos resultados deste experimento, é possível afirmar que a dosagem de estradiol pela técnica de radioimunoensaio utilizando kits ultrasensíveis (Immunotech®) é viável.

Apesar de os resultados das dosagens de estradiol seguirem o padrão do que era esperado após um protocolo de IATF, os valores encontrados em cada momento de avaliação diferem dos parâmetros citados por Perry et al. (2014) e Chenault et al. (1975) que avaliam que no pico de estradiol as concentrações deste hormônio variam entre 6,2 e 12, 8 pg/mL e em fase de diestro os valores médios para este hormônio são de 2 pg/mL.

Com relação à progesterona, observa-se concentração intermediária 30 horas antes da IA, provavelmente suportada pelo implante de progestágeno e por algum eventual corpo lúteo que poderia estar presente em alguns dos animais. Com a retirada deste implante e com a ação luteolítica do cloprostenol sódico aplicado no momento da retirada do implante, os valores de progesterona se mantêm em níveis basais entre 4 e 48 horas após a ovulação, sendo que um pico, provavelmente causado pela produção de progesterona pelas células luteínicas do corpo lúteo resultante da ovulação, é observado 168 horas após a IA.

Os resultados das dosagens de progesterona corroboram a afirmação de Wise et al. (1982), que cita que durante o estro espera-se que a concentração plasmática de progesterona seja menor que 1 ng/mL. Neste experimento, observa-se que a concentração de progesterona vai aumentando gradativamente após a ovulação assim como citado pelo mesmo autor. As dosagens realizadas 168 horas após a IA já mostram valores próximos do esperado para o pico deste hormônio que acontece 10 dias após a ovulação e, segundo Viana et al. (1999) atinge um valor próximo a 7,5ng/mL.

5.3.5 Proteinograma/Proteínas de fase aguda

A tabela 9 apresenta os resultados de albumina e proteína total dos GIA e GC. Os grupos não foram diferentes para nenhuma das variáveis.

Tabela 9 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de albumina e proteína total séricos dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC)

Variável	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
Albumina (g/dL)	3,22 $\pm$ 0,05	3,15 $\pm$ 0,04	0,267
Proteína Total (mg/dL)	8,22 $\pm$ 0,07	8,07 $\pm$ 0,08	0,098

Fonte: Oliveira (2015).

De acordo com Céron et al. (2005) e Calanzas et al. (2009) a albumina é uma proteína indicativa da resposta inflamatória e é classificada como uma PFA negativa, ou seja, tem sua concentração diminuída durante a resposta de fase aguda em animais que não apresentam hepatopatias. De acordo com Barros Filho (1995), o valor de referência para albumina em fêmeas zebuínas da raça Nelore em idade reprodutiva no Brasil varia de 3,09 a 3,17 g/dL.

Tendo em vista que a deposição do sêmen no trato reprodutivo da fêmea causa uma resposta inflamatória (TROEDSSON, 1999) esperava-se que o GIA apresentasse menores valores de albumina que o GC, ou que apresentasse valores inferiores aos estabelecidos pela literatura, no entanto, utilizando esse número de animais, esse evento não ocorreu.

Segundo Payne e Payne (1987), a síntese das proteínas totais está relacionada com o estado nutricional do animal e com a funcionalidade hepática e de acordo com Kaneko et al. (2008) a diminuição dessas proteínas está relacionada com transtornos renais, hemorragias ou deficiência na alimentação. Além disso, as proteínas totais atuam no transporte de hormônios (DUNCAN et al., 1982). Apesar de neste experimento os animais de ambos os grupos terem sido mantidos sob as mesmas condições alimentares, apresentando perfis hepático, renal e hormonal similares e nenhum dos animais apresentar sinais de hemorragia, como o próprio nome refere, a avaliação das proteínas totais revela informação a respeito das proteínas circulantes no sangue. Ou seja, tanto as PFAs negativas quanto as positivas estão englobadas nesta avaliação. Se as PFAs tivessem se comportado da maneira esperada no GIA (as negativas tivessem concentrações diminuídas e as positivas aumentadas) seria aceitável que os grupos apresentassem valores de proteína total semelhantes entre si. No entanto, a concentração de albumina, que é uma PFA negativa foi igual entre o GC e o GIA. Sendo assim, esperava-se que, devido ao aumento das PFAs positivas, a concentração de proteínas totais fosse maior no GIA devido à resposta inflamatória causada pela deposição do sêmen do útero. Entretanto, esse evento não foi observado. Os resultados do proteinograma sugerem que a reação inflamatória que acontece após a IA não é capaz de refletir sistemicamente a ponto de influenciar as concentrações de PFA no sangue.

A tabela 10 apresenta os resultados de albumina e proteína total em cada momento de avaliação. Todas as variáveis apresentaram alterações em suas concentrações de acordo com o tempo.

Tabela 10 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de albumina e proteína total séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Albumina (g/dL)	Proteína Total (mg/dL)
-30	3,41 $\pm$ 0,04 ^a	7,48 $\pm$ 0,15 ^b
4	3,35 $\pm$ 0,04 ^a	8,29 $\pm$ 0,06 ^a
24	3,11 $\pm$ 0,06 ^b	8,40 $\pm$ 0,07 ^a
48	3,10 $\pm$ 0,05 ^b	8,35 $\pm$ 0,09 ^a
168	3,07 $\pm$ 0,04 ^b	8,21 $\pm$ 0,07 ^a
Valor de P	<0,0001	0,0003

^{a,b} Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística no tempo.

Fonte: Oliveira (2015).

Os valores mais altos de albumina foram notados 30 horas antes da IA e 4 horas após a IA, reduzindo 24, 48 e 168 horas após a IA.

Nota-se que após as 24 horas, os valores de albumina são mantidos em níveis mais baixos do que os encontrados nos períodos anteriores. Cerón et al. (2005) e Calazans et al. (2009) citam que algumas PFAs tem sua concentração diminuída durante a resposta de fase aguda e entre essas, a albumina pode ser citada. Esses resultados englobam os valores de albumina do GIA e do GC e eles sugerem que os procedimentos realizados em ambos os grupos, e não somente a deposição do sêmen no trato reprodutivo, causaram uma resposta inflamatória que resultou na queda dos valores de albumina. Segundo Gruys et al. (2005) situações de injúria tecidual são suficientes para causar alterações das PFAs e essa informação é reforçada pela afirmação de Cerón et al. (2005) e Jain, Gautam e Naseem (2011) que afirmam que a origem dessas alterações pode ser atribuída a traumas e lesões teciduais. Além de todo o manejo já descrito anteriormente, o procedimento mais agressivo realizado nos animais de ambos os grupos foi a colocação do implante de progestágeno no tecido subcutâneo da orelha dos animais. Esse procedimento é invasivo e pode ser a explicação para a queda de albumina observada, apesar de os animais não terem apresentado sinais graves de inflamação no local.

Com relação às proteínas totais, o valor mais baixo foi observado 30 horas antes da IA, sendo que a partir de 24 horas após a IA este valor aumenta e se mantém alto até 168 horas após a IA. Entretanto, os valores de proteínas totais encontrados neste experimento estão dentro dos valores de referência estabelecidos por Kaneko et al. (2008).

De acordo com Duncan et al. (1982), as proteínas totais exercem diversas funções tais como o transporte de substâncias e hormônios, manutenção do equilíbrio ácido básico, equilíbrio osmótico e da viscosidade do sangue. Sendo assim, diversas variáveis que não foram mensuradas neste experimento podem ter influenciado a concentração das proteínas totais.

5.3.6 Correlação entre os componentes metabólicos, hormonais e proteínas de fase aguda e a hemodinâmica uterina

Nesta seção serão apresentadas apenas as correlações encontradas entre os dados de hemodinâmica uterina e os perfis séricos, que apresentam importância biológica encontradas

neste experimento. No apêndice A, os coeficientes de correlação e de todas as variáveis avaliadas neste experimento podem ser observados na tabela 51.

Apesar de fracas, o RI apresentou correlações positivas com AST ($r=0,29$, $p=0,004$) e BHB ($r=0,38$, $p=0,0002$) e correlação negativa com estradiol ($r=-0,26$, $p=0,01$). Notou-se também correlação positiva entre estradiol e EV ($r=0,26$, $p=0,04$). Para as demais variáveis, não foram observadas correlações significativas ($p>0,05$).

Para AST e BHB, a correlação é positiva, ou seja, quanto maior é a concentração desses metabólitos, maior é o valor de RI. Isso indica que a maior concentração de AST e BHB no sangue acompanha a diminuição da vascularização no útero, já que quanto menores os valores de RI, maior será o fluxo sanguíneo, ou seja, RI é inversamente proporcional ao fluxo sanguíneo (BOLLWEIN, MAYER, STOLLA, 2003; GINTHER et al., 2007).

Estudos realizados em ratos por Medeiros et al. (2005) demonstram que quando a vascularização hepática é diminuída, os níveis de AST aumentam. É possível que os animais que apresentaram menor vascularização uterina, ou seja, maior valor de RI, tenham essa condição estendida para os demais órgãos, incluindo o fígado, de forma que essa diminuição tenha causado o aumento da concentração de AST no sangue.

O BHB é um dos corpos cetônicos produzidos pelo fígado oriundos do metabolismo de lipídeos nos ruminantes (LENHINGER, 2006) e reflete a oxidação incompleta da gordura no fígado (LEBLANC, 2010). Gonzales e Silva (2006) relatam que em situações de grande exigência hepática acontece o aumento de BHB e de enzimas hepáticas como a AST. Essas afirmações podem indicar que a suposta diminuição da vascularização hepática explique a correlação existente entre os valores de RI e esses metabólitos.

Para estradiol foi observada uma correlação negativa, ou seja, quanto mais estradiol circulante, menor é o valor de RI, que indica maior vascularização. Esses dados coincidem com os achados de Ford e Chenault (1981) que estudaram a vascularização do útero de vacas e afirmam que o fluxo sanguíneo sofre alterações durante o ciclo estral, aumentando quando o hormônio predominante é o estrógeno. Nascimento e Santos (2003), também afirmam que o endométrio sofre modificações estruturais e funcionais de acordo com atividade endócrina do ovário, de forma que com a ação do estrógeno ocorre maior vascularização, maior fluxo sanguíneo e maior atividade metabólica. Adicionalmente, Herzog e Bollwein (2007) relatam a vascularização do útero de vacas é maior durante os períodos de proestro e estro, devido à ação do estrógeno. Um estudo realizado por Oliveira et al. (2014b) levanta a hipótese de que a diminuição dos valores de RI que ocorre após a IA pode ser resultado do aumento da

concentração de estrógeno no sangue. A correlação encontrada neste experimento confirma essa hipótese.

O EV é avaliado pelo modo color Doppler que, de acordo com Ginther e Utt (2004) estima a vascularização do tecido fornecendo imagens coloridas em tons de azul e vermelho, onde o fluxo sanguíneo está presente. Sendo assim, quanto maior o EV, maior é a vascularização. A correlação positiva existente entre o EV e as concentrações de estradiol vão de acordo com as afirmações descritas anteriormente (FORD; CHENAULT, 1981; NASCIMENTO; SANTOS, 2003; HERZOG; BOLLWEIN, 2007). Em estudos realizados por Oliveira et al. (2014b) as avaliações feitas pelo modo color Doppler não identificaram mudanças na hemodinâmica uterina de vacas de acordo com os períodos de avaliação e por este motivo os autores sugerem que o modo espectral poderia ser mais sensível que o modo color Doppler para avaliar essas modificações. No entanto, os achados deste experimento demonstram que da mesma maneira que o RI, o EV também apresenta correlação com estradiol e quanto maior a concentração de estradiol no sangue, maior é a vascularização.

Além desses resultados, algumas correlações interessantes foram encontradas explorando a idéia da inflamação uterina e da reprodução. Na tabela 11 estão apresentados os coeficientes dessas correlações e os respectivos valores de p.

Tabela 11 – Coeficientes de correlação (r) e valores de p (p) entre aspartato aminotransferase (AST), creatina-quinase (CK), ácidos graxos não esterificados (NEFA), beta-hidroxibutirato (BHB) e cortisol

Variáveis	r	P
Cortisol x AST	0,37	0,0004
Cortisol x CK	0,21	0,040
Cortisol x NEFA	0,53	<0,0001
Cortisol x BHB	0,25	0,010
Estradiol x AST	0,21	0,047
Estradiol x CK	0,37	0,0005

Fonte: Oliveira (2015).

As alterações das concentrações de AST e CK observadas neste experimento estão ligadas à atividade muscular intensa exigida dos animais de ambos os grupos. Foi observada correlação positiva entre essas variáveis e a concentração de cortisol que, segundo Greco e Stabenfeldt (1999), é um dos principais hormônios envolvidos na resposta ao estresse. Essa correlação positiva indica que o aumento das enzimas hepáticas devido as atividades à que os

animais foram submetidos se relaciona com as concentrações de cortisol, o que sugere que essas atividades causam estresse nos animais.

Correlações positivas também foram observadas entre BHB, NEFA e cortisol. O BHB e o NEFA são indicadores para avaliar a intensidade da mobilização das reservas de gordura corporal (BRICKNER; RASTANI e GRUMMER, 2007; PEIXOTO; OSORIO, 2007) de forma que quanto maior o balanço energético negativo, mais NEFA é liberado do tecido adiposo, aumentando a sua concentração no sangue (CAMERON et al., 1998). A correlação positiva encontrada entre essas variáveis e o cortisol, indica que quanto maior a mobilização de reservas de gordura, maior é o estresse dos animais que é refletido pelo aumento das concentrações de cortisol.

A correlação existente entre estradiol e as enzimas AST e CK, provavelmente estão relacionadas com a maior movimentação das fêmeas em fase de estro. Vacas em estro apresentam movimentação constante e comportamento de monta (NÄÄS et al., 2008). Esse comportamento acentuado na fase em que há altas concentrações de estrógeno circulante, provoca atividade física e atividade muscular mais intensa e essa atividade é refletida nas concentrações das enzimas AST e CK que são marcadoras de atividade muscular (COLES, 1984; KANEKO et al., 2008).

5.4 CONCLUSÃO

O processo da IA não provoca alterações sistêmicas significativas que sejam capazes de alterar os perfis renal, hepático, energético, proteico e hormonal. Apesar de elevar a concentração de cortisol acima dos valores normais de referência. Em adição, há uma oscilação destes perfis em função do tempo e dos procedimentos aos quais os animais são submetidos. Em relação à hemodinâmica uterina, pode-se concluir que há aumento da vascularização uterina com o aumento da concentração de estradiol circulante, traduzida pela redução do RI da artéria uterina e aumento do EV dos cornos uterinos. Além disso, infere-se que a enzima AST e o BHB aumentam simultaneamente ao aumento do RI da artéria uterina. Considerando os perfis hormonais, nota-se que o aumento do estradiol acompanha o aumento de AST e CK; enquanto que do cortisol segue o aumento de AST, CK, NEFA e BHB.

REFERÊNCIAS

ARAVE, C. W.; MILLER, R. H.; LAMB, R. C. Genetic and environmental effects on serum cholesterol of dairy cattle of various ages. **Journal of Dairy Science**, v. 58, p. 423-427, 1975.

BARBOSA, C. A.; ANDRADE, C. T. Interferência do ácido ascórbico na dosagem glicêmica. **Ciências da Saúde**, v.6, p.121-130, 2008.

BARROS FILHO, I. R. **Contribuição ao estudo da bioquímica clínica em zebuínos da raça Nelore (*Bos indicus*, Linnaeus 1758) criados no estado de São Paulo**. 1995. 133 f. Dissertação (mestrado em ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n. 2, p.205- 211, 2007.

BOLLWEIN, H.; MAYER, R.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during early pregnancy in mares. **Theriogenology**, v.60, p. 597-605, 2003.

BRICKNER, A. E., RASTANI, R. R., GRUMMER, R. R. Technical Note: Effect of sampling protocol on plasma non esterified fatty acid concentration in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.2219–2222, 2007.

CALAZANS, S. G.; DALECK, C. R.; FAGLIARI, J. J.; REPETTI, C. F.; DE NARDI, A. B.; CASTRO, J. H. T.; FERNANDES, S. C.; CÉSAR, J. R. F.; RODIGHIERI, S. M. Proteinograma sérico de cães saudáveis e com linfoma obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 1044-1048, 2009.

CAMERON, R. E. B.; DYK, P. B.; HERDT, T. H.; KANEENE, J. B.; MILLER, R.; BUCHOLTZ, H. F.; LIESMAN, J. S.; VANDEHAAR, M. J.; EMERY, R. S. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.132-139, 1998.

CARVALHO, J. B. P.; CARVALHO, N. A. T.; REIS, E. L.; NICHI, M.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* × *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v.69, p.167-175, 2008.

CERÓN, L. L.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, p. 85-99, 2005.

CHENAULT, J. R.; THATCHER, W. W.; KALRA, P. S.; ABRAMS, R. M.; WILCOX, C. J. Transitory changes in plasma progestins, estradiol, and luteinizing hormone approaching ovulation in the bovine. **Journal of Dairy Science**, v.58, p.709-17, 1975.

COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1984. 566p.

DIMAS, F. L.; SOHLER, P.M. Exame do líquido cefalorraquidiano: influencia da temperatura, tempo e preparo da amostra na estabilidade analítica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 44, p. 97-106, 2008.

DOORNENBAL, H.; TONG, A. K. W.; MURRAY, N. L. Reference Values of Blood Parameters in Beef Cattle of Different Ages and Stages of Lactation. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.52, p. 99-105, 1988.

DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 217p.

FORD, S. P.; CHENAULT, J. R. Blood flow to the corpus luteum-bearing ovary and ipsilateral uterine horn of cows during the oestrous cycle and early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, n. 62, p. 555-562, 1981.

FORTUNE, J. E; RIVERA, G. M.; YANG, M. Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.109-126, 2004.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, p. 499-502, 1972.

GARCIA, A. Dosificación de la urea en la leche para predecir el balance nutricional en vacas lecheras. In: JORNADAS URUGUAYAS DE BUIATRIA, 25.; CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE BUIATRIA, 9., 1997, Paysandú. **Anais...** Paysandú, Centro Médico Veterinario de Paysandú, 1997.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; BEG, M. A.; KOT, K. Effect of LH on circulating oestradiol and follicular fluid factor concentrations during follicle deviation in cattle. **Reproduction**, v. 122, p. 103–110, 2001.

GINTHER, O. J.; GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O., UTT, M. D.; BEG, M. A. Luteal blood flow and progesterone production in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 99, p. 213–220, 2007.

GINTHER, O. J.; UTT, M. D. Doppler Ultrasound in Equine Reproduction: Principles, Techniques, and Potential. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, p. 516–526, 2004.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2. ed, Editora da UFRGS, Porto Alegre, 2006, 358p.

GRECO, D.; STABENFELDT, G. H. Glândulas endócrinas e suas funções. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999. cap. 33, p. 324–352.

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

GRUYS, E.; TOUSSAINT, M. J. M.; NEIWOLD T. A.; KOOPMANS S. J. Acute phase reaction and acute phase proteins. **Journal Zhejiang University Science**, v. 6, p. 1045–1056, 2005.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, p. 215–230, 2000.

HERZOG, K.; BOLLWEIN, H. Applications of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 42, p. 51–58, 2007.

HOUCQUETTE, J. F.; BAUCHART, D. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals. **Reproduction Nutrition Development**, v. 39, n. 1, p. 27–48, 1999.

MONDAL, M.; PRAKASH, B. S. Changes in plasma non-esterified fatty acids, glucose and α -amino nitrogen and their relationship with body weight and plasma growth hormone in growing buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, p. 223–228, 2004.

JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute-phase proteins: as diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 3, p.118-127, 2011.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 7. ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916p.

KAUFMANN, T. B.; DRILLICH, M.; TENHAGEN, B. A.; FORDERUNG, D.; HEUWIESER, W. Prevalence of bovine subclinical endometritis 4 h after insemination and its effects on first service conception rate. **Theriogenology**, v. 71, p. 385-391, 2009.

KENNY, D. A.; HUMPHERSON, P. G.; LEESE, H. J.; MORRIS, D. G.; TOMOS, A. D.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M. Effect of elevated systemic concentrations of ammonia and urea on the metabolite and ionic composition of oviductal fluid in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 1797-1804, 2002.

KULICK, L. J.; KOT, K.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. **Theriogenology**, v.52, p. 913-921, 1999.

LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Reproduction and Development**, v.56, p. s29-s35, 2010.

LEHNINGER, A.L. **Princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006. 1202p.

MADUREIRA, E. H.; PIMENTEL, J. R. V. IATF como ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2005.

MEDEIROS, S. H. L.; MONTERO, E. F. S.; GOMES, L. F.; TAHA, M. O.; JUNQUEIRA, V. B. C.; SIMÕES, M. J. Evaluation of the normothermic ischemic liver injury: the role of main biliary duct occlusion and N-acetylcysteine. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 32, p. 168-172, 2005.

MENDES, A. R.; EZEQUIEL, J. M. B.; GALATI, R. L.; FEITOSA, J. V. Desempenho, parâmetros plasmáticos e características de carcaça de novilhos alimentados com farelo de girassol e diferentes fontes energética, em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n.2, p.962-702, 2005.

NÄÄS, I. A.; QUEIROZ, M. P. G.; MOURA, D. J. M.; BRUNASSII, L. A. Dairy cows estrus estimation using predictive and quantitative methods. **Ciência Rural**, v.38, p.2383-2387, 2008.

NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. **Patologia da reprodução nos animais domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 137p.

OLIVEIRA, B. M. M.; ARRUDA, R. P.; THOMÉ, H. E.; MATURANA FILHO, M.; OLIVEIRA, G.C.; GUIMARÃES, C.F.; SILVA, L.A.; NICHI, M.; CELEGHINI, E.C.C. Artificial insemination causes uterine hemodynamic alterations in suckled beff cows subjected to an ovulations synchronization program. **Livestock Science**, v.167, p.449-454, 2014b.

OLIVEIRA, B. M. M.; ARRUDA, R. P.; THOMÉ, H. E.; MATURANA FILHO, M.; OLIVEIRA, G. C.; GUIMARÃES, C. F.; NICHI, M.; SILVA, L. A.; CELEGHINI, E. C. C. Fertility and uterine hemodynamic in cows after artificial insemination with semen assessed by fluorescent probes. **Teriogenology**, v.82, p. 767-772, 2014a.

PAYNE, J. M., PAYNE, S. **The metabolic profile test**. Oxford, Oxford University Press. 1987. 179p.

PEIXOTO, L. A. O.; BRONDANI, I. L.; NÖRNBERG, J. L.; RESTLE, J.; ALVES, D. C.; PAZINI, F. M.; CORADINI, M. T.; SANTOS, C. V. M. Perfil metabólico protéico e taxas de concepção de vacas de corte mantidas em pastagem natural ou suplementadas com farelo de trigo com ou sem ureia. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1873-1877, 2006.

PEIXOTO, L. A. O.; OSORIO, M. T. M. Perfil metabólico proteico e energético na avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, n.3, p. 299-304, 2007.

PEIXOTO, L. A. O.; OSÓRIO, M. T. M.; OSÓRIO, J. C. S.; NÖRNBERG, J. L.; PAZINI, M. Desempenho reprodutivo e metabólitos sanguíneos de ovelhas Ile de France sob suplementação com sal orgânico ou sal comum durante a estação de monta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.191-197, 2010.

PENG, T. C.; HSU, B. G.; YANG, F. L.; CHAO, Y. F.; HARN, H. J.; LEE, R. P. Stability of blood chemistry levels in animal model research: effects of storage condition and time. **Biological Research of Nursing**, v. 11, p. 395-400, 2010.

PERRY, G. A.; SWANSON, O. L.; LARIMORE, E. L.; PERRY, B. L.; DJIRA, G. D.; CUSHMAN, R. A. Relationship of follicle size and concentrations of estradiol among cows

exhibiting or not exhibiting estrus during a fixed-time AI protocol. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 48, p. 15–20, 2014.

PULLEN, D. L.; PALMQUIST, D. L.; EMERY, R. S. Effects on day of lactation and methionine hydroxy analog on incorporation of plasma fatty acids into plasma triglycerides. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 49-58, 1989.

MONDAL, M.; PRAKASH, B. S. Changes in plasma non-esterified fatty acids, glucose and α -amino nitrogen and their relationship with body weight and plasma growth hormone in growing buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, p. 223-228, 2004.

ROSELER, D. K., FERGUSON, J. D., SNIFFEN, C. J., HERREMA, J. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 525-534, 1993.

SHPIGEL, N. Y.; AVIDAR, Y.; BOGIN, E. Value of measurements of the serum activities of creatine phosphokinase, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase for predicting whether recumbent dairy cows will recover. **Veterinary Record**, v. 152, p. 773-776, 2003.

SIQUEIRA, L. G. B.; TORRES, C. A. A.; AMORIM, L. S.; SOUZA, E. D.; CAMARGO, L. C. A.; FERNANDES, C. A. C.; VIANA, J. H. M. Interrelationships among morphology, echotexture, and function of the bovine corpus luteum during the estrus cycle. **Animal Reproduction Science**, v.115, p.18-28, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso**. [S.l.]: [s.n.], 2005. 76 p.

SPITZER, J. C. Influences of nutrition on reproduction in beef cattle. In: Morrow, D. A. (Ed.). **Current therapy in theriogenology**. 2 ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 1986. p. 231-234.

TROEDSSON, M. H. T. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in mare. **Theriogenology**, v. 52, p. 461-471, 1999.

VASQUEZ-AÑÓN, M.; BERTICS, S.; LUCK, M.; GRUMMER, R. R.; PINHEIRO, J. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites. **Journal of dairy science**, v. 77, p. 1521-1528, 1994.

VETERINARY DIAGNOSTIC LABORATORY. **Biochemistry Reference Intervals**. Corvallis, OR, 2015. Disponível em: <<http://vetmed.oregonstate.edu/diagnostic/reference>>. Acesso em: 26 ago. 2015.

VIANA, J. H. M.; FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; CAMARGO, L. S. A. Regressão luteal e dinâmica folicular após a luteólise natural ou induzida por cloprostenol em vacas da raça Gir. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, p.257-262, 1999.

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

WEBB, R.; WOAD, K. J.; ARMSTRONG, D. J. Corpus luteum function: local control mechanisms. **Domestic Animals Endocrinology**, v.23, p.277-285, 2002.

WISE, T. H.; CATON, D.; THATCHER, W. W. Ovarian function during the estrous cycle of the cow: ovarian blood flow and progesterone release rate. **Journal of Animal Science**, v.55, p.627-637, 1982.

6 ARTIGO 2: AVALIAÇÃO DOS PERFIS RENAL, HEPÁTICO, ENERGÉTICO, HORMONAL E DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA DE VACAS NELORE INSEMINADAS COM SÊMEN DE DIFERENTES QUALIDADES E A RELAÇÃO DESSES PERFIS COM A HEMODINÂMICA UTERINA

6.1 INTRODUÇÃO

Vários estudos têm sido realizados tentando encontrar formas eficientes de melhorar o desempenho reprodutivo em rebanhos de corte. Neste sentido, a qualidade do sêmen utilizado na IA é um dos fatores que influencia esse desempenho. O manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal, do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013), estipula alguns parâmetros para a comercialização do sêmen bovino. Esses parâmetros, que envolvem concentração, motilidade progressiva, vigor e alterações morfológicas visam garantir o mínimo de qualidade para a amostra seminal. No entanto, pesquisas realizadas por Oliveira et al. (2014a) demonstraram que outros parâmetros, como a integridade das membranas plasmática e acrossomal e a função mitocondrial, podem contribuir na predição da capacidade fertilizante do sêmen, de forma que quanto maior a porcentagem de células íntegras, maior será a taxa de prenhez.

Por outro lado, a qualidade seminal, também poderia influenciar nas condições uterinas, já que, após a IA acontece uma reação inflamatória no útero (Kaufmann et al., 2009), que tem como objetivo remover os espermatozoides mortos e outros contaminantes que possam ser introduzidos com a deposição do sêmen. Contudo, alguns trabalhos abordam o tema da inflamação uterina pós-cobertura em éguas (ALGHAMDI et al., 2004; DELL'AQUA JUNIOR et al., 2006), em humanos (SHARKEY et al., 2012) e poucos citam essas pesquisas em bovinos (KAUFMANN, 2009; OLIVEIRA et al., 2014a; OLIVEIRA et al., 2014b). Oliveira et al. (2014a) tentaram avaliar a resposta inflamatória uterina de vacas após a IA com sêmen de diferentes qualidades. Os autores acreditavam que devido à maior quantidade de células lesadas em uma amostra de sêmen, a resposta inflamatória uterina poderia ser mais exacerbada. Essa resposta foi avaliada por ultrassonografia Doppler, no entanto, o grupo não confirmou essa hipótese e atribuiu isso ao fato de que possivelmente, outras ferramentas poderiam ser necessárias para avaliar a inflamação.

Além da qualidade do sêmen, as condições do trato reprodutivo da fêmea (SCHJENKEN; ROBERTSON, 2014) e as alterações metabólicas (RIBEIRO et al., 2011), também podem interferir na fertilidade. O fígado é o principal órgão metabólico do animal e é responsável pela síntese de diversas proteínas, incluindo as proteínas de fase aguda que estão relacionadas aos processos inflamatórios e tem sua concentração alterada nesses processos e também em casos de injúria tecidual (GRUYS et al., 1994; GANHEIM et al., 2007).

Por ser um órgão pouco acessível aos métodos semiológicos tradicionais, o diagnóstico de alterações que possam refletir no metabolismo e produção de proteínas de fase aguda fica dificultado, no entanto é possível dosar vários parâmetros bioquímicos que avaliam as condições do fígado de forma minimamente invasiva (BOBE; YOUNG; BEITZ, 2004), utilizando amostras de sangue dos indivíduos. A análise do sangue dos animais tem sido utilizada para caracterizar situações que podem estar relacionadas com a função reprodutiva (BUTLER, 2000) e inúmeras pesquisas demonstram que o perfil metabólico do animal influencia essa função (PAYNE et al., 1970; BLOWEY; WOOD; DAVIS, 1973; ROWLANDS et al., 1974; ROWLANDS, 1980; ROBINSON, 1996).

Sendo assim, na tentativa de encontrar novas ferramentas para avaliar a resposta inflamatória uterina pós-cobertura, esta pesquisa avalia, pela primeira vez, as alterações sistêmicas que podem ser causadas devido à qualidade do sêmen utilizado na IA. Para isso, os objetivos deste trabalho são estudar os efeitos da qualidade do sêmen sobre o perfil hepático e proteinograma, e ainda estudar a relação de componentes do perfil renal (ureia e creatinina), hepático (AST, GGT e CK), energético (glicose, triglicérides, colesterol, HDL, LDL e VLDL), hormonal (cortisol, estradiol e progesterona) e proteinograma/proteínas de fase aguda (albumina e proteína total) sobre a vascularização uterina avaliada por modo espectral e modo color Doppler em vacas.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia do Sêmen e Andrologia do Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, na Fazenda Fronteira, localizada no município de Cocalinho, MT- Brasil e no

Laboratório Multiusuário de Análises Clínicas Veterinárias do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, SP, no período de setembro de 2010 a julho de 2015.

6.2.1 Seleção dos animais

Foram disponibilizadas 568 vacas para que os grupos experimentais fossem selecionados. As fêmeas foram avaliadas previamente quanto à sanidade e higidez do trato reprodutivo e escore de condição corporal. Por ultrassonografia transretal, foram avaliados o escore uterino de 1 a 3, sendo 1 o útero com involução completa, sem líquido; 2 o útero com pequena quantidade de líquido em sua luz, com involução incompleta e pouco distendido; e 3 o útero que apresenta líquido em sua luz, podendo apresentar algum tipo de infecção, distendido e sem involução (OLIVEIRA et al., 2014b) e ovariano de 1 a 3, sendo 1 o ovário com diâmetro maior que 30 mm, com folículos em crescimento com diâmetro maior que 8,5 mm na presença de um corpo lúteo ou folículos maiores que 12 mm na ausência de corpo lúteo, 2 o ovário menor que 30 mm com folículos entre 5 e 8,5 mm; e 3 o ovário com diâmetro menor que 12 mm com folículos que apresentavam até 5 mm de diâmetro (MADUREIRA; PIMENTEL, 2005). Os animais apresentando escores uterino e/ou ovariano 3 foram excluídos do experimento.

O escore de condição corporal foi classificado de 1 a 9 (SPITZER, 1986) e as vacas que apresentavam escores <4 foram excluídas do experimento. Nenhum animal apresentou escore de condição corporal >7.

Dessa maneira, foram selecionadas 362 vacas paridas da raça Nelore (entre 50 e 70 dias pós-parto), mantidas sob as mesmas condições ambientais, em pastagem de capim-Braquiarião (*Brachiaria brizantha*), com água e sal mineral não proteinado *ad libitum*.

6.2.2 Avaliação do sêmen

Foram analisadas 20 amostras de sêmen comercial para a separação de três partidas a serem utilizadas no experimento apresentando qualidades diferentes (Boa, Média e Regular).

Duas palhetas de sêmen de cada partida foram descongeladas (37°C por 30 segundos), o volume total do sêmen foi colocado em um tubo de microcentrífuga (1,5 mL), homogeneizado e analisado quanto a motilidade, vigor, concentração, alterações morfológicas e integridade das membranas plasmática e acrossomal e função mitocondrial.

A motilidade espermática foi avaliada subjetivamente e pelo sistema computadorizado da motilidade espermática (CASA, Hamilthon Thorne Biosciences, modeloIVOS 12.3). O vigor foi avaliado em escores de 1 a 5, subjetivamente. A concentração foi determinada pela leitura em câmara de Neubauer. Para avaliar as alterações morfológicas, o sêmen foi diluído em formol salino tamponado e a leitura realizada em preparações úmidas, sob microscopia de contraste de interferência diferencial (Nikon, modelo 80i) com aumento de 1.000 x, contando-se 200 células por amostra e anotando-se as alterações observadas.

A integridade das membranas plasmática e acrossomal e função mitocondrial foram avaliadas pela associação das sondas iodeto de propídio (PI), Hoechst 33342 (H342), aglutinina de *Pisum sativum* conjugada ao isotiocianato de fluoresceína (FITC-PSA) e iodeto de 5,5',6,6'-tetracloro-1,1',3,3' tetraetilbenzimidazol carbocianina (JC-1), segundo Celeghini et al. (2008). As células foram classificadas em oito categorias de acordo com a fluorescência emitida por cada sonda, conforme descrito por Celeghini et al. (2007).

Das oito categorias de células obtidas nesta técnica foi considerado somente o percentual das células que apresentaram membrana plasmática intacta, acrossomo intacto e alto potencial mitocondrial (PIAIC) para a divisão dos grupos experimentais. As partidas foram divididas em grupos de acordo com o percentual de células PIAIC por palheta pós-criopreservação. De acordo com os dados obtidos, procurou-se utilizar partidas diferentes de um mesmo touro para evitar efeitos do touro; desta forma, foram escolhidas as partidas, sendo que o sêmen denominado Regular (R) apresentava 8,5% de espermatozoides PIAIC, 40% de motilidade progressiva, 2,5 de vigor, 11% de defeitos maiores e 1% de defeitos menores. O sêmen Médio (M) apresentava 23% de espermatozoides PIAIC, 50% de motilidade progressiva, 3 de vigor, 5% de defeitos maiores e 1% de defeitos menores e o sêmen Bom (B) apresentava 44,5% de espermatozoides PIAIC, 65% de motilidade progressiva, 3 de vigor, 6% de defeitos maiores e 5% de defeitos menores.

6.2.3 Divisão dos grupos experimentais

Com base nas avaliações realizadas antes do início do experimento e partindo do princípio que os animais eram homogêneos entre si, as unidades experimentais foram divididas em três grupos, de forma inteiramente casualizada, de acordo com a qualidade do sêmen utilizado na IATF: Sêmen Bom (B, n=121), sêmen Médio (M, n=121) e sêmen Regular (R, n=120).

6.2.4 Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

Os 362 animais foram submetidos ao protocolo de sincronização do estro e da ovulação, para permitir a IATF, foi colocado um implante subcutâneo contendo 3 mg de norgestomet (Crestar[®]) e foi feita aplicação intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol (Estrogin[®]), após 8 dias, o implante foi retirado, foi então administrado 1 mg de benzoato de estradiol, 0,5 mg de cloprostenol sódico (Sincrocio[®]) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (Novormon[®]) e a IATF 30 horas depois, como descrito por Oliveira et al. (2014a) e Oliveira et al.(2014b). A IA foi realizada pela deposição do sêmen no corpo do útero com aplicador universal por um inseminador experiente, com os animais contidos em brete.

6.2.5 Coletas e armazenamento do sangue

As amostras foram coletadas por punção da veia jugular externa, utilizando o sistema Vacutainer[®], antes do início do experimento (30 horas antes da IA) para verificar se os grupos eram homogêneos antes do tratamento e em dois momentos: 4 e 24 horas após a IA. De cada animal, coletou-se sangue para a obtenção de soro e de plasma, utilizando-se tubos sem e com a adição de anti-coagulante, respectivamente.

O sangue foi centrifugado (Centrífuga clínica Centerbio[®], modelo 80-2B-15 mL, 420 g, por 15 minutos), o soro e o plasma foram separados com o auxílio de pipetas em

triplicatas em microtubos de 1,5 mL, identificados e armazenados congelados a temperatura de -80°C.

6.2.6 Avaliação da vascularização uterina

Nos mesmos momentos da coleta de sangue a vascularização uterina foi avaliada utilizando um aparelho de ultrassonografia Doppler com probe linear transretal (6,5 mHz), (M5vet, Mindray®, China) no modo espectral e no modo color Doppler.

Os exames foram realizados como descrito anteriormente por Oliveira et al. (2014a) e Oliveira et al. (2014b). O modo espectral foi utilizado para avaliação do fluxo sanguíneo das artérias uterinas, sendo que a localização das artérias uterinas para seu escaneamento foi realizada de acordo com Bollwein et al. (2000). O dado utilizado para avaliação foi o índice de resistência (RI) das artérias. O exame foi realizado até que fossem obtidas, no mínimo, nove ondas semelhantes do ciclo cardíaco. Posteriormente a avaliação dessas ondas foi realizada, de modo que a cada três ondas semelhantes formadas, o valor de RI da onda mediana era anotado e somado com as outras duas ondas medianas dos próximos ciclos obtidos. Para a análise estatística foi utilizada a média das três ondas. O modo color foi utilizado para a avaliação subjetiva da vascularização dos cornos uterinos. Foi realizado o escaneamento dos cornos uterinos direito e esquerdo de modo a obter a imagem de um corte transversal com a probe localizada na metade de cada corno uterino. A vascularização foi avaliada em escores de 0 a 4, sendo 0 (zero) referente a vascularização mínima e 4 (quatro) à vascularização máxima.

6.2.7 Quantificação das Proteínas de fase aguda e dos Componentes metabólicos do sangue

Os componentes metabólicos e proteína de fase aguda foram quantificados no Laboratório Multiusuário de Análises Clínicas Veterinárias do Departamento de Medicina Veterinária da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, utilizando analisador bioquímico automático (RX Daytona),

com auxílio de kits específicos da Randox[®] (urea: UR3825, creatinina: CR3814, AST: AS3804, GGT: GT3817, CK: CK110, glicose: GL3815, triglicérides: TR3823, colesterol: CH3810, HDL: CH3811, albumina: AB3800, proteína total: TP4001. Os valores de VLDL e LDL foram calculados por fórmulas matemáticas ($VLDL = \text{Triglicérides} / 5$ e $LDL = \text{colesterol Total} - HDL - VLDL$ (mg/dL)) (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972).

6.2.8 Quantificação dos Componentes hormonais do sangue

A quantificação dos componentes hormonais do sangue, estradiol, progesterona e cortisol foi realizada no Instituto Gênese de Análises Científicas, pela técnica de radioimunoensaio, utilizando kits específicos para cada hormônio (cortisol: IM1841; estradiol: Ultra-Sensitive Estradiol RIA, DSL4800; progesterona: IM1188) (Immunotech[®]).

6.2.9 Análise estatística

Já que o objetivo do trabalho era avaliar o efeito da qualidade do sêmen sobre as variáveis, para analisar efeito de grupo utilizou-se apenas os dados coletados 4 e 24 horas após a IA, ou seja dados coletados após o estabelecimento do tratamento, sendo que os dados avaliados 30 horas antes da IA serviram para trazer informação a respeito da homogeneidade dos grupos no início do tratamento. No entanto, os dados coletados em todos os momentos foram utilizados para avaliar o efeito de tempo, já que a variação pode ser mais precoce ou mais tardia, dependendo do parâmetro avaliado. As variáveis dos grupos B, M e R antes do procedimento podem ser observadas no apêndice B.

As variáveis foram avaliadas quanto à normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-wilk e homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. Após os *outliers* serem retirados, os dados foram analisados pelo PROC MIXED (SAS, versão 9.2, 2010), utilizando modelo para medidas repetidas no tempo, avaliando efeito de grupo, tempo e interação grupo*tempo. As matrizes foram testadas e foi utilizada a que apresentava menor valor de AIC. Para a comparação das médias foi utilizado o teste de Tukey e foram consideradas diferenças

estatísticas quando $P < 0,05$. Para verificar a correlação entre as variáveis, foi utilizado o PROC CORR (SAS, versão 9.2, 2010) e os coeficientes de correlação foram considerados significativos quando $P < 0,05$.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada interação grupo*tempo para AST ($p=0,102$), GGT ($p=0,497$), CK ($p=0,645$) e proteína total ($p=0,569$). Sendo assim, os resultados destas variáveis serão apresentados de acordo com o grupo, independente do tempo e de acordo com o tempo, independente do grupo. As tabelas que apresentam os resultados dessas variáveis de cada grupo em cada momento de avaliação podem ser encontradas no apêndice B.

Houve interação grupo*tempo para a albumina ($p=0,036$) e por este motivo essa variável terá seus resultados apresentados de acordo com cada grupo em cada momento de avaliação. Os resultados do tempo, independente de grupo e de grupo, independente de tempo para a albumina podem ser encontrados no apêndice B.

6.3.2 Perfil Hepático

Na tabela 12 estão apresentados os resultados de AST, GGT e CK dos grupos B, M e R. Os grupos apresentaram concentrações semelhantes para todas as variáveis.

Tabela 12 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK) séricos dos animais inseminados com sêmen Bom (B), Médio (M) ou Regular (R)

Variável	Sêmen			Valor de P
	B	M	R	
AST (U/L)	139,83 $\pm$ 3,84	143,48 $\pm$ 3,55	130,67 $\pm$ 2,95	0,153
GGT (U/L)	8,06 $\pm$ 0,52	9,32 $\pm$ 0,51	8,56 $\pm$ 0,57	0,242
CK (U/L)	947,32 $\pm$ 83,88	958,89 $\pm$ 58,42	986,33 $\pm$ 86,48	0,936

Fonte: Oliveira (2015).

De acordo com Kaneko et al. (2008), em condições normais, as enzimas hepáticas são encontradas em pequenas quantidades no plasma sanguíneo e em grandes quantidades no interior das células de alguns tecidos. O mesmo autor afirma que quando acontece o escape dessas enzimas para o sangue, há indicação de lesão tecidual. Tendo em vista que após a IA acontece uma reação inflamatória no útero (Troedsson, 1999; Kaufman et al., 2009) e que, de acordo com Bollwein, Sowade e Stolla (2003), essa reação inflamatória é atribuída à presença de células mortas que intensificam a inflamação, esperava-se que os animais que receberam o sêmen R no momento IA tivessem maior extravasamento das enzimas hepáticas para o sangue devido à resposta inflamatória mais acentuada em consequência do maior número de células lesadas na amostra seminal e, consequentemente, que esse grupo apresentasse maiores valores dessas enzimas quando comparado aos demais grupos. No entanto, os grupos apresentaram perfis hepáticos semelhantes entre si, indicando que a qualidade do sêmen não foi capaz de alterar o extravasamento dessas enzimas para o sangue.

Vale lembrar que todos os grupos passaram pelas mesmas exigências hepáticas, já que todos os animais foram submetidos ao protocolo de IATF e estavam sob as mesmas condições alimentares, de forma que a única diferença entre os grupos foi a qualidade do sêmen utilizado na IA.

Os resultados das dosagens de AST, GGT e CK em cada momento de avaliação estão apresentados na tabela 13. Para todas as variáveis foi possível notar alterações nas concentrações de acordo com cada período de avaliação.

Tabela 13 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK) séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24 horas após a IA)

Variável	Tempo em relação à IA (horas)			Valor de P
	-30	4	24	
AST (U/L)	103,60 $\pm$ 1,47 ^c	119,81 $\pm$ 2,73 ^b	177,68 $\pm$ 7,53 ^a	<0,0001
GGT (U/L)	11,20 $\pm$ 0,55 ^a	9,32 $\pm$ 0,47 ^b	7,97 $\pm$ 0,40 ^b	<0,0001
CK (U/L)	215,87 $\pm$ 16,56 ^c	526,77 $\pm$ 55,03 ^b	1378,70 $\pm$ 61,73 ^a	<0,0001

^{a,b,c} Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística no tempo.

Fonte: Oliveira (2015).

As enzimas AST e CK seguiram o mesmo padrão de comportamento, sendo que foi observada uma tendência crescente para ambas, ou seja, os menores valores foram observados

30 horas antes da IA e os valores mais altos para essas enzimas foram notados 24 horas após a IA.

Já para GGT, o comportamento foi inverso, sendo que os maiores valores foram encontrados 30 horas antes da IA e valores mais baixos apareceram 4 e 24 horas após a IA sendo que esses dois últimos foram semelhantes entre si.

De acordo com Peixoto et al. (2006), a AST é utilizada como marcador da função hepática e pode ser relacionada ao metabolismo muscular (COLES, 1984) de forma que sua elevação pode acontecer em casos de exercício físico intenso (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

Essa enzima é avaliada em conjunto com a CK, que é altamente sensível e estável (SHPIGEL; AVIDAR; BOGIN, 2003), para especificar se o aumento da AST é devido a lesões hepáticas ou musculares, já que se as lesões musculares forem descartadas pela concentração normal de CK, o aumento da atividade enzimática da AST pode ser interpretado como consequência de lesão hepática.

Neste experimento, o aumento das concentrações de AST e CK acontecerem simultaneamente, indicando que a elevação de AST é decorrente da intensa atividade muscular à que os animais foram expostos. O fato de esse aumento ter sido gradativo reforça essa afirmação, já que as concentrações enzimáticas se elevam à medida que a exigência física dos animais aumenta.

6.3.5 Proteinograma/Proteínas de fase aguda

Os resultados das concentrações de albumina estão apresentados na tabela 14. Trinta horas antes da IA e 4 horas após a IA os grupos apresentaram valores de albumina semelhantes entre si, no entanto, 24 horas após a IA o grupo R apresentou os valores mais altos de albumina quando comparado ao grupo B. Os valores apresentados pelo grupo M, neste momento de avaliação, foram semelhantes tanto ao grupo B quanto ao grupo R.

Segundo Kaufman et al. (2009) e Troedsson (1999), ocorre uma reação inflamatória após a deposição do sêmen no trato reprodutivo da fêmea. Bollwein, Sowade e Stolla (2003) compararam a reação inflamatória uterina após a deposição de sêmen fresco *in natura* ou após a deposição de apenas diluidor de sêmen à base de leite desnatado no útero de éguas e observaram aumento do fluxo sanguíneo deste órgão nas fêmeas que tiveram sêmen *in natura*

depositado no trato reprodutivo. Esse aumento de fluxo foi atribuído à maior resposta inflamatória uterina devido à presença de células mortas que intensificavam a inflamação. Tendo em vista que os grupos foram divididos de acordo com a quantidade de células viáveis no sêmen e que o sêmen R apresenta maior quantidade de células lesadas, esperava-se que o grupo R tivesse os menores valores desta proteína já que a albumina é uma proteína de fase aguda negativa (CALAZANS et al., 2009) e em situações de injúria tecidual tem sua concentração diminuída. No entanto, esse fato não foi observado.

O grupo B apresentou concentrações menores de albumina 30 horas antes da IA quando comparados com os valores observados 4 e 24 horas após a IA. O grupo M não apresentou alterações dessas proteínas de acordo com o tempo. O grupo R apresentou maiores concentrações de albumina 24 horas após a IA quando comparadas às observadas 30 horas antes da IA e 4 horas após a IA. Independente da qualidade do sêmen, estudos demonstram que a inflamação uterina pós-cobertura acontece em bovinos (TROEDSSON, 1999; KAUFMANN, 2009; OLIVEIRA et al., 2014b). Tendo em vista as características da albumina como PFA negativa, era esperado que todos os grupos apresentassem queda nas concentrações desta PFA após a IA. Cerón et al. (2005) afirmam que o estímulo para a produção de PFA ocorre entre 6 a 8 horas após a agressão e Jain, Gautam e Naseem (2011) citam que a concentração máxima dessas proteínas é atingida de 24 a 48 horas após a o estímulo. Sendo assim, os resultados desta pesquisa sugerem que a reação inflamatória que acontece após a deposição do sêmen com maior número de células inviáveis não é capaz de causar uma reação sistêmica de modo que afete a produção de PFAs.

Além de seu papel como PFA negativa, Winttwer et al. (1987) afirmam que a albumina tem função importante no transporte de substâncias no plasma pelo fato de ter capacidade de se ligar com uma série de compostos. Além disso, Gonzalez (2000) afirma que essa proteína reflete a condição proteica do animal, de forma que a má nutrição pode causar a queda desta proteína no sangue (GONZÁLEZ, 2000). Analisando por essa perspectiva, os grupos não deveriam apresentar diferenças na concentração de albumina, já que passaram pelo mesmo protocolo de indução da ovulação, que exigiria o transporte de hormônios pelo plasma, e já que estavam sob as mesmas condições alimentares e eram homogêneos quanto ao escore de condição corporal. Wittwer et al. (1987) ainda afirmam que ruminantes apresentam baixa velocidade de síntese e degradação dessa proteína e por esta razão seria necessário um longo período para detectar mudanças significativas nas concentrações de albumina. Os resultados observados neste estudo

contrariam a afirmação dos autores, já que em intervalo de poucas horas foi possível notar alterações das concentrações.

Tabela 14 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de albumina (g/dL), sérica dos animais que foram inseminados sêmen Bom (B), Médio (M) ou Regular (R) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Sêmen			Valor de P
	B	M	R	
-30	3,05 $\pm$ 0,02 ^B	3,27 $\pm$ 0,02	3,04 $\pm$ 0,02 ^B	0,439
4	3,16 $\pm$ 0,02 ^A	3,19 $\pm$ 0,02	3,11 $\pm$ 0,02 ^B	0,176
24	3,22 $\pm$ 0,01 ^{Ab}	3,28 $\pm$ 0,02 ^{ab}	3,32 $\pm$ 0,02 ^{Aa}	0,010
Valor de P	<0,0001	0,896	<0,0001	

^{A,B} Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre os tempos de avaliação.

^{a,b} Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os grupos.

Fonte: Oliveira (2015).

Na tabela 15 estão apresentados os resultados das dosagens de proteínas totais dos grupos B, M e R. Os resultados das proteínas totais foram semelhantes entre os grupos.

Tabela 15 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de proteína total sérica dos animais que foram inseminados sêmen Bom (B), Médio (M) ou Regular (R)

Variável	Sêmen			Valor de P
	B	M	R	
Proteínas Totais (mg/dL)	7,37 $\pm$ 0,03	7,42 $\pm$ 0,05	7,38 $\pm$ 0,04	0,676

Fonte: Oliveira (2015).

Bilate (2007) afirma que durante um processo inflamatório, além da reação local, ocorre também uma reação sistêmica, chamada de resposta de fase aguda. Esta resposta é caracterizada pela produção de proteínas de fase aguda (GRUYS et al., 2005) que são encontradas no sangue dos animais em concentrações que diferem dos valores de referência em situações de injúrias (GANHEIM et al., 2007). Segundo Cerón et al. (2005) a alteração dessas proteínas se desenvolve rapidamente após qualquer injúria tecidual com o objetivo de reestabelecer a homeostase e remover a causa de qualquer desequilíbrio. Dentre as PFAs, existem as PFA positivas que tem sua concentração aumentada durante processos inflamatórios e as PFAs

negativas que se comportam de maneira contrária, tendo sua concentração diminuída durante esses eventos (CERÓN ET AL., 2005; CALAZANS ET AL., 2009).

Como o próprio nome refere, a avaliação das proteínas totais revela informação a respeito das proteínas circulantes no sangue. Se a albumina, que é uma PFA negativa, tivesse sua concentração diminuída após a IA, seria aceitável que a concentração de proteínas totais fosse igual entre os grupos, já que essa diminuição exerceria o equilíbrio entre o aumento das PFAs positivas e diminuição das negativas. Entretanto, os valores para albumina foram semelhantes entre os grupos. Assim, com base na hipótese de que o sêmen R causaria maior resposta inflamatória, e consequentemente, maior produção das PFAs positivas, era esperado que este grupo apresentasse maior concentração das proteínas totais devido ao aumento da concentração de PFAs positivas. Esse fato também não foi observando, substanciando a afirmação de que a reação inflamatória causada após a deposição do sêmen com maior número de células lesadas não é capaz de causar uma reação sistêmica de modo que afete a produção de PFAs.

Os resultados das dosagens de proteínas totais em cada momento de avaliação estão apresentados na tabela 16.

Tabela 16 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de proteína total séricas de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Variável	Tempo em relação à IA (horas)			Valor de P
	-30	4	24	
Proteínas Totais (mg/dL)	7,03 $\pm$ 0,05 ^c	7,37 $\pm$ 0,03 ^b	7,79 $\pm$ 0,02 ^a	<0,0001

^{a,b,c} Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre a qualidade de sêmen.

Fonte: Oliveira (2015).

Os valores das proteínas totais foram aumentando de acordo com os momentos de avaliação, sendo que os valores mais baixos foram observados 30 horas antes da IA e os mais altos foram notados 24 horas após a IA.

Como citado anteriormente, a avaliação das proteínas totais revela informação a respeito das proteínas circulantes no sangue. Como a albumina, que é uma PFA negativa, não teve sua concentração diminuída após a IA, o aumento da concentração de proteínas totais que ocorreu após a IA, possivelmente indica o aumento das PFAs positivas que pode ter sido ocasionado pelo conjunto de atividades a que todos os animais foram submetidos e não somente à qualidade do sêmen, já que os grupos não apresentaram diferenças quanto a concentração desta variável.

Jain (1989) e Cerón et al. (2005) afirmam que o estímulo para a produção das PFAs ocorre entre seis a oito horas após a agressão e que a concentração máxima normalmente é atingida entre 24 a 48 horas após a estimulação (JAIN; GAUTAM E NASEEM, 2011). Os resultados observados neste estudo corroboram a afirmação dos autores já que foi observado um aumento gradativo da concentração de proteínas totais.

6.3.6 Correlação entre os componentes metabólicos, hormonais e proteínas de fase aguda e a hemodinâmica uterina

Nesta sessão serão apresentadas apenas as correlações correspondente aos dados de hemodinâmica uterina e correlações de importância biológica. No apêndice B, os coeficientes de correlação de todas as variáveis avaliadas neste experimento podem ser observados na tabela 58.

Na tabela 17 estão apreentados os coeficientes de correlação significativos entre as variáveis dos perfis renal, hepático, energético, hormonal, proteinograma/proteínas de fase aguda e os dados de ultrassonografia Doppler (RI e EV).

Tabela 17 – Coeficientes de correlação (r) entre uréia, gama-glutamil transferase (GGT), cortisol, glicose, colesterol, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), estradiol, progesterona, albumina e proteínas totais e os dados de ultrassonografia Doppler (índice de resistência uterina (RI) e escore de vascularização uterina (EV))

Variáveis	r	p
RI x Glicose	-0,14	0,0006
RI x Colesterol	0,13	0,002
RI x HDL	0,10	0,010
RI x LDL	0,12	0,002
RI x Estradiol	-0,15	0,0004
RI x Progesterona	0,13	0,001
RI x Albumina	-0,12	0,003
RI x Proteína Total	-0,11	0,007
EV x Ureia	-0,13	0,001
EV x GGT	-0,11	0,007
EV x Cortisol	-0,12	0,005

Fonte: Oliveira (2015).

Para colesterol, HDL e LDL, apesar de fraca, a correlação é positiva, ou seja, quanto maior é a concentração desses metabólitos, maior é o valor de RI. Isso indica que quanto maior a concentração desses metabólitos, menor é a vascularização, já que quanto maior o RI, menor é a perfusão sanguínea (BOLLWEIN, MAYER, STOLLA, 2003; GINTHER et al., 2007).

Em humanos, estudos que relacionam o perfil lipídico com dados de hemodinâmica, como pressão arterial e frequência cardíaca, são comuns na avaliação do risco de doenças cardiovasculares (BARBATO et al., 2006; LAZARETH et al., 2010). Esses estudos relatam que quanto maior a concentração de colesterol e suas frações, maior a probabilidade de doenças cardiovasculares. Apesar de o RI não ter sido avaliado nesses estudos, outros parâmetros da ultrassonografia Doppler como o índice volumétrico atrial esquerdo e função diastólica encontraram-se alteados em pacientes com elevadas concentrações de colesterol e suas frações (FRANCISCHETTI, 2011). A correlação observada entre esses metabólitos e o RI em vacas, pode ser indicativa de que altas concentrações de colesterol e suas frações influenciam o fluxo sanguíneo, fazendo com que a perfusão sanguínea seja diminuída e dificultada nesses animais. Com base nessas informações, é possível inferir que a diminuição do fluxo sanguíneo em animais que apresentam elevadas concentrações de colesterol e suas frações se estende por todo o organismo e não é uma alteração local do útero e nem consequência do tipo de sêmen utilizado na IA. No entanto, para confirmar essa hipótese, outros vasos deveriam ter sido avaliados.

Com relação à progesterona, também foi observada correlação positiva com os dados de RI. Esses resultados corroboram os achados de Herzog e Bollwein (2007) que avaliaram o fluxo sanguíneo de vacas durante o ciclo estral e observaram redução do fluxo quando a concentração de progesterona plasmática aumenta, devido ao efeito negativo que o hormônio causa sobre a perfusão sanguínea. Afirmações semelhantes foram feitas por Ford et al. (1979) e Ford e Chenault (1981) que observaram que durante a fase luteal o fluxo sanguíneo uterino é menor.

A hipótese de que os hormônios reprodutivos influenciam a vascularização do útero foi levantada por Oliveira et al. (2014b), que observaram que o fluxo sanguíneo era maior na fase de pró-estro e estro e menor na fase de diestro, em bovinos. No entanto, o grupo não dispunha dos resultados das análises hormonais para que essa afirmação pudesse ser feita com respaldo. A correlação observada entre a progesterona e o RI confirma essa hipótese e concorda com a afirmação dos autores citados anteriormente.

Já para glicose, estradiol, albumina e proteína total a correlação foi negativa o que indica que quanto maior a concentração dessas variáveis, menor é o valor de RI, ou seja, maior é a vascularização.

A correlação observada entre glicose e RI neste experimento, contraria os achados de Ranciaro e Mauad-Filho (2006). Esses autores avaliaram, em mulheres gestantes, a relação entre a concentração de glicose sanguínea e dados de ultrassonografia Doppler com o objetivo de verificar se o aumento da glicemia afetava o RI da artéria uterina de mulheres entre 28 e 36 semanas de gestação. No referido estudo os autores não observaram ligação entre o aumento da glicemia e os parâmetros avaliados. Apesar de a análise de correlação fornecer informações importantes, vale ressaltar que a significância do coeficiente de correlação não indica, necessariamente, uma relação de causa e efeito, e é possível que a correlação significativa seja um achado experimental, sem explicação biológica. Outros estudos que avaliassem essa relação não foram encontrados, dificultando o embasamento para a possível explicação dessa correlação.

A albumina e as proteínas totais foram avaliadas neste estudo com o objetivo de verificar alterações na concentração de proteínas de fase aguda que seria causada pela inflamação decorrente da deposição do sêmen de diferentes qualidades no útero das fêmeas. Paralelamente, mudanças na hemodinâmica uterina também eram esperadas devido à resposta inflamatória que ocorre após a IA (OLIVEIRA et al., 2014b), de forma que a vascularização aumenta (RI diminui) devido à essa inflamação. Em contrapartida, já que a albumina é uma PFA negativa esperava-se que, durante o processo inflamatório, sua concentração sérica diminuísse, enquanto que a vascularização aumentasse (RI diminui), caracterizando assim uma correlação positiva entre albumina e RI, diferente do que foi observado.

A análise da concentração de proteínas totais fornece informações a respeito de todas as proteínas que circulam no sangue. Dentre elas estão as PFAs positivas, que são proteínas que tem sua concentração aumentada durante processos inflamatórios (CALAZANS et al., 2009). Apesar de não ter sido observado aumento dessas proteínas de acordo com a qualidade do sêmen utilizado na IA, a correlação negativa existente entre essa variável e RI indica que quanto maior a concentração de proteínas totais, menor é RI. Em outras palavras, quanto maior a concentração de proteínas totais, maior é o fluxo sanguíneo da artéria uterina. Esses achados permitem inferir que, de alguma forma, tanto o aumento das PFAs positivas quanto o aumento da vascularização estão relacionados com a resposta inflamatória.

O estradiol também foi negativamente correlacionado com RI. Esses dados coincidem com os achados de Ford e Chenault (1981) que afirmam que o fluxo sanguíneo é maior quando o hormônio predominante é o estrógeno, e concordam com a afirmação de Nascimento e Santos (2003), que citam que na ação do estrógeno ocorre maior vascularização, maior fluxo sanguíneo e maior atividade metabólica. Adicionalmente, Herzog e Bollwein (2007) relatam a vascularização do útero de vacas é maior durante os períodos de proestro e estro, devido à ação deste hormônio.

Com relação ao EV, todas as correlações encontradas são negativas, ou seja, quanto maior é a concentração desses metabólitos, menor é o EV.

Em estudos realizados por Santos et al. (2013) em cadelas com piometra foi observada correlação positiva entre RI da artéria renal e concentração de ureia e GGT, que indica que quanto maior a concentração desses metabólitos, maior é o RI, ou seja, menor é a vascularização. Esses autores não avaliaram o EV, no entanto, o mesmo tipo de relação foi observado nos resultados do presente estudo, indicando que quanto maior a concentração desses metabólitos, menor é a vascularização. A pesquisa de Santos et al. (2013) é voltada para a vascularização renal e os autores acreditam que a correlação encontrada entre as variáveis indica que, com comprometimento renal, a vascularização também encontra-se diminuída. Nossa pesquisa tem foco na vascularização uterina, mas com base nos achados de Silva et al. (2013) é possível extrapolar algumas situações.

Carrol et al. (1987), Ferguson e Chalupa (1989) e Rhoads et al. (2006) afirmam que concentrações elevadas de ureia no sangue provocam aumento nos níveis deste metabólito nos tecidos e fluídos reprodutivos. Esse aumento sérico e local da concentração de ureia possivelmente influencia a vascularização, da mesma forma como foi observado por Santos et al. (2013) e é provável que a diminuição da vascularização uterina seja um agravante para as baixas taxas de concepção observadas em animais com níveis elevados de uréia sérica além da interferência no pH uterino que altera as condições do ambiente e consequentemente a sobrevivência espermática, do oócito ou do embrião, redução dos níveis de progesterona e potencialização a secreção de prostaglandina F2 α (PGF2 α).

O cortisol é um dos principais hormônios envolvidos na resposta ao estresse (GRECO e STABENFELDT, 1999). Em estudos realizados com vacas, Martin et al. (2010) relatam que fêmeas em situação de estresse apresentam sintomas como vocalização, inquietação e comportamento de fuga. Apesar de esse hormônio ter sido negativamente correlacionado com o EV, situações de estresse e comportamentos semelhantes aos descritos por Martin et al. (2010)

tendem a acelerar a frequência cardíaca e consequentemente aumentar a vascularização. Sendo assim, era esperado que a correlação observada entre essas variáveis fosse positiva. No entanto, é possível que eventos estressantes aumentem a perfusão sanguínea de órgãos vitais como cérebro, coração e pulmões e por esta razão, outros órgãos como o útero tenha a vascularização diminuída. Porém, para confirmar essa suposição, as concentrações de cortisol deveriam ter apresentado correlação com o RI e esse fato não foi observado.

Além desses resultados, correlações interessantes foram encontradas explorando a ideia da inflamação uterina e da reprodução. Os coeficientes dessas correlações e os respectivos valores de p estão apresentados na tabela 18.

Tabela 18 – Coeficientes de correlação (r) e valores de p (p) entre aspartato aminotransferase (AST), creatinaquinase (CK), glicose e cortisol

Variáveis	r	p
Cortisol x AST	0,15	0,0004
Cortisol x CK	0,26	<0,0001
Cortisol x Glicose	0,15	0,0003

Fonte: Oliveira (2015).

Correlação positiva foi observada entre as variáveis AST e CK e a concentração de cortisol que é um dos principais hormônios envolvidos na resposta ao estresse (GRECO; STABENFELDT, 1999). Essa correlação positiva indica que o aumento das enzimas hepáticas devido as atividades à que os animais foram submetidos se relaciona com as concentrações de cortisol, o que sugere que essas atividades causam estresse nos animais.

A correlação positiva entre cortisol e glicose encontrada neste experimento confirma as afirmações feitas por Grummer (1995) e Mendes et al. (2005) que dizem que o estresse é uma das causas da variação dos níveis de glicose, já que o cortisol, que é o hormônio relacionado ao estresse, afeta a gliconeogênese hepática. Sendo assim, fatores externos como exercícios físicos (BARBOSA; ANDRADE, 2008), aplicação de hormônios, contenção e qualquer outra atividade estressante podem interferir na concentração de glicose, devido ao aumento do cortisol circulante.

6.4 CONCLUSÃO

A qualidade do sêmen utilizado na IA não provoca alterações sistêmicas que sejam capazes de influenciar o perfil hepático ou o proteinograma/proteínas de fase aguda de vacas Nelore. Por outro lado, há uma relação fraca entre o fluxo sanguíneo uterino e os componentes séricos. Nota-se que o aumento do fluxo sanguíneo acompanha a diminuição das concentrações de ureia, GGT, colesterol e suas frações, cortisol e progesterona; em contrapartida, acompanha o aumento das concentrações de glicose, estradiol e albumina. Adicionalmente nota-se que o aumento de cortisol acompanha o aumento de AST, CK e glicose.

REFERÊNCIAS

ALGHAMDI, A. S.; FOSTER, D. N.; TROEDSSON, M. H. T. Equine seminal plasma reduces sperm binding to polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and improves the fertility of fresh semen inseminated into inflamed uteri. **Reproduction**, v. 127, p. 593-600, 2004.

BARBATO, K. B. G.; MARTINS, R. C. V.; RODRIGUES, M. L. G.; BRAGA, J. U.; FRANCISCHETTI, E. A.; GENELHU, V. Efeitos da redução de peso superior a 5% nos perfis hemodinâmico, metabólico e neuroendócrino de obesos grau I. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.87, p. 12-21, 2006.

BARBOSA, C. A.; ANDRADE, C. T. Interferência do ácido ascórbico na dosagem glicêmica. **Ciências da Saúde**, v.6, p.121-130, 2008.

BLOWEY, R. W., WOOD, D. W., DAVIS, J. R. A nutritional monitoring system for dairy herds based on blood glucose, urea and albumin levels. **The Veterinary Record**, v. 30, p. 691-696, 1973.

BOBE, G., YOUNG, J. W., BEITZ, D. C. Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.3105-3124, 2004.

BOLLWEIN, H.; MAYER, R.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during early pregnancy in mares. **Theriogenology**, v.60, p. 597-605, 2003.

BOLLWEIN, H.; MEYER, H. H.; MAIERL, J.; WEBER, F.; BAUMGARTNER, U.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. **Theriogenology**, v. 57, n. 8, p. 2053-2061, 2000.

BRICKNER, A. E., RASTANI, R. R., GRUMMER, R. R. Technical Note: Effect of sampling protocol on plasma non esterified fatty acid concentration in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.2219-2222, 2007.

BUTLER, W. R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v.2, p.449-457, 2000.

CAMERON, R. E. B.; DYK, P. B.; HERDT, T. H.; KANEENE, J. B.; MILLER, R.; BUCHOLTZ, H. F.; LIESMAN, J. S.; VANDEHAAR, M. J.; EMERY, R. S. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing

dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.132-139, 1998.

CALAZANS, S. G.; DALECK, C. R.; FAGLIARI, J. J.; REPETTI, C. F.; DE NARDI, A. B.; CASTRO, J. H. T.; FERNANDES, S. C.; CÉSAR, J. R. F.; RODIGHERI, S. M. Proteinograma sérico de cães sadios e com linfoma obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 1044-1048, 2009.

CARROL, D. J., BARTON, B. A., ANDERSON, G. W., GRINDLE, B. P. Influence of dietary crude protein intake on urea-nitrogen and ammonia concentration of plasma, ruminal and vaginal fluids of dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 65, p. 502, 1987.

CBRA: COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3. ed., Belo Horizonte: CBRA, 2013. 104 p.

CELEGHINI, E. C. C.; ARRUDA, R. P.; ANDRADE, A. F. C.; NASCIMENTO, J.; RAPHAEL, C. F.; RODRIGUES, P. H. M. Effects that bovine sperm cryopreservation using two different extenders has on sperm membranes and chromatin. **Animal Reproduction Science**, v. 104, p. 119-131, 2008.

CELEGHINI, E. C. C.; ARRUDA, R. P.; ANDRADE, A. F. C.; NASCIMENTO, J.; RAPHAEL, C. F. Practical techniques for bovine sperm simultaneous fluorimetric assessment of plasma, acrosomal and mitochondrial membranes. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 42, p. 479-488, 2007.

COLES, E. H. Patologia clínica veterinária. 3 ed. São Paulo: Manole, 1984. 566p.

DELL'AQUA JUNIOR, J. A.; PAPA, F. O.; LOPES, M. D.; ALVARENGA, M. A.; MACEDO, L. P.; MELO, C. M. Modulation of acute uterine inflammatory response after artificial insemination with equine frozen semen. **Animal Reproduction Science**, v. 94, p. 270-273, 2006.

DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 217p.

FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.3, p.746-766, 1989.

FORD, S. P.; CHENAULT, J. R. Blood flow to the corpus luteum-bearing ovary and ipsilateral uterine horn of cows during the oestrous cycle and early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 62, p. 555-562, 1981.

FORD, S. P.; CHENAULT J. R.; ECHTERNKAMP, S. E. Uterine blood flow of cows during the estrous cycle and early pregnancy: effect of the conceptus on the uterine blood supply. **Reproduction and fertility**, v.56, p.53-62, 1979.

FRANCISCHETTI, A. Diastolic Function and Left Atrial Volume Index in Obese With and Without Metabolic Syndrome and with Normal Left Atrial Filling Pressure through Tissue Doppler. **Revista brasileira de ecocardiografia e imagem cardiovascular**, v.24, p.41-47, 2011.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, p. 499-502, 1972.

GANHEIM, C.; ALENIUS, S.; PERSSON WALLER, K. Acute phase proteins as indicators of calf herd health. **Veterinary Journal**, v.173, p. 645-651, 2007.

GINTHER, O. J.; GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O., UTT, M. D.; BEG, M. A. Luteal blood flow and progesterone production in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 99, p. 213-220, 2007.

GINTHER, O. J.; UTT, M. D. Doppler Ultrasound in Equine Reproduction: Principles, Techniques, and Potential. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, p. 516-526, 2004.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2. ed, Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006, 358p.

GRECO, D.; STABENFELDT, G. H. Glândulas endócrinas e suas funções. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. Cap. 33, 2.ed., Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p. 324-352, 1999.

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.

GRUYS, E.; TOUSSAINT, M. J. M.; NEIWOLD T. A.; KOOPMANS S. J. Acute phase reaction and acute phase proteins. **Journal Zhejiang University Science**, v. 6, p. 1045-1056, 2005.

GRUYS, E.; OBWOLO, M. J.; TOUSSAINT, M. J. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in the veterinary clinical chemistry: a review. **Veterinary bulletin journal**, v. 64, p. 1009-1018, 1994.

HERZOG, K.; BOLLWEIN, H. Applications of doppler ultrasonography in cattle reproduction. **Reproduction in Domestic Animal**, v. 42, p. 51-58, 2007.

JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute-phase proteins: as diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 3, p.118-127, 2011.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 7. ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916p.

KAUFMANN, T. B.; DRILLICH, M.; TENHAGEN, B. A.; FORDERUNG, D.; HEUWIESER, W. Prevalence of bovine subclinical endometritis 4 h after insemination and its effects on first service conception rate. **Theriogenology**, v. 71, p. 385-391, 2009.

LAZARETH, R. A.; SILVA, T. R., PALOMBO, V.; NAVARRO, F. Perfil antropométrico, metabólico e hemodinâmico de atletas adolescentes de 14 a 19 anos de idade. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v.4, p. 173-181, 2010.

LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Reproduction and Development**, v.56, p. s29-s35, 2010.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. 4 ed. São Paulo: Sarvier, 2006. 1202 p.

MADUREIRA, E. H.; PIMENTEL, J. R. V. IATF como ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2005.

MARTIN, I.; FUJIHARA, C. J.; MARQUES FILHO, W. C.; MAZIERO, R. R. D.; BISCARDE, C. E. A., FERREIRA, J. C. P. Biopsias luteais em vacas nelore. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, p. 724-730, 2010.

MEDEIROS, S. H. L.; MONTERO, E. F. S.; GOMES, L. F.; TAHA, M. O.; JUNQUEIRA, V. B. C.; SIMÕES, M. J. Evaluation of the normothermic ischemic liver injury: the role of

main biliary duct occlusion and N-acetylcysteine. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgões**, v. 32, p. 168-172, 2005.

MENDES, A. R.; EZEQUIEL, J. M. B.; GALATI, R. L.; FEITOSA, J. V. Desempenho, parâmetros plasmáticos e características de carcaça de novilhos alimentados com farelo de girassol e diferentes fontes energética, em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n.2, p.962-702, 2005.

NÄÄS, I. A.; QUEIROZ, M. P. G.; MOURA, D. J. M.; BRUNASSII, L. A. Dairy cows estrus estimation using predictive and quantitative methods. **Ciência Rural**, v.38, p.2383-2387, 2008.

NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. **Patologia da reprodução nos animais domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 137 p.

OLIVEIRA, B. M. M.; ARRUDA, R. P.; THOMÉ, H. E.; MATURANA FILHO, M.; OLIVEIRA, G. C.; GUIMARÃES, C. F.; NICHI, M.; SILVA, L. A.; CELEGHINI, E. C. C. Fertility and uterine hemodynamic in cows after artificial insemination with semen assessed by fluorescent probes. **Teriogenology**, v.82, p. 767-772, 2014a.

OLIVEIRA, B. M. M.; ARRUDA, R. P.; THOMÉ, H. E.; MATURANA FILHO, M.; OLIVEIRA, G. C.; GUIMARÃES, C. F.; SILVA, L. A.; NICHI, M.; CELEGHINI, E. C. C. Artificial insemination causes uterine hemodynamic alterations in suckled beff cows subjected to an ovulations synchronization program. **Livestock Science**, v.167, p.449-454, 2014b.

PAYNE, J. M., DEW, S. M., MANSTON, R., FAULKS, M. The use of metabolic profile test in dairy herds. **The Veterinary Record**. V. 87, p. 150-158, 1970.

PAYNE, J. M., PAYNE, S. **The metabolic profile test**. Oxford, Oxford University Press. 1987. 179 p.

PEIXOTO, L. A. O.; BRONDANI, I. L.; NÖRNBERG, J. L.; RESTLE, J.; ALVES, D. C.; PAZINI, F. M.; CORADINI, M. T.; SANTOS, C. V. M. Perfil metabólico protéico e taxas de concepção de vacas de corte mantidas em pastagem natural ou suplementadas com farelo de trigo com ou sem ureia. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1873-1877, 2006.

PEIXOTO, L. A.O.; OSORIO, M. T. M. Perfil metabólico proteico e energético na avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, n.3, p. 299-304, 2007.

RANCIARO, R. M.C.; MAUAD-FILHO, F. Materno-fetal hemodynamic repercussion of glucose ingestion. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.28, p. 693-699, 2006.

RHOADS, M. L.; RHOADS, R. P.; GILBERT, R. O.; TOOLE, R.; BUTLER, W. R. Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 91, p. 1-10, 2006.

RIBEIRO, E. S.; LIMA, F. S.; AYRES, H.; GRECO, L. F.; BISINOTTO, R. S.; FAVORETO, M.; MARSOLA, R. S.; MONTEIRO, A. P. A.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Effect of postpartum diseases on reproduction of grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.63, 2011.

ROBINSON, J. J. Nutrition and reproduction. **Animal Reproduction Science**, v. 42, n. 1, p. 25-34, 1996.

ROWLANDS, G. J. A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with physiology, nutrition and disease, with particular reference to the interpretation of results. **World Review of Nutrition and Dietics**, v. 35, p. 172-235, 1980.

ROWLANDS, G. J., LITTLE, W., MANSTON, R., DEW, S. M. The effect of season on the composition of the blood of lactating and non-lactating cow as revealed from repeated metabolic profile testes on 24 dairy herds. **Journal of Agricultural Science**, v. 83, p. 27-35, 1974.

SANTOS, R. V.; MERLINI, N. B.; SOUZA, L. P.; MACHADO, V. M. V.; PANTOJA, J. C. F.; PRESTES, N. C. Doppler ultrasonography in the renal evaluation of bitches diagnosed with pyometra before and after treatment with ovariohysterectomy. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p.635-642, 2013.

SCHJENKEN, J. E.; ROBERTSON, S.A. Seminal Fluid and Immune Adaptation for Pregnancy – Comparative Biology in Mammalian Species. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, p. 27-36, 2014.

SHARKEY, D. J.; TREMELLEN, K. P.; JASPER, M.J.; GEMZELL-DANIELSSON, K. ROBERTSON, S.A. Seminal fluid induces leukocyte recruitment and cytokine and chemokine mRNA expression in the human cervix after coitus. **The Journal of Immunology**, v. 188, p. 2445-2454, 2012.

SHPIGEL, N. Y.; AVIDAR, Y.; BOGIN, E. Value of measurements of the serum activities of creatine phosphokinase, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase for predicting whether recumbent dairy cows will recover. **Veterinary Record**, v. 152, p. 773-776, 2003.

SPITZER, J. C. Influences of nutrition on reproduction in beef cattle. In: Morrow, D. A. (Ed.), **Current therapy in theriogenology**. 2 ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1986. p. 231-234.

TROEDSSON, M. H. T. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in mare. **Theriogenology**, v. 52, p. 461-471, 1999.

7 ARTIGO 3: A HEMODINÂMICA UTERINA E OS PERFIS RENAL, HEPÁTICO, ENERGÉTICO, HORMONAL E DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA DE VACAS NELORE INFLUENCIAM AS TAXAS DE PRENHEZ?

7.1 INTRODUÇÃO

A reprodução animal é um dos alicerces da cadeia produtiva, de forma que sua eficiência deve ser detalhadamente monitorada com o objetivo de maximizar o desfrute, que é a capacidade do rebanho em gerar excedente, aumentando a produção de carne e garantindo alta rotatividade financeira em uma propriedade (BARUSELLI et al., 2004).

Nesse contexto, a maioria das pesquisas atuais tem como objetivo encontrar as causas de falhas reprodutivas, já que o interesse geral é aumentar as taxas de fertilidade. Alguns dos fatores que interferem nas taxas de concepção do rebanho já são conhecidos e amplamente estudados, assim como as condições do trato reprodutivo das fêmeas e a qualidade do sêmen utilizado na IA. Além dos já conhecidos, outros fatores podem estar associados aos índices reprodutivos insatisfatórios, tais como os eventos que acontecem no organismo da fêmea, alterações na hemodinâmica uterina, além de todas as alterações metabólicas e hormonais.

Atualmente, a ultrassonografia modo B, a citologia e a biopsia uterina ainda são ferramentas utilizadas para avaliar as condições do útero, que é um órgão de extrema importância devido à sua participação no desenvolvimento e manutenção do feto. A ultrassonografia Doppler vem ganhando importância na medicina veterinária por ser uma forma não invasiva de avaliar alterações uterinas que podem influenciar na fertilidade e por fornecer informações sobre a perfusão sanguínea em tempo real (IGNÁCIO; FERREIRA; MEIRA, 2011; BARBOSA et al., 2013). Algumas enzimas, proteínas e metabólitos em geral também podem influenciar os índices reprodutivos (BOUDA et al., 1980; ROWLANDS; MANSTON, 1983; GREGORY; SIQUEIRA, 1983; PAYNE; PAYNE, 1987; BEAL et al., 1990; FERREIRA; TORRES, 1993; FERGUSON et al., 1993; BUTLER et al., 1996; JORRITSMA et al., 2004, GODOY et al., 2004), sendo que concentrações normais de vários constituintes bioquímicos são indispensáveis para a função normal de diversos sistemas do organismo, incluindo o sistema reprodutivo (ELAZAB et al., 1993) e, as alterações desses constituintes tem sido apontadas como causas de falhas reprodutivas (BARUI et al., 2015).

A interação entre o perfil metabólico e a reprodução é estudada desde a década de 70 em bovinos leiteiros (PAYNE et al., 1970; BLOWEY et al., 1973; ROWLANDS et al., 1974; ROWLANDS, 1980, RASOLOMBOAHANGINJATOVO et al., 2014), entretanto, na bovinocultura de corte os trabalhos ainda são escassos e inconclusivos.

Este trabalho é inovador já que visa avaliar diversos parâmetros do organismo animal com o objetivo de comparar o perfil renal (ureia e creatinina), hepático (AST, GGTe CK), energético (glicose, triglicérides, colesterol, HDL, LDL e VLDL), hormonal (cortisol, estradiol e progesterona) e proteinograma/proteínas de fase aguda (albumina e proteínas totais) entre animais que se tornaram prenhes ou não após serem submetidos à IATF, e ainda verificar se há relação entre as alterações que ocorrem na hemodinâmica uterina e a fertilidade das vacas, em busca de informações que possam contribuir para o melhor desempenho reprodutivo em bovinos.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia do Sêmen e Andrologia do Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, na Fazenda Fronteira, localizada no município de Cocalinho, MT- Brasil e no Laboratório Multiusuário de Análises Clínicas Veterinárias do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, SP, setembro de 2010 a julho de 2015.

7.2.1 Seleção dos animais

As fêmeas, que era vacas paridas da raça Nelore (entre 50 e 70 dias pós-parto), mantidas sob as mesmas condições ambientais, em pastagem de capim-Braquiarião (*Brachiaria brizantha*), com água e sal mineral não proteinado *ad libitum*, foram avaliadas previamente quanto à sanidade e hígidez do trato reprodutivo e escore de condição corporal. Por

ultrassonografia transretal, foram avaliados o escore uterino de 1 a 3, sendo 1 o útero com involução completa, sem líquido; 2 o útero com pequena quantidade de líquido em sua luz, com involução incompleta e pouco distendido; e 3 o útero que apresenta líquido em sua luz, podendo apresentar algum tipo de infecção, distendido e sem involução (OLIVEIRA et al., 2014b) e ovariano de 1 a 3, sendo 1 o ovário com diâmetro maior que 30 mm, com folículos em crescimento com diâmetro maior que 8,5 mm na presença de um corpo lúteo ou folículos maiores que 12 mm na ausência de corpo lúteo, 2 o ovário menor que 30 mm com folículos entre 5 e 8,5 mm; e 3 o ovário com diâmetro menor que 12 mm com folículos que apresentavam até 5 mm de diâmetro (MADUREIRA; PIMENTEL, 2005). Os animais apresentando escores uterino e/ou ovariano 3 foram excluídos do experimento.

O escore de condição corporal foi classificado de 1 a 9 (SPITZER, 1986) e as vacas que apresentavam escores <4 foram excluídas do experimento. Nenhum animal apresentou escore de condição corporal >7.

7.2.2 Escolha da partida de sêmen

Foram analisadas 20 amostras de sêmen comercial para a separação de três partidas a serem utilizadas no experimento apresentando qualidades diferentes (Boa, Média e Regular).

Duas palhetas de sêmen de cada partida foram descongeladas (37°C por 30 segundos), o volume total do sêmen foi colocado em um tubo de microcentrífuga (1,5 mL), homogeneizado e analisado quanto a motilidade, vigor, concentração, alterações morfológicas e integridade das membranas plasmática e acrossomal e função mitocondrial.

A motilidade espermática foi avaliada subjetivamente e pelo sistema computadorizado da motilidade espermática (CASA – Computer-Assisted Sperm Analysis, Hamilthon Thorne Biosciences, modeloIVOS 12.3). O vigor foi avaliado em escores de 1 a 5, subjetivamente. A concentração foi determinada pela leitura em câmara de Neubauer. Para avaliar as alterações morfológicas, o sêmen foi diluído em formol salino tamponado e a leitura realizada em preparações úmidas, sob microscopia de contraste de interferência diferencial (Nikon, modelo 80i) com aumento de 1.000 x, contando-se 200 células por amostra e anotando-se as alterações observadas.

A integridade das membranas plasmática e acrossomal e função mitocondrial foram avaliadas pela associação das sondas iodeto de propídio (PI), Hoechst 33342 (H342), aglutinina de *Pisum sativum* conjugada ao isotiocianato de fluoresceína (FITC-PSA) e iodeto de 5,5',6,6'-tetracloro-1,1',3,3' tetraetilbenzimidazol carbocianina (JC-1), segundo Celeghini et al. (2008). As células foram classificadas em oito categorias de acordo com a fluorescência emitida por cada sonda, conforme descrito por Celeghini et al. (2007).

Das oito categorias de células obtidas nesta técnica foi considerado somente o percentual das células que apresentaram membrana plasmática intacta, acrossomo intacto e com função mitocondrial (PIAIC) para a divisão dos grupos experimentais. As partidas foram divididas em grupos de acordo com o percentual de células PIAIC por palheta pós-criopreservação. De acordo com os dados obtidos, foram separadas partidas diferentes de um mesmo touro para evitar efeitos do touro; desta forma, foram escolhidas as partidas, sendo que o sêmen denominado Regular (R) apresentava 8,5% de espermatozoides PIAIC, 40% de motilidade progressiva, 2,5 de vigor, 11% de defeitos maiores e 1% de defeitos menores. O sêmen Médio (M) apresentava 23% de espermatozoides PIAIC, 50% de motilidade progressiva, 3 de vigor, 5% de defeitos maiores e 1% de defeitos menores e o sêmen Bom (B) apresentava 44,5% de espermatozoides PIAIC, 65% de motilidade progressiva, 3 de vigor, 6% de defeitos maiores e 5% de defeitos menores. Por se tratar de estudo retrospectivo, foi possível avaliar que os resultados de prenhez de cada partida apresentaram diferenças importantes (sêmen B: 44, 63%^a, sêmen M: 33,33%^{ab} e sêmen R: 22,03%^b). Sendo assim, o sêmen R foi excluído das análises e as partidas do sêmen B e M foram comparadas (57,25% e 42,75%, respectivamente). Nesta comparação foi observada uma tendência estatística ($p=0,074$) e por essa razão, na intenção de evitar confundimento por efeito da partida de sêmen, optou-se por realizar este experimento apenas com os animais que foram inseminados com o sêmen B.

7.2.3 Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

Foram utilizados 121 animais que foram submetidos ao protocolo de sincronização do estro e da ovulação, para permitir a IATF, foi colocado um implante subcutâneo (3 mg de norgestomet, Crestar[®]) mais a aplicação intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol (Estrogin[®]), após 8 dias, o implante foi retirado, foi administrado 1 mg de benzoato de estradiol,

0,5 mg de cloprostenol sódico (Sincrocio[®]) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (Novormon[®]), realizando-se a IATF 30 horas depois, como descrito por Oliveira et al. (2014a) e Oliveira et al. (2014b). A IA foi realizada pela deposição do sêmen no corpo do útero com aplicador universal por um inseminador experiente, com os animais contidos em brete.

7.2.4 Coletas e armazenamento do sangue

As amostras foram coletadas por punção da veia jugular externa, utilizando o sistema Vacutainer[®], em três momentos: 30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA. De cada animal, coletou-se sangue para a obtenção de soro e de plasma, utilizando-se tubos sem e com a adição de anti-coagulante, respectivamente.

O sangue foi centrifugado (Centrífuga clínica Centerbio[®], modelo 80-2B-15 mL, 420 g, por 15 minutos), o soro e o plasma foram separados com o auxílio de pipetas em triplicatas em microtubos de 1,5 mL, identificados e armazenados congelados a temperatura de -80°C.

7.2.5 Avaliação da vascularização uterina

Nos mesmos momentos da coleta de sangue a vascularização uterina foi avaliada utilizando um aparelho de ultrassonografia Doppler com probe linear transretal (6,5 mHz), (M5vet, Mindray[®], China) no modo espectral e no modo color Doppler.

Os exames foram realizados como descrito anteriormente por Oliveira et al. (2014a) e Oliveira et al. (2014b). O modo espectral foi utilizado para avaliação do fluxo sanguíneo das artérias uterinas, sendo que a localização das artérias uterinas para seu escaneamento foi realizada de acordo com Bollwein et al. (2000). O dado utilizado para avaliação foi o índice de resistência (RI) das artérias. O exame foi realizado até que fossem obtidas, no mínimo, nove ondas semelhantes do ciclo cardíaco. Posteriormente a avaliação dessas ondas foi realizada, de modo que a cada três ondas semelhantes formadas, o valor de RI da onda mediana era anotado e somado com as outras duas ondas medianas dos próximos ciclos obtidos. Para a análise

estatística foi utilizada a média das três ondas. O modo color foi utilizado para a avaliação subjetiva da vascularização dos cornos uterinos. Foi realizado o escaneamento dos cornos uterinos direito e esquerdo de modo a obter a imagem de um corte transversal com a probe localizada na metade de cada corno uterino. A vascularização foi avaliada em escores de 0 a 4, sendo 0 (zero) referente a vascularização mínima e 4 (quatro) à vascularização máxima.

7.2.6 Diagnóstico de gestação

O Diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IA por ultrassonografia transretal, utilizando o modo B.

7.2.7 Divisão dos grupos experimentais

De acordo com o diagnóstico de gestação foi feito um estudo retrospectivo, de forma que os 121 animais inseminados com o sêmen B foram divididos em dois grupos experimentais: Prenhes (n=76 – 62,80%) e Vazias (n=45 – 37,20%).

7.2.8 Quantificação das Proteínas de fase aguda e dos Componentes metabólicos do sangue

Os componentes metabólicos e proteína de fase aguda foram quantificados no Laboratório Multiusuário de Análises Clínicas Veterinárias do Departamento de Medicina Veterinária da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, utilizando analisador bioquímico automático (RX Daytona), com auxílio de kits específicos da Randox® (urea: UR3825, creatinina: CR3814, AST: AS3804, GGT: GT3817, CK: CK110, glicose: GL3815, triglicérides: TR3823, colesterol: CH3810, HDL: CH3811, NEFA: FA115, BHB: RB1007, albumina: AB3800, proteína total: TP4001. Os

valores de VLDL e LDL foram calculados por fórmulas matemáticas ($VLDL = \text{Triglicérides} / 5$ e $LDL = \text{colesterol Total} - HDL - VLDL$ (mg/dL)) (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972).

7.2.9 Quantificação dos Componentes hormonais do sangue

A quantificação dos componentes hormonais do sangue, estradiol, progesterona e cortisol foi realizada no Instituto Gênese de Análises Científicas, pela técnica de radioimunoensaio, utilizando kits específicos para cada hormônio (cortisol: IM1841; estradiol: Ultra-Sensitive Estradiol RIA, DSL4800; progesterona: IM1188) (Immunotech®).

7.2.10 Análise estatística

Para analisar os resultados de prenhez de acordo com cada partida de sêmen, as variáveis foram avaliadas quanto a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-wilk e homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene e então os dados foram analisados pelo PROC FREQ. Após determinar o tipo de sêmen que seria utilizado neste estudo as variáveis foram novamente avaliadas quanto a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-wilk e homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. Após os outliers serem retirados, os dados foram analisados pelo PROC MIXED (SAS, versão 9.2, 2010), utilizando modelo para medidas repetidas no tempo, avaliando efeito de grupo, tempo e interação grupo*tempo. As matrizes foram testadas e foi utilizada a que apresentava menor valor de AIC. Para a comparação das médias foi utilizado o teste de Tukey e foram consideradas diferenças estatísticas quando $P < 0,05$. Para verificar a correlação entre as variáveis, foi utilizado o PROC CORR (SAS, versão 9.2, 2010) e os coeficientes de correlação foram considerados significativos quando $P < 0,05$.

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada interação grupo*tempo para as variáveis creatinina ($p=0,348$), AST ($p=0,470$), GGT ($p=0,166$), CK ($p=0,122$), glicose ($p=0,549$), triglicérides ($p=0,751$), colesterol ($p=0,101$), HDL ($p=0,151$), LDL ($p=0,162$), VLDL ($p=0,751$), cortisol ($p=0,440$), estradiol ($p=0,056$), progesterona ($p=0,320$), albumina ($p=0,122$) e proteínas totais ($p=0,726$).

Sendo assim, os resultados destas variáveis serão apresentados de acordo com o grupo, independente do tempo e de acordo com o tempo, independente do grupo. As tabelas que apresentam os resultados dessas variáveis de cada grupo em cada momento de avaliação podem ser encontradas no apêndice C.

Houve interação grupo*tempo para ureia ($p=0,005$) e RI ($p=0,036$), por isso essas variáveis terão seus resultados apresentados de acordo com cada grupo em cada momento de avaliação e os resultados de grupo, independente de tempo, e de tempo, independente de grupo podem ser encontrados no apêndice C.

7.3.1 Perfil Renal

A tabela 19 apresenta os resultados das concentrações de ureia do grupo vazio e prenhe em cada momento de avaliação. O grupo vazio apresentou maior concentração de ureia 24 horas após a IA do que o grupo de vacas prenhes.

Tabela 19 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de ureia (mg/dL) sérica dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	16,90 $\pm$ 0,87 ^B	18,57 $\pm$ 0,85 ^{AB}	0,200
4	17,27 $\pm$ 0,91 ^B	17,04 $\pm$ 0,69 ^B	0,834
24	23,22 $\pm$ 0,83 ^A	19,75 $\pm$ 0,60 ^A	0,0009
Valor de P	<0,0001	0,044	

^{A,B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Altas concentrações de ureia são associadas com um efeito deletério sobre a concepção em vacas. Esse efeito é atribuído ao aumento dos níveis deste metabólito nos tecidos e fluídos reprodutivos (FERGUSON; CHALUPA, 1989), alterando o ambiente uterino, com aumento do pH (RHOADS et al., 2006) que prejudica a sobrevivência do espermatozoide, do oócito ou do embrião, reduz os níveis de progesterona e potencializa a secreção de prostaglandina F2 α (PGF2 α) (CARROL et al., 1987). Butler et al. (1996) e Ferguson et al. (1993) observaram diminuição na possibilidade de gestação quando os níveis de ureia ultrapassavam 19 mg/dL. O grupo vazio apresenta maiores valores de ureia que o grupo prenhe 24 horas após a IA e esses valores são superiores ao estipulado pelos autores. Sendo assim, é possível sugerir que o grupo vazio teve o ambiente uterino afetado por altas concentrações de ureia e possivelmente esse fator tenha influenciado os resultados de concepção.

Apesar disso, vale ressaltar que de acordo com Barros Filho (1995), o valor de referência para ureia em fêmeas zebuínas da raça Nelore em idade reprodutiva no Brasil varia de 25,32 a 25,91 mg/dL. Os animais de ambos os grupos apresentaram concentrações de ureia inferior ao referido na maioria dos períodos de avaliação e mesmo os valores apresentados pelo grupo vazio 24 horas após a IA ainda estão de acordo com os citados pelo autor.

Com relação às alterações de acordo com os momentos de avaliação, os grupos se comportaram de maneira parecida, sendo que o pico ocorreu 24 horas após a IA.

De acordo com Wittwer et al. (1993) e Roseler et al. (1993), a ureia é sintetizada em quantidades proporcionais à concentração de amônia produzida no rúmen, de forma que a concentração sérica de ureia é reflexo da ingestão de proteína. Sendo assim, a concentração deste metabólito no sangue pode sofrer alterações passageiras durante o dia, principalmente após a alimentação (GARCIA, 1997). Os resultados deste experimento para a concentração de ureia no decorrer do tempo vão de acordo com as afirmações destes autores.

Payne e Payne (1987) citam que a ureia demonstra o estado proteico do animal em curto prazo, de modo que a concentração sérica é um dos principais indicadores do metabolismo proteico em ruminantes. Adicionalmente, Roseler et al. (1993) afirmam que os teores sanguíneos de ureia são reflexos da ingestão de proteína, da degradabilidade das fontes proteicas e da energia disponível no rúmen (ROSELER et al. 1993). Os animais de todos os grupos estavam sob as mesmas condições alimentares em pastagem de capim-Braquiarião (*Brachiaria brizantha*), com água e sal mineral não proteinado *ad libitum*. O regime extensivo, no qual esses animais eram mantidos, fazia com que os animais se alimentassem da pastagem local. Já que os animais não apresentaram nenhuma alteração que indicasse comprometimento

renal que justificasse as alterações das concentrações de ureia, pode ser que a qualidade proteica deste pasto não tenha sido suficiente para manter as exigências dos animais, já que na maioria dos momentos de avaliação a concentração de ureia de ambos os grupos, está abaixo do estabelecido por Barros Filho (1995) (25,32 a 25,91 mg/dL), no entanto os animais utilizados no experimento apresentavam bom escore de condição corporal (entre 4 e 7) e para confirmar essa suspeita seria necessária uma análise bromatológica, que não era o foco desta pesquisa.

Na tabela 20 estão apresentadas as concentrações de creatinina dos grupos vazio e prenhe. O grupo prenhe apresentou valores mais altos de creatinina.

Tabela 20 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de creatinina sérica dos animais dos grupos Vazio e Prenhe

Variável	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
Creatinina (mg/dL)	1,30 $\pm$ 0,01	1,40 $\pm$ 0,01	0,0002

Fonte: Oliveira (2015).

A concentração de creatinina é indicativa de função renal por avaliar a filtração glomerular (MORAIS et al., 2000) e poderia influenciar o desempenho reprodutivo apenas se houvesse lesão renal grave. A lesão renal grave causa aumento das concentrações de creatinina no soro, no entanto, esse fato só ocorre quando há comprometimento renal da ordem de 60% a 75% dos néfrons de ambos os rins (MORAIS et al., 2000). De acordo com Barros Filho (1995), o valor de referência para creatinina em fêmeas zebuínas da raça Nelore em idade reprodutiva no Brasil varia de 1,76 a 1,85 mg/dl. Os valores da concentração de creatinina de ambos os grupos se apresentou abaixo dos níveis de referência, o que indica que os animais não apresentavam nenhuma alteração renal. Dessa forma, a diferença observada entre os grupos, não pode ser relacionada com o sucesso da fertilização, já que nenhum dos grupos apresentava comprometimento renal grave, capaz de influenciar a taxa de prenhez.

Os resultados da dosagem de creatinina em cada momento de avaliação estão apresentados na tabela 21. Não foi notado efeito de tempo.

Tabela 21 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de creatinina séricas de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24 horas após a IA)

Variável	Tempo em relação à IA (horas)			Valor de P
	-30	4	24	
Creatinina (mg/dL)	1,36 $\pm$ 0,02	1,38 $\pm$ 0,02	1,36 $\pm$ 0,01	0,727

Fonte: Oliveira (2015).

Esses resultados corroboram a afirmação de Kaneko et al. (2008) que dizem que a quantidade de creatinina formada pelo indivíduo é relativamente constante. Em ambos os grupos e em todos os momentos de avaliação, os animais apresentaram valores de creatinina abaixo dos valores de referência estipulados por Barros Filho (1995) (1,76 a 1,85 mg/dL); entretanto, os animais não apresentaram nenhum sinal de alterações renais e esse fator não teve influência sob as taxas de prenhez já que o grupo prenhe apresentou resultados satisfatórios mesmo estando com os níveis de creatinina abaixo do desejável.

7.3.2 Perfil Hepático

As variáveis que representam o perfil hepático foram semelhantes entre os grupos e estão apresentadas na tabela 22 apresenta

Tabela 22 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK) séricas dos animais do grupo Vazio e Prenhe

Variável	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
AST (U/L)	129,93 $\pm$ 3,38	126,24 $\pm$ 4,14	0,955
GGT (U/L)	9,31 $\pm$ 0,70	9,32 $\pm$ 0,55	0,800
CK (U/L)	666,91 $\pm$ 61,80	707,51 $\pm$ 88,87	0,732

Fonte: Oliveira (2015).

A AST, GGT e CK são enzimas comumente utilizadas para a avaliação hepática de bovinos. Partindo do ponto que os animais foram avaliados previamente e que não apresentavam nenhum sinal de alterações sistêmicas, foram mantidos sob as mesmas condições

alimentares e foram submetidos aos mesmos procedimentos, inclusive de exigência da metabolização de hormônios que foram utilizados para permitir a IATF, era esperado que os grupos apresentassem padrões hepáticos semelhantes.

Além de serem utilizadas como parâmetros para a avaliação hepática, a AST e CK também estão associadas à atividade muscular (COLES, 1984; GONZÁLEZ e SILVA, 2006; KANEKO et al., 2008). Nesse contexto, se a concentração para essas enzimas estivesse aumentada no grupo vazio, poderia especular-se que o excesso de atividade física pudesse ter influenciado na fertilização pelo fator estressante que essas atividades exerceriam. No entanto, essa diferença não foi observada neste experimento, demonstrando que nenhuma diferença relacionada ao perfil hepático existe entre vacas que emprenham ou não após a IATF.

Na tabela 23 podem ser observados os resultados de AST, GGT e CK em cada momento de avaliação. Para todas as variáveis foi notada alteração das concentrações de acordo com o tempo. Os valores de AST e CK foram aumentando, atingindo um pico 24 horas após a IA e os valores de GGT foram maiores 30 horas antes da IA e mais baixos 4 e 24 horas após a IA.

Tabela 23 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e creatina-quinase (CK) séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Variável	Tempo em relação à IA (horas)			Valor de P
	-30	4	24	
AST (U/L)	105,28 $\pm$ 2,74 ^c	121,05 $\pm$ 6,11 ^b	158,29 $\pm$ 4,06 ^a	<0,0001
GGT (U/L)	11,65 $\pm$ 0,72 ^a	8,72 $\pm$ 0,81 ^b	7,41 $\pm$ 0,67 ^b	<0,0001
CK (U/L)	214,56 $\pm$ 27,43 ^c	597,28 $\pm$ 129,86 ^b	1291,49 $\pm$ 97,29 ^a	<0,0001

^{a,b,c} Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Segundo González e Silva (2006), a concentração de AST pode aumentar devido à atividade física intensa já que essa enzima também está relacionada ao metabolismo muscular (COLES, 1984). Para esse tipo de interpretação, a AST é avaliada em conjunto com a CK para que seja possível verificar se as alterações de AST são de origem hepática ou muscular. Neste experimento, as enzimas AST e CK seguiram o mesmo padrão de comportamento, o que indica que a atividade muscular a que os animais foram submetidos foi suficiente para alterar os parâmetros das enzimas hepáticas. Vale ressaltar que o aumento gradativo dessas enzimas demonstra que quanto mais intensa a atividade, mais as concentrações dessas enzimas são incrementadas. A GGT é um marcador sérico de doenças do sistema hepatobiliar (KANEKO

et al., 2008) e de acordo com Barros Filho (1995), os valores de referência para fêmeas Nelore no Brasil variam entre 9,77 e 10,95 U/L. Os animais apresentaram valores um pouco acima do estabelecido pelo autor 30 horas antes da IA, no entanto, estavam dentro do normal nas avaliações posteriores, sendo assim, é possível afirmar que os animais não apresentavam nenhuma alteração hepática grave.

7.3.3 Perfil Energético

Na tabela 24 estão apresentados os valores das dosagens de glicose, triglicérides, colesterol, HDL, LDL e VLDL dos grupos vazio e prenhe. Para nenhuma das variáveis foi observada diferença entre os grupos.

Tabela 24 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de glicose plasmática, triglicérides, colesterol, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), séricos dos animais do grupo Vazio e Prenhe

Variável	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
Glicose (mg/dL)	74,93 $\pm$ 2,87	78,27 $\pm$ 2,51	0,450
Triglicérides (mg/dL)	19,90 $\pm$ 0,59	21,08 $\pm$ 0,48	0,054
Colesterol (mg/dL)	155,76 $\pm$ 3,55	147,63 $\pm$ 2,99	0,097
HDL (mg/dL)	88,14 $\pm$ 1,97	85,21 $\pm$ 1,65	0,240
LDL (mg/dL)	63,64 $\pm$ 2,09	58,26 $\pm$ 1,71	0,051
VLDL (mg/dL)	3,98 $\pm$ 0,11	4,21 $\pm$ 0,09	0,054

Fonte: Oliveira (2015).

Estudos indicam que baixas concentrações de glicose deprimem a atividade do sistema nervoso, reduzindo a secreção de GnRH, resultando em menor atividade ovariana (BEAL et al., 1990; FERREIRA; TORRES 1993). Essas indicações são reforçadas pelo fato de que avaliando vacas de corte, foi observado que à medida que a glicemia aumenta a fertilidade melhora enquanto que baixas concentrações de glicose reduzem as chances de prenhez (DOWNIE; GELMAN, 1976). Os grupos apresentaram valores dentro ou acima da referência sugerida por Kaneko et al. (2008) (45 a 75 mg/dL), o que indica que nenhum dos grupos apresentava

hipoglicemia e teria condições adequadas deste metabólito. Sendo assim, é possível sugerir que a falha na fertilização foi causada por outra condição que não o nível glicêmico dos animais.

Os resultados deste experimento vão de acordo aos achados de Ferreira e Torres (1992) e González, Torres e Vetromila (1993) que não encontraram relação dos níveis sanguíneos de glicose com o desempenho reprodutivo de vacas mestiças Holandês/Zebu. Os mesmos autores afirmam que a queda de glicose deve ser suficientemente severa para causar cessação da atividade ovariana. Esse fato reforça a sugestão de que, baseando-se nos níveis de glicose, os animais não deveriam ter complicações no desempenho reprodutivo.

Os grupos apresentaram concentrações semelhantes de triglicérides o que indica que a necessidade da utilização de reservas energéticas dos grupos foi equivalente já que as concentrações de triglicérides diminuem a medida que o organismo necessita de energia e que a concentração deste metabólito no sangue sempre segue a relação do que é ingerido pelo animal, menos o que é utilizado pelo organismo (HOCQUETTE; BAUCHART, 1999).

O colesterol é componente importante do ponto de vista reprodutivo já que é precursor dos hormônios sexuais esteróides (PEIXOTO; OSORIO, 2007; KANEKO et al., 2008). De acordo com Godoy et al. (2004), baixas concentrações desse metabólito no sangue diminuem sua concentração no ovário, podendo prejudicar a produção de hormônios. Tanto o grupo vazio quanto o grupo prenhe estavam dentro dos valores de referência estipulados por González et al. (1996) (80 a 260mg/dL) e apresentaram valores semelhantes entre si, o que indica que ambos os grupos tinham concentrações satisfatórias de colesterol e nenhum indício de falha na produção de hormônios reprodutivos que pudesse justificar queda no desempenho reprodutivo.

Segundo Gibbons (1990), as lipoproteínas HDL, LDL e VLDL tem como função transportar o colesterol. Os grupos apresentaram concentrações semelhantes dessas lipoproteínas, o que indica que tanto o grupo vazio quanto o grupo prenhe tinha condições de realizar o transporte de colesterol.

Os resultados das dosagens de glicose, triglicérides, colesterol, HDL, LDL e VLDL em cada momento de avaliação estão apresentados na tabela 25. Houve efeito de tempo para todas as variáveis, exceto glicose e LDL.

Tabela 25 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de glicose plasmática, triglicérides, colesterol, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) séricos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24 horas após a IA)

Variável	Tempo em relação à IA (horas)			Valor de P
	-30	4	24	
Glicose (mg/dL)	74,37 $\pm$ 2,50	82,47 $\pm$ 4,07	74,15 $\pm$ 3,15	0,128
Triglicérides (mg/dL)	20,65 $\pm$ 0,52 ^b	18,35 $\pm$ 0,59 ^c	22,76 $\pm$ 0,77 ^a	<0,0001
Colesterol (mg/dL)	158,23 $\pm$ 3,62 ^a	141,11 $\pm$ 5,19 ^b	152,85 $\pm$ 2,65 ^{ab}	0,007
HDL (mg/dL)	93,29 $\pm$ 2,06 ^a	80,56 $\pm$ 2,92 ^b	84,87 $\pm$ 1,13 ^{ab}	0,0001
LDL (mg/dL)	60,98 $\pm$ 2,26	56,87 $\pm$ 2,84	63,42 $\pm$ 1,66	0,070
VLDL (mg/dL)	4,13 $\pm$ 0,10 ^b	3,67 $\pm$ 0,11 ^c	4,55 $\pm$ 0,15 ^a	<0,0001

^{a,b,c} Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Os resultados das concentrações de glicose observados neste experimento vão de acordo com as afirmações de Peixoto et al. (2010), que afirmam que a concentração de glicose é relativamente constante no organismo animal e também corroboram as afirmações de Kenny et al. (2002) que citam que essa estabilidade se mantém, mesmo em diferentes fases do ciclo estral. No entanto, vale ressaltar que 4 horas após a IA os valores de glicose estavam acima do referido por Barros filho (1995) (45 e 75 mg/dL). Diversos eventos como o estresse (GRUMMER, 1995; MENDES et al., 2005), quantidade de carboidratos ingerida (MENDES et al., 2005), exercício físico (BARBOSA; ANDRADE, 2008), condicionamento (DIMAS; SOHLER, 2008; PENG et al., 2010), preservação e transporte da amostra biológica até o momento da dosagem podem causar alterações nos valores de glicose (SOCIEADE, 2005). Com inúmeros fatores que podem afetar os resultados e trabalhando com animais a campo em regime extensivo que não estão acostumados ao manejo, é difícil determinar quais desses fatores exerceram efeito sobre as dosagens desse metabólito.

Com relação às concentrações de triglicérides, 4 horas após a IA foi notada uma queda e, 24 horas após a IA, um pico. Uma das funções do triglicérides no organismo é o estoque e reserva de energia (KANEKO et al., 2008) e sua quantidade sérica segue a relação do que é ingerido pelo animal, menos o que é utilizado pelo organismo (HOCQUETTE; BAUCHART, 1999). Sabe-se que as atividades reprodutivas requerem grande demanda energética. Se os valores de triglicérides são mais baixos 4 horas após a IA, é possível sugerir que na fase de estro os animais gastaram mais energia do que em outras fases, possivelmente pelas atividades do sistema reprodutivo e também pela movimentação mais intensa e comportamento de monta que faz parte das características das fêmeas bovinas em cio (NÄÄS et al., 2008).

As concentrações de colesterol e HDL apresentaram comportamentos semelhantes, de forma que os valores dessas variáveis apresentaram uma queda 4 horas após a IA.

Em todos os momentos de avaliação a concentração de colesterol estava dentro dos parâmetros estabelecidos para bovinos (80 e 260mg/dL) (GONZÁLEZ et al., 1996). A variação observada de acordo com o tempo pode ter ocorrido pelo fato de que a origem do colesterol, além de endógena, pode também ser exógena, por via alimentar (KANEKO et al., 2008).

O colesterol circula no plasma ligado às lipoproteínas (KANEKO et al., 2008). Essa afirmação vai de encontro aos resultados das dosagens de HDL em cada momento de avaliação, que apresentou o mesmo comportamento das dosagens de colesterol, indicando que o aumento e diminuição das concentrações desses dois metabólitos se acompanham. No entanto, vale ressaltar que as mesmas alterações não foram observadas para LDL, que também atua carreando colesterol. Adicionalmente Hocquette e Bauchart, (1999) e Kaneko et al. (2008) afirmam que o transporte de triglicérides é realizado principalmente pela VLDL. Os resultados deste experimento corroboram a afirmação dos autores já que o comportamento dessa lipoproteína de acordo com o tempo e os maiores valores de VLDL do grupo prenhe 24 horas após a IA seguem o mesmo padrão de comportamento do triglicérides, indicando que o aumento e diminuição desses metabólitos acontece simultaneamente.

7.3.4 Perfil Hormonal

Os resultados das dosagens de cortisol, estradiol e progesterona dos grupos vazio e prenhe estão apresentados na tabela 26. Os grupos apresentaram valores semelhantes entre si para cortisol e estradiol, no entanto, o grupo prenhe teve maior concentração de progesterona.

Tabela 26 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de cortisol, estradiol e progesterona plasmáticos dos animais dos grupos Vazio e Prenhe

Variável	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
Cortisol (nM)	72,95 $\pm$ 3,39	83,44 $\pm$ 4,17	0,341
Estradiol (pg/mL)	3,98 $\pm$ 0,28	4,36 $\pm$ 0,29	0,774
Progesterona (ng/mL)	0,98 $\pm$ 0,12	2,30 $\pm$ 0,39	0,002

Fonte: Oliveira (2015).

Apesar de todos os animais terem sido submetidos ao mesmo protocolo de IATF e terem passado pelos mesmos procedimentos durante todo o período experimental, seria possível que animais que tivessem tido resposta exagerada ao estresse, com consequente concentração elevada de cortisol, apresentassem falhas de concepção. No entanto, os grupos apresentaram concentrações semelhantes deste hormônio que é um dos principais indicativos de estresse e pode apresentar efeitos negativos sobre a reprodução (GRECO e STABENFELDT, 1999). De acordo com Doornenbal, Tong e Murray (1988) o valor médio de cortisol para fêmeas bovinas de corte é 68,9 nM/L. Tanto o grupo prenhe quanto o grupo vazio apresentaram concentrações maiores do que o estabelecido como referência por esses autores, indicando que esse aumento não foi suficiente para influenciar as taxas de prenhez, já que o grupo prenhe obteve sucesso na fertilização. É importante ressaltar que este experimento foi realizado em fazenda comercial com animais de corte. Esses animais não estavam acostumados à manipulação constante, o que pode ter sido a causa para os níveis de cortisol estarem acima dos valores de referência.

Perry et al. (2014) observaram que vacas que mostram sinais de cio apresentam concentrações de estradiol maiores (12,8 pg/mL) do que as que tem cio silencioso (6,2 pg/mL) e observaram também que a taxa de prenhez em animais que demonstram cio é maior quando comparada aos que não demonstram. Nesse contexto, seria possível que animais do grupo vazio apresentassem menor concentração de estradiol que o grupo prenhe, porém essa diferença não foi observada neste estudo. Mesmo com essa igualdade entre os grupos, vale ressaltar que o grupo vazio apresentou concentrações de estradiol quase 1 pg/ml abaixo dos valores de referência estabelecido pelos autores. Essa alteração pode ter prejudicado a qualidade do oócito, bem como o transporte dos gametas devido às alterações que os baixos níveis de estradiol podem ocasionar na quantidade e qualidade de muco e na contratilidade uterina e de oviduto. No entanto, para comprovar essa hipótese, análises mais minuciosas da composição do fluido folicular, das secreções reprodutivas e da contratilidade dos órgãos do aparelho reprodutor da fêmea deveriam ter sido feitas.

Yavas e Walton (2000) sugerem que, em vacas lactantes, baixas concentrações de progesterona durante a fase de crescimento folicular permitem aumento na pulsatilidade de LH, ocasionando maior crescimento do folículo dominante e, conseqüentemente, maior produção de estradiol, que poderia melhorar a qualidade do oócito e favorecer o transporte de gametas, auxiliando a fertilização. Os autores afirmam que o ideal é manter concentrações “subluteias”, ou seja, concentrações abaixo do que o corpo luteo produziria. De acordo com Wise et al. (1982), os valores máximos de progesterona são atingidos ao redor de 10 dias após a ovulação

quando se observa valor próximo a 7,5 ng/mL (VIANA et al., 1999). O grupo prenhe apresentou concentração média de progesterona ao redos de 2,30 ng/mL, no entanto, esse valor engloba as dosagens realizadas em todos os períodos de ovulação. Observando-se a tabela 73 do apêndice C, nota-se que os grupos apresentaram concentrações semelhantes de progesterona no início do experimento e que só apresentaram concentrações diferentes desse hormônio, 24 horas após a IA. Esses valores mais altos podem ter ocorrido pelo fato de ter havido falha na ovulação de alguns animais do grupo vazio e, conseqüentemente, não houve formação do corpo luteo e produção de progesterona. No entanto, para confirmar esse fato, a verificação da ovulação dos animais deveria ter sido realizada.

Os resultados das dosagens de cortisol, estradiol e progesterona em cada momento de avaliação estão apresentados na tabela 27. Todos os hormônios tiveram variações de acordo com o período de avaliação.

O pico de cortisol foi notado 24 horas após a IA e valores mais baixos foram observados 30 horas antes da IA e 4 horas após a IA, sendo esses dois últimos semelhantes entre si.

Para estradiol, o pico apareceu 4 horas após a IA. 30 horas antes da IA e 24 horas após a IA, os resultados foram mais baixos e semelhantes entre si.

Já com relação à progesterona, resultados mais altos e semelhantes foram notados 30 horas antes da IA e 4 horas após a IA. Os resultados mais baixos para este hormônio foram observados 24 horas após a IA.

Tabela 27 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de cortisol, estradiol e progesterona plasmáticos de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Variável	Tempo em relação à IA (horas)			Valor de P
	-30	4	24	
Cortisol (nM)	59,68 $\pm$ 4,81 ^b	59,17 $\pm$ 6,96 ^b	90,91 $\pm$ 3,17 ^a	<0,0001
Estradiol (pg/mL)	2,92 $\pm$ 0,60 ^b	5,88 $\pm$ 0,66 ^a	4,10 $\pm$ 0,14 ^b	<0,0001
Progesterona (ng/mL)	3,83 $\pm$ 0,92 ^a	2,09 $\pm$ 0,48 ^b	0,84 $\pm$ 0,04 ^b	<0,0001

^{a,b}Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

É observado o aumento das concentrações de cortisol 24 horas após a IA, o que indica que as atividades realizadas durante o experimento foram capazes de aumentar o estresse nos animais com conseqüente aumento deste hormônio que está envolvido na resposta ao estresse (GRECO; STABENFELDT, 1999). Nota-se que, de 24 horas após a IA, os animais apresentam

concentrações de cortisol acima do considerado normal (68,9 nM/L) (DOORNENBAL; TONG E MURRAY, 1988). Os animais utilizados neste estudo são animais de corte, de propriedade comercial. Esses animais tem comportamento mais arreado e não estavam acostumados à manipulação constante, fato que faz com que os procedimentos sejam ainda mais estressantes.

Para estradiol 4 horas após a IA observa-se o pico, provavelmente causado pela aplicação de 1 mg de benzoato de estradiol e pela produção de estradiol na fase folicular dos animais. 24 horas após a IA, é possível observar uma queda deste hormônio, já que ocorreu a ovulação e já não há mais a produção de estrógeno pelo folículo dominante. As avaliações realizadas neste experimento foram feitas muito próximas à fase de estro dos animais e foi possível notar que no pico de estradiol os animais apresentaram concentrações muito próximas aos valores de referência para este hormônio (6,2 e 12, 8 pg/mL) (CHENAULT et al., 1975)

Com relação à progesterona, os valores menores observados 30 horas antes da IA são provavelmente suportados pelo implante de progestágeno e por algum eventual corpo lúteo que poderia estar presente em alguns dos animais. Com a retirada deste implante e com a ação luteolítica do cloprostenol sódico aplicado, os valores de progesterona caem até atingirem níveis basais, ou seja, menor que 1 ng/mL (WISE et al., 1982), 24 horas após a IA.

7.3.5 Proteínograma/Proteínas de Fase Aguda

Os resultados das dosagens de albumina e proteína total dos grupos vazio e prenhe estão apresentados na tabela 28. Os grupos apresentaram valores semelhantes entre si para todas as variáveis.

Tabela 28 - Médias $\pm$ erro padrão das médias dos valores de albumina e proteína total séricos dos animais dos grupos Vazio e Prenhe

Variável	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
Albumina (g/dL)	3,12 $\pm$ 0,02	3,16 $\pm$ 0,01	0,120
Proteínas Totais (mg/dL)	7,36 $\pm$ 0,06	7,38 $\pm$ 0,05	0,364

Fonte: Oliveira (2015).

Tendo em vista a reação inflamatória no útero causada pela deposição do sêmen, seria possível que a falha na fertilização fosse decorrente de uma resposta inflamatória local exacerbada que retardaria o reestabelecimento das condições uterinas para o recebimento do embrião. Essa reação seria caracterizada pela diminuição das concentrações de albumina e aumento das concentrações das proteínas totais devidos às características das PFAs negativas e positivas. No entanto, os grupos apresentaram valores semelhantes tanto de albumina quanto de proteína total, indicando que ambos estavam sob as mesmas condições sistêmicas.

Além disso, estudos realizados por Gregory e Siqueira (1983) relatam que vacas com teores de albumina $\geq 2,8$ g/dL apresentam maiores taxas de prenhes (78%) do que vacas com teores reduzidos (50%). Adicionalmente Payne e Payne (1987) afirmam que os níveis de albumina são positivamente relacionados com o desempenho reprodutivo. Os resultados deste experimento contestam a afirmação dos autores já que ambos os grupos apresentavam concentrações de albumina acima do referido, e mesmo assim, somente uma parte dos animais apresentou desempenho reprodutivo satisfatório.

Os resultados das dosagens de albumina e proteína total em cada momento de avaliação estão apresentados na tabela 29.

As concentrações de albumina e proteína total apresentaram um comportamento crescente de acordo com os períodos de avaliação, sendo que para albumina os valores mais baixos foram notados 30 horas antes da IA e os mais altos 4 e 24 horas após a IA. Já para as proteínas totais, todos os períodos de avaliação apresentaram valores diferentes entre si, sendo que os mais baixos foram notados 30 horas antes da IA e os mais altos 24 horas após a IA.

Tabela 29 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de albumina e proteína total séricas de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Variável	Tempo em relação à IA (horas)			Valor de P
	-30	4	24	
Albumina (g/dL)	3,05 $\pm$ 0,02 ^b	3,16 $\pm$ 0,02 ^a	3,22 $\pm$ 0,01 ^a	<0,0001
Proteína total (mg/dL)	7,05 $\pm$ 0,07 ^c	7,37 $\pm$ 0,06 ^b	7,72 $\pm$ 0,04 ^a	<0,0001

^{a,b,c} Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística no tempo.

Fonte: Oliveira (2015).

Tendo em vista as características da albumina como PFA negativa (CERÓN et al., 2005; CALAZANS et al.; 2009) e todos os procedimentos realizados durante o experimento como injeções intramusculares, dispositivo auricular de progesterona, passagens pelo tronco de

contenção e IA, esperava-se que as concentrações de albumina diminuíssem após esses procedimentos já que em situações de injúria tecidual e traumas as concentrações PFAs são alteradas (GRUYS et al., 2005; CERÓN et al., 2005; JAIN; GAUTAM; NASEEM, 2011).

Além do seu papel como PFA negativa, Wittwer et al. (1987) citam que a função da albumina está relacionada com o transporte de substâncias pelo fato de ter capacidade de se ligar com uma série de compostos. Os mesmos autores ainda citam que ruminantes apresentam baixa velocidade de síntese e degradação dessa proteína e por esta razão é necessário um longo período para detectar mudanças significativas nas concentrações de albumina. Mais uma vez, os resultados encontrados neste experimento contrariam a literatura, já que em curto espaço de tempo foi possível observar alteração das concentrações desta proteína.

Pelo fato de as proteínas totais englobarem todas as proteínas circulantes, inclusive as PFAs positivas, o aumento das concentrações deste metabólito era esperado depois dos procedimentos já que segundo Cerón et al. (2005) a alteração das proteínas de fase aguda se desenvolve rapidamente após qualquer lesão tecidual com o objetivo de reestabelecer a homeostase e remover a causa de qualquer desequilíbrio. No entanto, diversos componentes que não foram mensurados neste experimento podem ter influenciado a concentração das proteínas totais, já que de acordo com Duncan et al. (1982), elas estão relacionadas a funções como o transporte de substâncias e hormônios, manutenção do equilíbrio ácido básico, equilíbrio osmótico e da viscosidade do sangue.

7.3.6 Hemodinâmica uterina

Os resultados de EV dos grupos vazio e prenhe estão apresentados na tabela 30. Não foi observada diferença entre os grupos de animais que emprenharam e os que ficaram vazios.

Tabela 30 - Médias $\pm$ erro padrão das médias do escore de vascularização (EV) dos animais dos grupos Prenhe e Vazio

Variável	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
EV (0 a 4)	2,39 $\pm$ 0,05	2,29 $\pm$ 0,05	0,444

Fonte: Oliveira (2015).

Os resultados do RI dos grupos vazio e prenhe em cada momento de avaliação estão apresentados na tabela 31.

Tabela 31 - Médias $\pm$ erro padrão das médias do índice de resistência da artéria uterina (RI) (0 a 1) dos grupos vazio e prenhe de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	0,73 $\pm$ 0,02 ^A	0,76 $\pm$ 0,02 ^A	0,324
4	0,64 $\pm$ 0,01 ^B	0,63 $\pm$ 0,01 ^B	0,641
24	0,70 $\pm$ 0,01 ^{AB}	0,64 $\pm$ 0,01 ^B	0,001
Valor de P	0,049	<0,0001	

^{A,B} Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística

Fonte: Oliveira (2015).

Os animais apresentaram vascularização semelhante 30 horas antes da IA e 4 horas após a IA, no entanto, 24 horas após a IA o grupo prenhe apresentou maior vascularização, evidenciada pelo menor valor de RI. Com relação às alterações no decorrer dos períodos de avaliação, os grupos se comportam de maneira semelhante, de forma que a menor vascularização, evidenciada pelos maiores valores de RI, foi observada 30 horas antes da IA e a maior vascularização, evidenciada pelos menores valores de RI, foi notada 4 horas após a IA.

Estudos realizados em éguas por Bollwein et al. (2004) demonstram que durante as 10 primeiras semanas de gestação ocorre diminuição do RI da artéria uterina. Redução desse índice também foi notada em vacas durante as 36 primeiras semanas de gestação em estudos feitos por Bollwein et al. (2002) e Panarace et al. (2006). Neste experimento os animais foram avaliados de 30 horas antes da IA até 24 horas após a IA. Sendo assim, não seria possível comparar os resultados com os relatos desses autores, já que em vacas, o embrião encontra-se na ampola até dois dias após a fertilização, logo em seguida entra no istmo e somente 3,5 dias após a fertilização chega no útero (Kölle et al. 2009). O que este estudo avalia, de forma inovadora, é a vascularização uterina apresentada antes da concepção, em animais que emprenharam ou não, permitindo avaliar se diferenças nos padrões vasculares do útero poderiam influenciar o sucesso da fertilização ou manutenção da gestação. Honnens et al. (2008a) e Honnens et al. (2008b) utilizaram a ultrassonografia Doppler para avaliar artérias uterinas e ovarianas em vacas observando a resposta ao tratamento com gonadotrofina coriônica equina em programas de superovulação e notaram um aumento no volume do fluxo sanguíneo caracterizado pela redução

do índice de pulsatilidade (IP). Os autores afirmam que essa redução evidencia a eficácia da estimulação ovariana o que indica que a maior vascularização dos órgãos reprodutivos pode trazer melhoras para as funções desses órgãos como melhor qualidade na produção hormonal e adequação do útero para receber o embrião. Além disso, achados dos estudos de Oliveira et al. (2014b) indicam que após a IA ocorre aumento do fluxo sanguíneo do útero. Os autores avaliam que as mudanças que ocorrem no fluxo sanguíneo após a IA podem ser decorrentes da inflamação uterina causada pela deposição do sêmen no trato reprodutivo já que as células polimorfonucleadas que atuam na resposta inflamatória são transportadas pelo sangue. Sendo assim, era esperado que a vascularização uterina de animais prenhes fosse maior quando comparadas a animais que ficaram vazios. O aumento da vascularização indicaria que o útero teve sua condição reestabelecida para a chegada do embrião. O aumento da vascularização no grupo prenhe não pode ser evidenciado pela avaliação do escore de vascularização, no entanto, os menores valores de RI observados no grupo prenhe 24 horas após IA substanciam essa hipótese. O fato de o modo espectral ser capaz de detectar essa alteração e o modo color Doppler não, demonstra que a ferramenta de avaliação subjetiva dos filmes gravados durante as avaliações pode ser menos sensível que a o modo espectral que fornece valores exatos de índices relacionados com a vascularização (GINTHER; UTT, 2004).

Os resultados dos valores de EV de acordo com períodos de avaliação estão apresentados na tabela 32.

Tabela 32 – Médias $\pm$ erro padrão das médias do escore de vascularização (EV) dos animais de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Variável	Tempo em relação à IA (horas)			Valor de P
	-30	4	24	
EV (0 a 4)	2,07 $\pm$ 0,07 ^c	2,60 $\pm$ 0,07 ^a	2,35 $\pm$ 0,05 ^b	0,0001

^{a,b,c} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Analisando a tabela 31 e a 32 é possível notar que para ambas as características, foi observado efeito de tempo, sendo que a vascularização uterina foi mais intensa quatro horas após a IA, o que é indicado pelos menores valores de RI e maiores valores de EV. Resultados semelhantes foram encontrados por Köster et al. (2001). O grupo, entretanto, avaliou a vascularização do ovário de cadelas e observou mudança no padrão vascular durante as fases do ciclo estral com aumento da vascularização no pró-estro e período pré-ovulatório, com

declínio de PI e RI. Estudos realizados por Oliveira et al. (2014a) e Oliveira et al. (2014b) demonstraram que a vascularização uterina é alterada durante o clico estral e após a IA em bovinos. Os autores sugerem que, além da resposta inflamatória causada pela deposição do sêmen que é capaz de alterar a hemodinâmica, os hormônios reprodutivos (estrógeno e progesterona) poderiam também afetar os dados de perfusão sanguínea, no entanto, o grupo não dispunha dos resultados das dosagens hormonais para confirmar essa sugestão. Neste experimento, as dosagens hormonais foram realizadas e correlações foram observadas entre a concentração hormonal e os dados de ultrassonografia Doppler, indicando que, além da resposta inflamatória, o estrógeno circulante é capaz de aumentar o fluxo sanguíneo do útero, enquanto que a progesterona é capaz de diminuir essa perfusão.

7.4 CONCLUSÃO

A falha na concepção após a IA, neste estudo, não está relacionada, com os perfis renal, hepático, energético, hormonal e protéinograma/proteínas de fase aguda. Adicionalmente, não há relação entre a hemodinâmica uterina e a fertilidade em vacas.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, C. A.; ANDRADE, C. T. Interferência do ácido ascórbico na dosagem glicêmica. **Ciências da Saúde**, v.6, p.121-130, 2008.

BARBOSA, C. C.; SOUZA, M. B.; SCALERCIO, S. R. R. A.; SILVA, T. F. P.; DOMINGUES, S. F. S.; SILVA, L. D. M. Ovarian and uterine periovulatory Doppler ultrasonography in bitches. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, p.1144-1150, 2013.

BARROS FILHO, I. R. **Contribuição ao estudo da bioquímica clínica em zebuínos da raça Nelore (*Bos indicus*, Linnaeus 1758) criados no estado de São Paulo**. 1995. 133 f. Dissertação (mestrado em ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

BARUI, A.; BATASYAL, S.; GHOSH, S.; SAHA, D.; CHATTOPADHYAY, S. Plasma mineral profiles and hormonal activities of normal cycling and repeat breeding crossbred cows: a comparative study. **Veterinary World**, v.8, p. 42-45, 2015.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82/83, p.479-486, 2004.

BEAL, W. E., NOTTER, D. R., AKERS, R. M. Techniques for estimation of milk yield in beef cows and relationships of milk yield to calf weight gain and postpartum reproduction. **Journal of Animal Science**, v.68, p.937-943, 1990.

BLOWEY, R.W., WOOD, D. W., DAVIS, J. R. A nutritional monitoring system for dairy herds based on blood glucose, urea and albumin levels. **The Veterinary Record**, v. 30, p. 691-696, 1973.

BOLLWEIN, H; BAUMGARTNER, U.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. **Theriogenology**, v.57, p.2053-2061, 2002.

BOLLWEIN, H.; WEBER, F.; WOSCHEE, I.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine and umbilical blood flow during pregnancy in mares. **Theriogenology**, v. 61, n. 2-3, p. 499-509, 2004.

BOLLWEIN, H.; MEYER, H. H.; MAIERL, J.; WEBER, F.; BAUMGARTNER, U.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. **Theriogenology**, v. 57, n. 8, p. 2053-2061, 2000.

BOUDA, J.; DVORAK, V.; MINKSOVA, E.; DVORAK, R. The activities of got, gamma-gt, alkaline phosphatase in blood plasma of cows and their calves fed from buckets. **Acta Veterinary Brno**, v. 49, p. 193-198, 1980.

BUTLER, W. R., CALAMAN, J. J., BEAM, S. W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**. v. 74, p. 858-865, 1996.

CALAZANS, S. G.; DALECK, C. R.; FAGLIARI, J. J.; REPETTI, C. F.; DE NARDI, A. B.; CASTRO, J. H. T.; FERNANDES, S. C.; CÉSAR, J. R. F.; RODIGHERI, S. M. Proteinograma sérico de cães sadios e com linfoma obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1044-1048, 2009.

CARROL, D. J., BARTON, B. A., ANDERSON, G. W., GRINDLE, B. P. Influence of dietary crude protein intake on urea-nitrogen and ammonia concentration of plasma, ruminal and vaginal fluids of dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 65, p. 502, 1987.

CELEGHINI, E. C. C.; ARRUDA, R. P.; ANDRADE, A. F. C.; NASCIMENTO, J.; RAPHAEL, C. F.; RODRIGUES, P. H. M. Effects that bovine sperm cryopreservation using two different extenders has on sperm membranes and chromatin. **Animal Reproduction Science**, v. 104, p. 119-131, 2008.

CELEGHINI, E. C. C.; ARRUDA, R. P.; ANDRADE, A. F. C.; NASCIMENTO, J.; RAPHAEL, C. F. Practical techniques for bovine sperm simultaneous fluorimetric assessment of plasma, acrosomal and mitochondrial membranes. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 42, p. 479-488, 2007.

CERÓN, L. L.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, p. 85-99, 2005.

CHENAULT, J. R.; THATCHER, W. W.; KALRA, P. S.; ABRAMS, R. M.; WILCOX, C. J. Transitory changes in plasma progestins, estradiol, and luteinizing hormone approaching ovulation in the bovine. **Journal of Dairy Science**, v. 58, p.709-17, 1975.

COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3 ed. São Paulo: Manole, 1984. 566p.

DIMAS, F. L.; SOHLER, P. M. Exame do líquido cefalorraquidiano: influencia da temperatura, tempo e preparo da amostra na estabilidade analítica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 44, p. 97-106, 2008.

DOORNENBAL, H.; TONG, A. K. W.; MURRAY, N. L. Reference Values of Blood Parameters in Beef Cattle of Different Ages and Stages of Lactation. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.52, p. 99-105, 1988.

DOWNIE, J. G., GELMAN, A. L. The relationship between changes in body weight, plasma glucose and fertility in beef cows. **Veterinary Research**, v. 99, p. 210-212, 1976.

ELAZAB, M. A.; BADR, A.; ESADAWY, H. A.; SHWAKI, G.; BARAKAT, T. Some biochemical changes in relation to postpartum ovarian acyclicity in dairy cows. **Indian Journal of Animal Science**, v. 63, p.1244-1247, 1993.

FERGUSON, J. D., GALLIGAN, D. T., BLANCHARD, T., REEVES, M. Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3742-3746, 1993.

FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.746-766, 1989.

FERREIRA, A. M., TORRES, C. A. A. Perda de peso corporal e cessação da atividade ovariana luteínica cíclica em vacas mestiças leiteiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, p. 411-418, 1993.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, p. 499-502, 1972.

GARCIA, A. Dosificación de la urea en la leche para predecir el balance nutricional en vacas lecheras. In: JORNADAS URUGUAYAS DE BUIATRIA, 25.; CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE BUIATRIA, 9., 1997, Paysandú. **Anais...** Paysandú, Centro Médico Veterinario de Paysandú, 1997

GIBBONS, G. F. Assembly and secretion of hepatic verylow-density lipoprotein. **Biochemistry Journal**, v.268, p.1-13, 1990.

GODOY, M. M.; ALVES, J. B.; MONTEIRO, A. L. G.; VALÈRIO FILHO, W. V. Parâmetros reprodutivo e metabólico de vacas da raça Guzerá suplementadas no pré e pós-parto. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 103-111, 2004.

GONZÁLEZ, F. H. D.; HAIDA, K. S.; ZANOLLA, N.; FIGUR, K. Influência da época do ano no perfil metabólico em gado leiteiro no sul do Brasil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v.24, p.11-24, 1996.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. 358p.

GONZÁLEZ, F. H. D.; TORRES, C. A. A.; VETROMILA, M. A. M. Efeito da condição corporal em novilhas mestiças sobre a fertilidade e os níveis sanguíneos de glicose, albumina e progesterona pós-serviço. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 22, p. 439-444, 1993.

GRECO, D.; STABENFELDT, G. H. Glândulas endócrinas e suas funções. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999. cap. 33, p. 324-352.

GREGORY, R. M., SIQUEIRA, A. J. S. Fertilidade de vacas de corte com diferentes níveis de albumina sérica em aleitamento permanente e interrompido. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 7, p. 47- 50, 1983.

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.

GRUYS, E.; TOUSSAINT, M. J. M.; NEIWOLD T. A.; KOOPMANS S. J. Acute phase reaction and acute phase proteins. **Journal Zhejiang University Science**, v. 6, p. 1045-1056, 2005.

GRUYS, E.; OBWOLO, M. J.; TOUSSAINT, M. J. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in the veterinary clinical chemistry: a review. **Veterinary bulletin journal**, v. 64, p. 1009-1018, 1994.

HONNENS, A.; NIEMANN, H.; HERZOG, K.; PAUL, V.; MEYER, H. H. D.; BOLLWEIN H. Doppler sonography of the uterine arteries during a superovulatory regime in cattle uterine blood flow in superovulated cattle. **Theriogenology**, v.70, p.859-867, 2008a.

HONNENS, A.; NIEMANN, H.; HERZOG, K.; PAUL, V.; MEYER, H. H. D.; BOLLWEIN H. Relationships between ovarian blood flow and ovarian response to eCG-treatment of dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.113, p.1-10, 2008b

HOUCQUETTE, J. F.; BAUCHART, D. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals. **Reproduction Nutrition Development**, v. 39, p. 27-48, 1999.

IGNÁCIO, F. S.; FERREIRA, J. C.; MEIRA, C. Uterine and luteal hemodynamic evaluation of the non pregnant mare. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.39, p. s117-s121, 2011.

JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute-phase proteins: as diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 3, p.118-127, 2011.

JORRITSMA, R., CESAR, M. L., HERMANS, J. T., KRUITWAGEN, C., VOS, P., KRUIP, T. A. M. Effects of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cells and developmental potential of oocytes in vitro. **Animal Reproduction Science**, v.81, p.225-235, 2004.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 7. ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916p.

KENNY, D. A.; HUMPHERSON, P. G.; LEESE, H. J.; MORRIS, D. G.; TOMOS, A. D.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M. Effect of elevated systemic concentrations of ammonia and urea on the metabolite and ionic composition of oviductal fluid in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 1797-1804, 2002.

KÖLLE S.; DUBIELZIG S.; REESE S.; WEHREND A.; KÖNIG P.; KUMMER W. Ciliary transport, gamete interaction, and effects of the early embryo in the oviduct: ex vivo analyses using a new digital videomicroscopic system in the cow. **Biology of Reproduction**, v.81, p. 267-274, 2009.

KÖSTER, K.; POULSEN NAUTRIP, C.; GÜNZEL-APEL, A. R. A Doppler ultrasonographic study of cyclic changes of ovarian perfusion in the Beagle bitch. **Reproduction**, v.122, p.453-461, 2001.

MADUREIRA, E. H.; PIMENTEL, J. R. V. IATF como ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2005.

MANCIO, A. B.; LONDONO-HERNANDEZ, F. I.; FONSECA, F. A.; ÂNGULO, L. M. Fontes lipídicas dietéticas associadas ou não à gonadotrofina coriônica humana (HCG) na função reprodutiva e no metabolismo de lípidos de novilhas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, p.163-170, 1999.

MENDES, A. R.; EZEQUIEL, J. M. B.; GALATI, R. L.; FEITOSA, J. V. Desempenho, parâmetros plasmáticos e características de carcaça de novilhos alimentados com farelo de girassol e diferentes fontes energética, em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p.962-702, 2005.

MORAIS, M. G.; RANGEL, J. M.; MADUREIRA, J. S.; SILVEIRA, A. C. Variação sazonal da bioquímica clínica de vacas aneladas sob pastejo contínuo de *Brachiaria decumbens*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, p.98-104, 2000.

NÄÄS, I. A.; QUEIROZ, M. P. G.; MOURA, D. J. M.; BRUNASSII, L. A. Dairy cows estrus estimation using predictive and quantitative methods. **Ciência Rural**, v.38, p.2383-2387, 2008.

OLIVEIRA, B. M. M.; ARRUDA, R. P.; THOMÉ, H. E.; MATURANA FILHO, M.; OLIVEIRA, G. C.; GUIMARÃES, C. F.; SILVA, L. A.; NICHI, M.; CELEGHINI, E. C. C. Artificial insemination causes uterine hemodynamic alterations in suckled beff cows subjected to an ovulations synchronization program. **Livestock Science**, v.167, p.449-454, 2014b.

PANARACE, M.; GARNIL, C.; MARFIL, M.; JAUREGUI, G.; LAGIOIA, J.; LUTHER, E.; MEDINA, M. Transrectal Doppler sonography for evaluation of uterine blood flow throughout pregnancy in 13 cows. **Theriogenology**, v.66, p.2113-2119, 2006.

PAYNE, J. M., DEW, S. M., MANSTON, R., FAULKES, M. The use of metabolic profile test in dairy herds. **The Veterinary Record**, v. 87, p. 150-158, 1970.

PAYNE, J. M.; PAYNE, S. **The metabolic profile test**. Oxford, Oxford University Press. 1987. 179 p.

PEIXOTO, L. A.O.; OSORIO, M. T. M. Perfil metabólico proteico e energético na avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, p. 299-304, 2007.

PEIXOTO, L. A. O.; OSÓRIO, M. T. M.; OSÓRIO, J. C. S.; NÖRNBERG, J. L.; PAZINI, M. Desempenho reprodutivo e metabólitos sanguíneos de ovelhas Ile de France sob

suplementação com sal orgânico ou sal comum durante a estação de monta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.191-197, 2010.

PENG, T. C.; HSU, B. G.; YANG, F. L.; CHAO, Y. F.; HARN, H. J.; LEE, R. P. Stability of blood chemistry levels in animal model research: effects of storage condition and time. **Biological Research of Nursing**, v. 11, p. 395-400, 2010.

PERRY, G. A.; SWANSON, O. L.; LARIMORE, E. L.; PERRY, B. L.; DJIRA, G. D.; CUSHMAN, R. A. Relationship of follicle size and concentrations of estradiol among cows exhibiting or not exhibiting estrus during a fixed-time AI protocol. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 48, p. 15–20, 2014.

RASOLOMBOAHANGINJATOVO, H. S.; CHORFI, Y. ;DUPRAS, R.; MILLS, L.; LEFEBVRE, R. Effect of superovulation on uterine and serum biochemical parameters and its potential association with transferable embryos in Holstein dairy cows. **Journal of Veterinary Science**, v, 15, p. 273-281, 2014.

RHOADS, M. L.; RHOADS, R. P.; GILBERT, R. O.; TOOLE, R.; BUTLER, W. R. Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 91, p. 1-10, 2006.

ROSELER, D. K., FERGUSON, J. D., SNIFFEN, C. J., HERREMA, J. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 525-534, 1993.

ROWLANDS, G. J.; MANSTON, R. decline of serum albumin concentration at calvin in dairy cows: its relationship with age and association with subsequent fertility. **Research Veterinary Science**, v. 34, p. 90-93, 1983.

ROWLANDS, G. J. A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with physiology, nutrition and disease, with particular reference to the interpretation of results. **World Review of Nutrition and Dietics**, v. 35, p. 172-235, 1980.

ROWLANDS, G. J., LITTLE, W., MANSTON, R., DEW, S. M. The effect of season on the composition of the blood of lactating and non-lactating cow as revealed from repeated metabolic profile testes on 24 dairy herds. **Journal of Agricultural Science**, v. 83, p. 27-35, 1974.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso.** [S.l.]: [s.n.], 2005. 76 p.

SPITZER, J. C. Influences of nutrition on reproduction in beef cattle. In: Morrow, D. A. (Ed.), **Current therapy in theriogenology**. 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. p. 231-234.

WILLIAMS, G. L. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. **Journal of Animal Science**, v.67, p.785-793, 1989.

WITTWER, F., REYES, J. M., OPITZ, H., CONTRERAS, P. A.; BOHMWALD, T. M. Determinación de úrea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. **Archivo Medico Veterinario**. v. 25, p. 165-172, 1993.

WITTWER, F.; BOHMWALD, H.; CONTRERAS, P. A.; PHIL, M.; FILOZA, J. Analisis de los resultados de perfiles metabolicos en rebaños lecheros en Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, n. 19, p. 35-45, 1987.

YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Induction of ovulation in postpartum suckled beff cows: A review. **Theriogenology**, v.54, p.1- 23, 2000.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo não foi possível verificar alterações sistêmicas causadas pelo processo da IA e pela qualidade do sêmen depositado no trato reprodutivo da fêmea, bem como não foi observada diferenças sistêmicas entre animais vazios e prenhes. É possível que a inflamação uterina pós-cobertura tenha efeitos locais que podem ser estudados de forma mais evidente que os efeitos sistêmicos. Além disso, observando as alterações nas concentrações dos metabólitos avaliados neste estudo, é possível sugerir que, mesmo apresentando causas semelhantes, a intensidade e o momento de cada alteração podem variar de acordo com o metabólito. Adicionalmente, pode-se afirmar que a hemodinâmica uterina é correlacionada com diversos parâmetros, no entanto, o padrão vascular do útero não mostrou relação com a fertilidade.

REFERÊNCIAS

ALGHAMDI, A. S.; FOSTER, D. N.; TROEDSSON, M. H. T. Equine seminal plasma reduces sperm binding to polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and improves the fertility of fresh semen inseminated into inflamed uteri. **Reproduction**, v. 127, p. 593-600, 2004.

ARAVE, C. W.; MILLER, R. H.; LAMB, R. C. Genetic and environmental effects on serum cholesterol of dairy cattle of various ages. **Journal of Dairy Science**, v. 58, p. 423-427, 1975.

BAIRD, D. T. Lutetotrophic control of the corpus luteum. **Animal Reproduction Science**, n.28, p.95-102, 1992.

BARBATO, K. B. G.; MARTINS, R. C. V.; RODRIGUES, M. L. G.; BRAGA, J. U.; FRANCISCHETTI, E. A.; GENELHU, V. Efeitos da redução de peso superior a 5% nos perfis hemodinâmico, metabólico e neuroendócrino de obesos grau I. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.87, p. 12-21, 2006.

BARBOSA, C. A.; ANDRADE, C. T. Interferência do ácido ascórbico na dosagem glicêmica. **Ciências da Saúde**, v.6, p.121-130, 2008.

BARBOSA, C. C.; SOUZA, M. B.; SCALERCIO, S. R. R. A.; SILVA, T. F. P.; DOMINGUES, S. F. S.; SILVA, L. D. M. Ovarian and uterine periovulatory Doppler ultrasonography in bitches. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, p.1144-1150, 2013.

BARROS FILHO, I. R. **Contribuição ao estudo da bioquímica clínica em zebuínos da raça Nelore (*Bos indicus*, Linnaeus 1758) criados no estado de São Paulo**. 1995. 133 f. Dissertação (mestrado em ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

BARUI, A.; BATABYAL, S.; GHOSH, S.; SAHA, D.; CHATTOPADHYAY, S. Plasma mineral profiles and hormonal activities of normal cycling and repeat breeding crossbred cows: a comparative study. **Veterinary World**, v.8, p. 42-45, 2015.

BARUSELLI, P. S.; BATISTA, E. O. S.; VIEIRA, L. M.; SOUZA, A. H. Relationship between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle. **Animal Reproduction**, v. 12, p. 487-497, 2015.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.205-211, 2007.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82/83, p.479-486, 2004.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, M. O. Programas de IA a tiempo fijo en bos indicus. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 4., Córdoba. **Anais...** Córdoba: Instituto de Reproduccion Animal, 2001. p. 95-116.

BEAL, W. E., NOTTER, D. R., AKERS, R. M. Techniques for estimation of milk yield in beef cows and relationships of milk yield to calf weight gain and postpartum reproduction. **Journal of Animal Science**, v.68, p.937-943, 1990.

BILATE, A. M. B. Inflamação, citocinas, proteínas de fase aguda e implicações terapêuticas. **Temas de Reumatologia Clínica**, v.8, p.47-51, 2007.

BOBE, G., YOUNG, J. W., BEITZ, D. C. Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.3105-3124, 2004.

BLOWEY, R. W., WOOD, D. W., DAVIS, J. R. A nutritional monitoring system for dairy herds based on blood glucose, urea and albumin levels. **The Veterinary Record**, v. 30, p. 691-696, 1973.

BOLLWEIN, H.; MEYER, H. H.; MAIERL, J.; WEBER, F.; BAUMGARTNER, U.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. **Theriogenology**, v. 57, p. 2053-2061, 2000.

BOLLWEIN, H.; BAUMGARTNER, U.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. **Theriogenology**, v.57, p.2053-2061, 2002.

BOLLWEIN, H.; MAYER, R.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during early pregnancy in mares. **Theriogenology**, v.60, p. 597-605, 2003.

BOLLWEIN, H.; WEBER, F.; WOSCHEE, I.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine and umbilical blood flow during pregnancy in mares. **Theriogenology**, v. 61, p. 499-509, 2004.

- BOUDA, J.; DVORAK, V.; MINKSOVA, E.; DVORAK, R. The activities of got, gamma-gt, alkaline phosphatase in blood plasma of cows and their calves fed from buckets. **Acta Veterinaria Brno**, v. 49, p. 193-198, 1980.
- BRICKNER, A. E., RASTANI, R. R., GRUMMER, R. R. Technical Note: Effect of sampling protocol on plasma non esterified fatty acid concentration in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.2219-2222, 2007.
- BURATINI, J. J. Controle endócrino e local da foliculogênese em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.190-196, 2007.
- BUTLER, W. R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v.2, p.449-457, 2000.
- BUTLER, W. R., CALAMAN, J. J., BEAM, S. W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 858-865, 1996.
- CALAZANS, S. G.; DALECK, C. R.; FAGLIARI, J. J.; REPETTI, C. F.; DE NARDI, A. B.; CASTRO, J. H. T.; FERNANDES, S. C.; CÉSAR, J. R. F.; RODIGHIERI, S. M. Proteinograma sérico de cães sadios e com linfoma obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1044-1048, 2009.
- CAMERON, R. E. B.; DYK, P. B.; HERDT, T. H.; KANEENE, J. B.; MILLER, R.; BUCHOLTZ, H. F.; LIESMAN, J. S.; VANDEHAAR, M. J.; EMERY, R. S. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.132-139, 1998.
- CARROL, D. J., BARTON, B. A., ANDERSON, G. W., GRINDLE, B. P. Influence of dietary crude protein intake on urea-nitrogen and ammonia concentration of plasma, ruminal and vaginal fluids of dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 65, p. 502, 1987.
- CARVALHO, J. B. P.; CARVALHO, N. A. T.; REIS, E. L.; NICHI, M.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* × *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v.69, p.167-175, 2008.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3. ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013. 104 p.

- CELEGHINI, E. C. C.; ANDRADE, A. F. C.; RAPHAEL, C. F.; NASCIMENTO, J.; TICIANELLI, J. S.; ARRUDA, R. P. Damage assessment of the equine sperm membranes by fluorimetric technique. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, p.1285-92, 2010.
- CELEGHINI, E. C. C.; ARRUDA, R. P.; ANDRADE, A. F. C.; NASCIMENTO, J.; RAPHAEL, C. F. Practical techniques for bovine sperm simultaneous fluorimetric assessment of plasma, acrosomal and mitochondrial membranes. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 42, p. 479-488, 2007.
- CELEGHINI, E. C. C.; ARRUDA, R. P.; ANDRADE, A. F. C.; NASCIMENTO, J.; RAPHAEL, C. F.; RODRIGUES, P. H. M. Effects that bovine sperm cryopreservation using two different extenders has on sperm membranes and chromatin. **Animal Reproduction Science**, v. 104, p. 119-131, 2008.
- CERÓN, L. L.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, p. 85-99, 2005.
- CHEMINEAU, P.; DELGADILLO, J. A. Neuroendocrinología de la reproducción en el caprino. **Revista Científica**, v.3, p.113-121, 1993.
- CHENAULT, J. R.; THATCHER, W. W.; KALRA, P. S.; ABRAMS, R. M.; WILCOX, C. J. Transitory changes in plasma progestins, estradiol, and luteinizing hormone approaching ovulation in the bovine. **Journal of Dairy Science**, v.58, p.709-17, 1975.
- CHUANG, H. Y.; CHENG, T. C.; HUANG, C. C.; LEE, M. S. Doppler ultrasound assessment of ascendant uterine artery perfusion in IVF programme. **Journal of Reproduction and Infertility**, v. 8, p. 174-180, 1999.
- COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1984. 566p.
- DIMAS, F. L.; SOHLER, P. M. Exame do liquido cefalorraquidiano: influencia da temperatura, tempo e preparo da amostra na estabilidade analítica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 44, p. 97-106, 2008.
- DELL'AQUA JUNIOR, J. A.; PAPA, F. O.; LOPES, M. D.; ALVARENGA, M. A.; MACEDO, L. P.; MELO, C. M. Modulation of acute uterine inflammatory response after artificial insemination with equine frozen semen, **Animal Reproduction Science**, v. 94, p. 270-273, 2006.

DOORNENBAL, H.; TONG, A. K. W.; MURRAY, N. L. Reference Values of Blood Parameters in Beef Cattle of Different Ages and Stages of Lactation. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.52, p. 99-105, 1988.

DOWNIE, J. G., GELMAN, A. L. The relationship between changes in body weight, plasma glucose and fertility in beef cows. **Veterinary Research**, v. 99, p. 210-212, 1976.

DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 217p.

ECKERSALL, P. D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 151, p. 577-584, 2005.

ELAZAB, M. A.; BADR, A.; ESADAWY, H. A.; SHWAKI, G.; BARAKAT, T. Some biochemical changes in relation to postpartum ovarian acyclicity in dairy cows. **Indian Journal of Animal Science**, v. 63, p.1244-1247, 1993.

FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.746-766, 1989.

FERGUSON, J. D., GALLIGAN, D. T., BLANCHARD, T., REEVES, M. Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3742-3746, 1993.

FERNANDEZ, J. M.; CROOM, W. J.; JOHNSON, A. D.; JAQUETTE, R. D.; EDENS, F. W. Subclinical ammonia toxicity in steers: effects on blood metabolite and regulatory hormone concentrations. **Journal of Animal Science**, v.66, p.3259-3266, 1988.

FERREIRA, A. M.; TORRES, C. A. A. Glicose e lipídeos totais como indicadores de “status” nutricional de bovinos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 21, p. 339-345, 1992.

FERREIRA, A. M., TORRES, C. A. A. Perda de peso corporal e cessação da atividade ovariana luteínica cíclica em vacas mestiças leiteiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 411-418, 1993.

FERREIRA, J. C.; MEIRA, C. Aplicação da ultrassonografia Doppler em programas de transferência de embriões equinos. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, 2011.

FORD, S. P.; CHENAULT, J. R. Blood flow to the corpus luteum-bearing ovary and ipsilateral uterine horn of cows during the oestrous cycle and early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 62, p. 555-562, 1981.

FORD, S. P.; CHENAULT, J. R.; ECHTERNKAMP, S. E. Uterine blood flow of cows during the estrous cycle and early pregnancy: effect of the conceptus on the uterine blood supply. **Reproduction and fertility**, v.56, p.53- 62, 1979.

FORTUNE, J. E; RIVERA, G. M.; YANG, M. Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.109-126, 2004.

FRANCISCHETTI, A. Diastolic Function and Left Atrial Volume Index in Obese With and Without Metabolic Syndrome and with Normal Left Atrial Filling Pressure through Tissue Doppler. **Revista brasileira de ecocardiografia e imagem cardiovascular**, v.24, p.41-47, 2011.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, p. 499-502, 1972.

GANHEIM, C.; ALENIUS, S.; PERSSON WALLER, K. Acute phase proteins as indicators of calf herd health. **Veterinary Journal**, v.173, p. 645-651, 2007.

GARCIA, A. Dosificación de la urea en la leche para predecir el balance nutricional en vacas lecheras. In: JORNADAS URUGUAYAS DE BUIATRIA, 25.; CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE BUIATRIA, 9., 1997, Paysandú. **Anais...** Paysandú, Centro Médico Veterinario de Paysandú, 1997

GIBBONS, G. F. Assembly and secretion of hepatic verylow-density lipoprotein. **Biochemistry Journal**, v.268, p.1-13, 1990.

GILBERT, R. O., SHIN, S. T., RABUFFO, T. S., CHANDLER, S. K. An in vitro model for the study of bovine endometrial physiology and pathophysiology. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.2377-2381, 1996.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; BEG, M. A.; KOT, K. Effect of LH on circulating oestradiol and follicular fluid factor concentrations during follicle deviation in cattle. **Reproduction**, v. 122, p. 103-110, 2001.

GINTHER, O. J.; GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O., UTT, M. D.; BEG, M. A. Luteal blood flow and progesterone production in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 99, p. 213-220, 2007.

GINTHER, O. J.; UTT, M. D. Doppler Ultrasound in Equine Reproduction: Principles, Techniques, and Potential. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, p. 516-526, 2004.

GODOY, M. M.; ALVES, J. B.; MONTEIRO, A. L. G.; VALÈRIO FILHO, W. V. Parâmetros reprodutivo e metabólico de vacas da raça Guzerá suplementadas no pré e pós-parto. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 103-111, 2004.

GONZÁLEZ, F. H. D., BARCELLOS, J. O., OSPINA, H., RIBEIRO, L. A. O. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

GONZÁLEZ, F. H. D.; HAIDA, K. S.; ZANOLLA, N.; FIGUR, K. Influência da época do ano no perfil metabólico em gado leiteiro no sul do Brasil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v.24, p.11-24, 1996.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2. ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. 358p.

GONZÁLEZ, F. H. D.; TORRES, C. A. A.; VETROMILA, M. A. M. Efeito da condição corporal em novilhas mestiças sobre a fertilidade e os níveis sanguíneos de glicose, albumina e progesterona pós-serviço. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 22, p. 439-444, 1993.

GRECO, D.; STABENFELDT, G. H. Glândulas endócrinas e suas funções. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999. cap. 33, p. 324-352.

GREGORY, R. M., SIQUEIRA, A. J. S. Fertilidade de vacas de corte com diferentes níveis de albumina sérica em aleitamento permanente e interrompido. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 7, n. 1, p. 47- 50, 1983.

GRUYS, E.; TOUSSAINT, M. J. M.; NEIWOLD T. A.; KOOPMANS S. J. Acute phase reaction and acute phase proteins. **Journal Zhejiang University Science**, v. 6, p. 1045-1056, 2005.

GRUYS, E.; OBWOLO, M. J.; TOUSSAINT, M. J. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in the veterinary clinical chemistry: a review. **Veterinary bulletin journal**, v. 64, p. 1009-1018, 1994.

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

GUNNINK, J. W. Retained placenta and leucocytic activity. Pre-partum leucocytic activity and its relationship to cesarean section and retained placenta. Influence of dilution on the chemotactic properties of cotyledon suspensions. **The Veterinary Quarterly**, v.6, p. 49-104, 1984.

HAGAWANE, S. D.; SHINDE, S. B.; RAJGURU, D. N. Haematological and Blood Biochemical Profile in Lactating Buffaloes in and around Parbhani city. **Veterinary World**, v. 2, p. 467-469, 2009.

HAMMON, D. S., et al. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.113, p.21-29, 2006.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, p. 215-230, 2000.

HERZOG, K.; BOLLWEIN, H. Applications of doppler ultrasonography in cattle reproduction. **Reproduction in Domestic Animal**, v. 42, p. 51-58, 2007.

HONNENS, A.; NIEMANN, H.; HERZOG, K.; PAUL, V.; MEYER, H. H. D.; BOLLWEIN, H. Doppler sonography of the uterine arteries during a superovulatory regime in cattle Uterine blood flow in superovulated cattle. **Theriogenology**, v.70, p.859-867, 2008a.

HONNENS, A.; NIEMANN, H.; HERZOG, K.; PAUL, V.; MEYER, H. H. D.; BOLLWEIN, H. Relationships between ovarian blood flow and ovarian response to eCG-treatment of dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.113, p.1-10, 2008b.

HOUCQUETTE, J. F.; BAUCHART, D. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals. **Reproduction Nutrition Development**, v. 39, n. 1, p. 27-48, 1999.

IGNÁCIO, F. S.; FERREIRA, J. C.; MEIRA, C. Uterine and Luteal hemodynamic evaluation of the non pregnant mare. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.39, p. s117- s121, 2011.

JAIN, N. C. Acute phase proteins. In: KIRK, R.W. **Current veterinary therapy: small animal practice**. Philadelphia: Saunders, 1989. p. 468-471.

JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute-phase proteins: as diagnostic tool. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 3, p.118-127, 2011.

JORRITSMA, R., CESAR, M. L., HERMANS, J .T., KRUITWAGEN, C., VOS, P., KRUIP, T. A. M. Effects of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cells and developmental potential of oocytes in vitro. **Animal Reproduction Science**, v.81, p.225-235, 2004.

KALAITZAKIS, E.; PANOUSIS, N.; ROUBIES, N.; GIADINIS, N.; KALDRYMIDOU, E.; GEORGIADIS, M.; KARATZIAS, H. Clinicopathological evaluation of downer dairy cows with fatty liver. **Canadian Veterinary Journal**, v.51, p.615-622, 2010.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 7. ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916p.

KAUFMANN, T. B.; DRILLICH, M.; TENHAGEN, B. A.; FORDERUNG, D.; HEUWIESER, W. Prevalence of bovine subclinical endometritis 4 h after insemination and its effects on first service conception rate. **Theriogenology**, v. 71, p. 385-391, 2009.

KENNY, D. A.; HUMPHERSON, P. G.; LEESE, H. J.; MORRIS, D. G.; TOMOS, A. D.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M. Effect of elevated systemic concentrations of ammonia and urea on the metabolite and ionic composition of oviductal fluid in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 1797-1804, 2002.

KÖLLE S.; DUBIELZIG S.; REESE S.; WEHREND A.; KÖNIG P.; KUMMER W. Ciliary transport, gamete interaction, and effects of the early embryo in the oviduct: ex vivo analyses using a new digital videomicroscopic system in the cow. **Biology of Reproduction**, v.81, p. 267-274, 2009.

KÖSTER, K.; POULSEN NAUTRIP, C.; GÜNZEL-APEL, A. R. A Doppler ultrasonographic study of cyclic changes of ovarian perfusion in the Beagle bitch. **Reproduction**, v.122, p.453-461, 2001.

KULICK, L. J.; KOT, K.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. **Theriogenology**, v.52, p. 913-921, 1999.

LAZARETH, R. A.; SILVA, T. R.; PALOMBO, V.; NAVARRO, F. Perfil antropométrico, metabólico e hemodinâmico de atletas adolescentes de 14 a 19 anos de idade. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v.4, p. 173-181, 2010.

LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Reproduction and Development**, v.56, p. s29-s35, 2010.

LEE, A. J.; TWARDOCK, A. R.; BUBAR, R. H.; HALL, J. E.; DAVIS, C. L. Blood metabolic profile: their use and relation to nutritional status of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 61, p. 1652-1670, 1978.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006. 1202 p.

MADUREIRA, E. H.; PIMENTEL, J. R. V. IATF como ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2005.

MANCIO, A. B.; LONDONO-HERNANDEZ, F. I.; FONSECA, F. A.; ÂNGULO, L. M. Fontes lipídicas dietéticas associadas ou não à gonadotrofina coriônica humana (HCG) na função reprodutiva e no metabolismo de lípideos de novilhas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, p.163-170, 1999.

MARTIN, I.; FUJIHARA, C. J.; MARQUES FILHO, W. C.; MAZIERO, R. R. D.; BISCARDE, C.E. A., FERREIRA, J. C. P. Biopsias luteais em vacas nelore. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, p. 724-730, 2010.

MEDEIROS, S. H. L.; MONTERO, E. F. S.; GOMES, L. F.; TAHA, M. O.; JUNQUEIRA, V. B. C.; SIMÕES, M. J. Evaluation of the normothermic ischemic liver injury: the role of main biliary duct occlusion and N-acetylcysteine. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias**, v. 32, p. 168-172, 2005.

MENDES, A. R.; EZEQUIEL, J. M. B.; GALATI, R. L.; FEITOSA, J. V. Desempenho, parâmetros plasmáticos e características de carcaça de novilhos alimentados com farelo de girassol e diferentes fontes energética, em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p.962-702, 2005.

MONDAL, M.; PRAKASH, B. S. Changes in plasma non-esterified fatty acids, glucose and α -amino nitrogen and their relationship with body weight and plasma growth hormone in growing buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, p. 223-228, 2004.

MOORE, D. A.; VARGA, G. BUN and MUN: urea nitrogen testing in dairy cattle. **Compendium Continuing Education Practicing Veterinary**, v.18, p.712-721, 1996.

MORAIS, M. G.; RANGEL, J. M.; MADUREIRA, J. S.; SILVEIRA, A. C. Variação sazonal da bioquímica clínica de vacas aneloradas sob pastejo contínuo de *Brachiaria decumbens*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.2, p.98-104, 2000.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **Veterinary Journal**, v.168, n. 1, p. 28-40, 2004.

NÄÄS, I. A.; QUEIROZ, M. P. G.; MOURA, D. J. M.; BRUNASSII, L. A. Dairy cows estrus estimation using predictive and quantitative methods. **Ciência Rural**, v.38, p.2383-2387, 2008.

NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. **Patologia da reprodução nos animais domésticos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 137 p.

OLIVEIRA, B. M. M.; ARRUDA, R. P.; THOMÉ, H. E.; MATURANA FILHO, M.; OLIVEIRA, G. C.; GUIMARÃES, C. F.; NICHI, M.; SILVA, L. A.; CELEGHINI, E. C. C. Fertility and uterine hemodynamic in cows after artificial insemination with semen assessed by fluorescent probes. **Theriogenology**, v.82, p. 767-772, 2014a.

OLIVEIRA, B. M. M.; ARRUDA, R. P.; THOMÉ, H. E.; MATURANA FILHO, M.; OLIVEIRA, G. C.; GUIMARÃES, C. F.; SILVA, L. A.; NICHI, M.; CELEGHINI, E. C. C. Artificial insemination causes uterine hemodynamic alterations in suckled beff cows subjected to an ovulations synchronization program. **Livestock Science**, v.167, p.449-454, 2014b.

OSPINA, P. A.; NYDAM, D.V.; STOKOL, T.; OVERTON, T. R. Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.1596-1603, 2010.

PALTRINIERI, S. The feline acute phase reaction. **Vetrinary Journal**, v. 177, p. 26-35, 2007.

PANARACE, M.; GARNIL, C.; MARFIL, M.; JAUREGUI, G.; LAGIOIA, J.; LUTHER, E.; MEDINA, M. Transrectal Doppler sonography for evaluation of uterine blood flow throughout pregnancy in 13 cows. **Theriogenology**, v.66, p.2113-2119, 2006.

PAYNE, J. M., DEW, S. M., MANSTON, R., FAULKS, M. The use of metabolic profile test in dairy herds. **The Veterinary Record**, v. 87, p. 150-158, 1970.

PAYNE, J. M.; PAYNE, S. **The metabolic profile test**. Oxford: Oxford University Press. 1987. 179 p.

PEIXOTO, L. A. O.; BRONDANI, I. L.; NÖRNBERG, J. L.; RESTLE, J.; ALVES, D. C.; PAZINI, F. M.; CORADINI, M. T.; SANTOS, C. V. M. Perfil metabólico protéico e taxas de concepção de vacas de corte mantidas em pastagem natural ou suplementadas com farelo de trigo com ou sem uréia. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1873-1877, 2006.

PEIXOTO, L. A. O.; OSORIO, M. T. M. Perfil metabólico proteico e energético na avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, n.3, p. 299-304, 2007.

PEIXOTO, L. A. O.; OSÓRIO, M. T. M.; OSÓRIO, J.C.S.; NÖRNBERG, J.L.; PAZINI, M. Desempenho reprodutivo e metabólitos sanguíneos de ovelhas Ile de France sob suplementação com sal orgânico ou sal comum durante a estação de monta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.191-197, 2010.

PENG, T. C.; HSU, B. G.; YANG, F. L.; CHAO, Y. F.; HARN, H. J.; LEE, R. P. Stability of blood chemistry levels in animal model research: effects of storage condition and time. **Biological Research of Nursing**, v. 11, p. 395-400, 2010.

PERRY, G. A.; SWANSON, O. L.; LARIMORE, E. L.; PERRY, B. L.; DJIRA, G. D.; CUSHMAN, R. A. Relationship of follicle size and concentrations of estradiol among cows exhibiting or not exhibiting estrus during a fixed-time AI protocol. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 48, p. 15-20, 2014.

PFEIFER, L. F. M.; CASTRO, N. A.; SIQUEIRA, L. G. B.; LAGOS, K. R.; BAGON, A.; SINGH, J. Timed artificial insemination in blocks: a new alternative to improve fertility in beef cows. **Reproduction, fertility and development**, v.27, p. 97, 2014.

PULLEN, D. L.; PALMQUIST, D. L.; EMERY, R. S. Effects on day of lactation and methionine hydroxy analog on incorporation of plasma fatty acids into plasma triglycerides. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 49-58, 1989.

RANCIARO, R. M.C.; MAUAD-FILHO, F. Materno-fetal hemodynamic repercussion of glucose ingestion. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.28, p. 693-699, 2006.

-
- RASOLOMBOAHANGINJATOVO, H. S.; CHORFI, Y. ;DUPRAS, R.; MILLS, L.; LEFEBVRE, R. Effect of superovulation on uterine and serum biochemical parameters and its potential association with transferable embryos in Holstein dairy cows. **Journal of Veterinary Science**, v, 15, p. 273-281, 2014.
- RENDINA, M.; VECCHIO, D.; CARVALHO, N. A. T.; ARIOTA, B.; GAZANE, M. P.; MARCHIELLO, M.; GASPARRINI, B. Metabolic profile in growing buffalo heifers fed diet with different energy content. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, p. 544-546, 2007.
- RHOADS, M. L.; RHOADS, R. P.; GILBERT, R. O.; TOOLE, R.; BUTLER, W. R. Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 91, p. 1-10, 2006.
- RIBEIRO, E. S.; LIMA, F. S.; AYRES, H.; GRECO, L. F.; BISINOTTO, R. S.; FAVORETO, M.; MARSOLA, R. S.; MONTEIRO, A. P. A.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Effect of postpartum diseases on reproduction of grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.63, 2011.
- ROBINSON, J. J. Nutrition and reproduction. **Animal Reproduction Science**, v. 42, p. 25-34, 1996.
- ROSELER, D. K., FERGUSON, J. D., SNIFFEN, C. J., HERREMA, J. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 525-534, 1993.
- ROWLANDS, G. J. A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with physiology, nutrition and disease, with particular reference to the interpretation of results. **World Review of Nutrition and Diets**, v. 35, p. 172-235, 1980.
- ROWLANDS, G. J.; MANSTON, R. decline of serum albumin concentration at calvin in dairy cows: its relationship with age and association with subsequent fertility. **Research Veterinary Science**, v. 34, p. 90-93, 1983.
- ROWLANDS, G. J., LITTLE, W., MANSTON, R., DEW, S. M. The effect of season on the composition of the blood of lactating and non-lactating cow as revealed from repeated metabolic profile testes on 24 dairy herds. **Journal of Agricultural Science**, v. 83, p. 27-35, 1974.

- ROZEBOOM, K. J. R.; TROEDSSON, M. H. T.; SHURSON, G. C.; HAWTON, J. D.; CRABO, B. G. Late estrus or metestrus insemination subsequent to estrual inseminations decreases farrowing rate and litter size in swine. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2323-2327, 1997.
- SALES, J. N. S.; CARVALHO, J. B. P.; CREPALDI, G. A.; SOARES, J. G.; GIROTTO, R. W.; MAIO, J. R. G.; SOUZA, J. C.; BARUSELLI, P. S. Effect of circulating progesterone concentration during synchronization for fixed-time artificial insemination on ovulation and fertility in *Bos indicu* (Nelore) beef cows. **Theriogenology**, v. 83, p. 1093-1100, 2015.
- SANTOS, G. P. **Eficiência alimentar, parâmetros sanguíneos e comportamento ingestivo de machos e fêmeas da raça Nelore**. 2014. 66f. Dissertação (Mestrado em produção sustentável) - Agência paulista de tecnologia dos agronegócios, Nova Odessa, 2014.
- SANTOS, R. V.; MERLINI, N. B.; SOUZA, L. P.; MACHADO, V. M. V.; PANTOJA, J. C. F.; PRESTES, N. C. Doppler ultrasonography in the renal evaluation of bitches diagnosed with pyometra before and after treatment with ovariohysterectomy. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p.635-642, 2013.
- SAUT, J. P. E.; SOUZA, R. M.; BIRGEL, D. B.; POGLIANI, F. C.; CAVALCANTE, C. Z.; MIYASHIRO, S. I.; FAGLIARI, J. J.; BIRGEL JUNIOR, E. H. Influência do puerpério sobre o proteinograma sérico de caprinos da raça Saanen obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. **Ciências Agrárias**, v.30, p.661-670, 2009.
- SCHJENKEN, J. E.; ROBERTSON, S. A. Seminal fluid and immune adaptation for pregnancy – comparative biology in mammalian species. **Reproduction in domestic animals**, v. 49, p. 27-36, 2014.
- SHARKEY, D. J.; TREMELLEN, K. P.; JASPER, M. J.; GEMZELL-DANIELSSON, K. ROBERTSON, S. A. Seminal Fluid Induces Leukocyte Recruitment and Cytokine and Chemokine mRNA Expression in the Human Cervix after Coitus. **The Journal of Immunology**, v. 188, p. 2445-2454, 2012.
- SHPIGEL, N. Y.; AVIDAR, Y.; BOGIN, E. Value of measurements of the serum activities of creatine phosphokinase, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase for predicting whether recumbent dairy cows will recover. **Veterinary Record**, v. 152, p. 773-776, 2003.
- SIQUEIRA, L. G. B.; TORRES, C. A. A.; AMORIM, L. S.; SOUZA, E. D.; CAMARGO, L. C. A.; FERNANDES, C. A. C.; VIANA, J.H.M. Interrelationships among morphology,

echotexture, and function of the bovine corpus luteum during the estrus cycle. **Animal Reproduction Science**, v.115, p.18-28, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso**. [S.l.]: [s.n.], 2005. 76 p.

SPITZER, J. C. Influences of nutrition on reproduction in beef cattle. In: Morrow, D. A. (Ed.), **Current therapy in theriogenology**. 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. p. 231-234.

STUDER, V. A.; GRUMMER, R. R.; BERTICS, S. J. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.2931-2939, 1993.

TROEDSSON, M. H. T. Therapeutic consideration for mating-induced endometritis. **Pferdeheilkunde Journal**, v. 13, p. 516-520, 1997.

TROEDSSON, M. H. T. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in mare. **Theriogenology**, v. 52, p. 461-471, 1999.

TROEDSSON, M. H. T.; CRABO, B. G.; IBRAHIM, N. M.; SCOTT, M.; ING, M. Mating-induced endometritis (MIE): mechanism, clinical importance, and consequences. **Proceedings of the American Association of Equine Practitioners**, v. 41, p. 11-12, 1995.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. New York: Ed. Cornell University Press, 1994.

VASQUEZ-AÑON, M.; BERTICS, S.; LUCK, M.; GRUMMER, R. R.; PINHEIRO, J. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites. **Journal of dairy science**, v. 77, p. 1521-1528, 1994.

VETERINARY DIAGNOSTIC LABORATORY. **Biochemistry Reference Intervals**. Corvallis, OR, 2015. Disponível em: <<http://vetmed.oregonstate.edu/diagnostic/reference>>. Acesso em: 26 ago. 2015.

VIANA, J. H. M.; FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; CAMARGO, L. S. A. Regressão luteal e dinâmica folicular após a luteólise natural ou induzida por cloprostenol em vacas da raça Gir. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, p.257-262, 1999.

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

WEBB, R.; GOSDEN, R. G., TELFER, E. E.; MOOR, R. M. Factors affecting folliculogenesis in ruminants. **Animal Science**, v.68, p.257-284, 1999.

WEBB, R.; WOAD, K. J.; ARMSTRONG, D. J. Corpus luteum function: local control mechanisms. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.277-285, 2002.

WILLIAMS, G. L. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. **Journal of Animal Science**, v.67, p.785-793, 1989.

WISE, T. H.; CATON, D.; THATCHER, W. W. Ovarian function during the estrous cycle of the cow: ovarian blood flow and progesterone release rate. **Journal of Animal Science**, v.55, p.627-637, 1982.

WITTWER, F. Empleo de los perfiles metabólicos en el diagnóstico de desbalances metabólicos nutricionales en el ganado. **Buiatria**. v. 2, p.16-20, 1995.

WITTWER, F.; BOHMWALD, H.; CONTRERAS, P. A.; PHIL, M.; FILOZA, J. Analisis de los resultados de perfiles metabolicos en rebaños lecheros en Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, n. 19, p. 35-45, 1987.

WITTWER, F., REYES, J. M., OPITZ, H., CONTRERAS, P. A.; BOHMWALD, T. M. Determinación de úrea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. **Archivo Medico Veterinario**. v. 25, p. 165-172, 1993.

YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Induction of ovulation in postpartum suckled beff cows: A review. **Theriogenology**, v.54, p.1- 23, 2000.

APÊNDICE A – TABELAS COMPLEMENTARES AO ARTIGO 1

Neste apêndice serão apresentadas as tabelas com os resultados das variáveis de cada grupo em cada momento de avaliação dos dados referentes ao artigo 1.

Tabela 33 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de uréia (mg/dL) sérica dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	18,17 $\pm$ 1,42 ^{AB}	20,77 $\pm$ 3,16 ^A	0,464
4	11,86 $\pm$ 1,25 ^C	10,91 $\pm$ 0,88 ^B	0,544
24	20,72 $\pm$ 1,57 ^A	21,49 $\pm$ 1,19 ^A	0,703
48	15,22 $\pm$ 1,14 ^{BC}	15,60 $\pm$ 1,76 ^{AB}	0,858
168	11,33 $\pm$ 0,56 ^C	12,31 $\pm$ 1,00 ^B	0,409
Valor de P	<0,0001	0,0002	

A, B, C Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 34 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de creatinina (mg/dL) sérica dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	1,52 $\pm$ 0,10 ^{AB}	1,64 $\pm$ 0,08	0,378
4	1,66 $\pm$ 0,06 ^A	1,45 $\pm$ 0,08	0,082
24	1,31 $\pm$ 0,05 ^B	1,43 $\pm$ 0,03	0,076
48	1,44 $\pm$ 0,05 ^{AB}	1,49 $\pm$ 0,06	0,538
168	1,43 $\pm$ 0,06 ^{AB}	1,42 $\pm$ 0,06	0,915
Valor de P	0,025	0,173	

A, B Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 35 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST) (U/L) sérica dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	97,33 $\pm$ 6,59	99,11 $\pm$ 4,34	0,824
4	130,66 $\pm$ 16,01	147,88 $\pm$ 19,38	0,503
24	155,00 $\pm$ 27,59	156,33 $\pm$ 22,16	0,970
48	146,11 $\pm$ 19,38	147,66 $\pm$ 17,13	0,952
168	109,66 $\pm$ 11,04	111,33 $\pm$ 7,22	0,091
Valor de P	0,133	0,058	

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 36 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de gama-glutamyl transferase (GGT) (U/L) sérica dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	2,77 $\pm$ 0,98	3,00 $\pm$ 1,11	0,883
4	5,88 $\pm$ 1,88	8,44 $\pm$ 2,26	0,397
24	4,50 $\pm$ 1,36	3,77 $\pm$ 1,54	0,733
48	6,77 $\pm$ 2,43	6,66 $\pm$ 2,50	0,975
168	6,33 $\pm$ 1,97	6,77 $\pm$ 2,63	0,894
Valor de P	0,525	0,337	

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 37 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de creatina-quinase (CK) (U/L) sérica dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	240,30 $\pm$ 65,79 ^B	158,74 $\pm$ 28,64 ^B	0,272
4	1541,66 $\pm$ 613,44 ^A	1547,97 $\pm$ 251,65 ^A	0,992
24	1760,19 $\pm$ 553,59 ^A	1373,58 $\pm$ 361,07 ^A	0,566
48	994,41 $\pm$ 285,55 ^A	860,32 $\pm$ 198,63 ^{AB}	0,705
168	180,74 $\pm$ 54,46 ^A	154,50 $\pm$ 22,56 ^B	0,662
Valor de P	0,017	<0,0001	

^{A, B} Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 38 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de glicose (mg/dl) plasmática dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	84,53 $\pm$ 7,43 ^B	84,29 $\pm$ 5,90	0,980
4	128,36 $\pm$ 16,27 ^A	98,37 $\pm$ 7,76	0,115
24	91,48 $\pm$ 6,41 ^{AB}	89,16 $\pm$ 6,93	0,808
48	93,30 $\pm$ 9,19 ^{AB}	88,92 $\pm$ 5,36	0,686
168	114,71 $\pm$ 12,86 ^{AB}	98,26 $\pm$ 9,56	0,319
Valor de P	0,041	0,568	

^{A, B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 39 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de triglicérides (mg/dL) sérico dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	39,50 $\pm$ 2,21 ^A	43,62 $\pm$ 3,51 ^A	0,336
4	27,19 $\pm$ 2,21 ^{AB}	34,36 $\pm$ 2,05 ^{AB}	0,030
24	25,57 $\pm$ 5,72 ^B	21,72 $\pm$ 2,73 ^B	0,552
48	19,45 $\pm$ 2,92 ^B	23,02 $\pm$ 2,63 ^B	0,379
168	24,41 $\pm$ 2,56 ^B	25,428 $\pm$ 2,253 ^B	0,731
Valor de P	0,002	<0,0001	

^{A, B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 40 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de colesterol (mg/dL) sérico dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	164,07 $\pm$ 11,53	196,46 $\pm$ 11,35	0,062
4	153,80 $\pm$ 12,04	195,14 $\pm$ 14,12	0,040
24	161,88 $\pm$ 12,12	199,01 $\pm$ 15,60	0,078
48	158,93 $\pm$ 12,29	185,37 $\pm$ 14,32	0,180
168	141,91 $\pm$ 11,60	176,57 $\pm$ 15,20	0,088
Valor de P	0,701	0,783	

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 41 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de lipoproteínas de alta densidade (HDL) (mg/dl) sérica dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	74,87 $\pm$ 4,42	86,27 $\pm$ 2,80	0,044
4	74,67 $\pm$ 4,23	89,75 $\pm$ 4,50	0,026
24	75,75 $\pm$ 4,90	88,76 $\pm$ 4,60	0,070
48	75,27 $\pm$ 5,03	81,37 $\pm$ 4,11	0,362
168	67,41 $\pm$ 4,49	80,94 $\pm$ 4,60	0,051
Valor de P	0,689	0,440	

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 42 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (mg/dL) sérica dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	81,41 $\pm$ 9,07	101,51 $\pm$ 8,91	0,133
4	73,69 $\pm$ 9,26	98,51 $\pm$ 10,24	0,091
24	81,01 $\pm$ 8,91	105,89 $\pm$ 11,79	0,111
48	79,76 $\pm$ 8,90	99,39 $\pm$ 10,37	0,170
168	69,61 $\pm$ 9,06	86,21 $\pm$ 12,38	0,295
Valor de P	0,854	0,764	

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 43 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) (mg/dL) sérica dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	7,90 $\pm$ 0,44 ^A	8,72 $\pm$ 0,70	0,337
4	5,43 $\pm$ 0,44 ^{AB}	6,87 $\pm$ 0,41	0,030
24	5,11 $\pm$ 1,14 ^B	4,34 $\pm$ 0,54	0,551
48	3,89 $\pm$ 0,58 ^B	4,60 $\pm$ 0,52	0,379
168	4,88 $\pm$ 0,51 ^{AB}	5,41 $\pm$ 4,34	0,315
Valor de P	0,002	0,276	

^{A, B} Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 44 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de ácido graxo não esterificado (NEFA) (mmol/L) sérico dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	0,92 $\pm$ 0,14	0,65 $\pm$ 0,07 ^{AB}	0,120
4	0,86 $\pm$ 0,18	0,69 $\pm$ 0,11 ^{AB}	0,438
24	1,08 $\pm$ 0,17	1,18 $\pm$ 0,14 ^A	0,684
48	0,92 $\pm$ 0,14	0,90 $\pm$ 0,16 ^{AB}	0,920
168	0,73 $\pm$ 0,12	0,64 $\pm$ 0,14 ^B	0,647
Valor de P	0,627	0,027	

^{A, B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 45 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de beta-hidroxibutirato (BHB) (mg/dL) sérico dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	4,96 $\pm$ 0,62 ^B	5,33 $\pm$ 0,31 ^B	0,597
4	5,28 $\pm$ 0,49 ^B	6,59 $\pm$ 0,50 ^B	0,081
24	6,87 $\pm$ 1,05 ^{AB}	7,63 $\pm$ 0,87 ^B	0,586
48	9,09 $\pm$ 1,17 ^A	10,38 $\pm$ 0,63 ^A	0,350
168	5,08 $\pm$ 0,59 ^B	5,45 $\pm$ 0,47 ^B	0,635
Valor de P	0,004	<0,0001	

^{A, B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 46 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de cortisol (nM) plasmático dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	60,88 $\pm$ 9,90	60,75 $\pm$ 10,70	0,993
4	88,05 $\pm$ 16,62	88,06 $\pm$ 18,87	0,999
24	63,88 $\pm$ 9,97	89,18 $\pm$ 30,19	0,416
48	59,21 $\pm$ 11,58	75,57 $\pm$ 21,88	0,505
168	71,54 $\pm$ 9,82	79,93 $\pm$ 16,92	0,665
Valor de P	0,425	0,870	

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 47 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de estradiol (pg/mL) plasmático dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	1,25 $\pm$ 0,36 ^B	1,15 $\pm$ 0,24 ^B	0,829
4	6,01 $\pm$ 1,80 ^A	4,67 $\pm$ 0,77 ^A	0,523
24	2,59 $\pm$ 0,92 ^{AB}	4,28 $\pm$ 0,94 ^A	0,222
48	1,59 $\pm$ 0,31 ^B	1,35 $\pm$ 0,51 ^B	0,696
168	0,81 $\pm$ 0,29 ^B	0,65 $\pm$ 0,19 ^B	0,680
Valor de P	0,002	<0,0001	

^{A, B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 48 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de progesterona (ng/mL) plasmática dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	3,16 $\pm$ 1,69 ^{AB}	3,36 $\pm$ 1,73 ^{AB}	0,936
4	0,78 $\pm$ 0,19 ^B	1,09 $\pm$ 0,29 ^B	0,376
24	0,82 $\pm$ 0,14 ^B	1,66 $\pm$ 0,55 ^B	0,144
48	0,69 $\pm$ 0,09 ^B	1,31 $\pm$ 0,48 ^B	0,201
168	5,64 $\pm$ 1,41 ^A	6,08 $\pm$ 1,42 ^A	0,831
Valor de P	0,002	0,010	

^{A, B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 49 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de albumina (g/dL) sérica dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	3,36 $\pm$ 0,06 ^A	3,46 $\pm$ 0,06 ^A	0,297
4	3,34 $\pm$ 0,06 ^A	3,36 $\pm$ 0,06 ^A	0,817
24	3,18 $\pm$ 0,11 ^{AB}	3,04 $\pm$ 0,06 ^B	0,281
48	3,15 $\pm$ 0,07 ^{AB}	3,04 $\pm$ 0,06 ^B	0,284
168	3,04 $\pm$ 0,07 ^B	3,10 $\pm$ 0,05 ^B	0,570
Valor de P	0,039	<0,0001	

^{A, B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 50 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de proteína total (mg/dL) sérica dos animais que foram inseminados (GIA) e dos animais que não passaram pelo processo de inseminação (GC) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24, 48, 168 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	GC	GIA	
-30	7,51 $\pm$ 0,16 ^B	7,46 $\pm$ 0,28 ^B	0,866
4	8,35 $\pm$ 0,09 ^A	8,23 $\pm$ 0,10 ^A	0,407
24	8,55 $\pm$ 0,09 ^A	8,25 $\pm$ 0,09 ^A	0,044
48	8,57 $\pm$ 0,11 ^A	8,13 $\pm$ 0,12 ^A	0,020
168	8,14 $\pm$ 0,07 ^A	8,29 $\pm$ 0,13 ^A	0,339
Valor de P	<0,0001	0,004	

^{A, B} Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 51 – Coeficientes de correlação (r) entre índice de resistência (RI), escore de vascularização (EV), ureia, creatinina (creat), gama-glutamil transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), creatina-quinase (CK), glicose (Glic), triglicérides (Trig), colesterol (Coolest), lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), cortisol (Cort), estradiol (Estrad), progesterona (Progest), albumina (Alb) e proteínas totais (Pt)

	RI	EV	Urea	Creat	AST	GGT	CK	Glic	Trig	Coolest	HDL	LDL	VLDL	NEFA	BHB	Cort	Estrad	Progest	Alb	Pt
RI	-	-0,26	0,08	-0,02	0,29*	-0,11	0,06	-0,04	-0,07	0,001	-0,10	0,06	-0,07	0,14	0,38*	-0,005	-0,26*	0,16	-0,18	0,15
EV		-	-0,17	-0,09	-0,05	0,06	0,05	-0,04	-0,05	0,05	0,08	0,03	-0,05	-0,10	-0,06	-0,05	0,24*	-0,05	0,04	-0,12
Urea			-	0,005	0,08	-0,13	0,06	-0,28*	-0,04	0,25*	0,17	0,27*	-0,04	0,15	0,05	-0,17	-0,08	-0,17	0,04	-0,15
Creat				-	-0,004	-0,15	0,06	0,21*	0,09	-0,18	-0,21*	-0,16	0,09	0,08	0,0001	0,16	0,10	-0,01	0,34*	-0,05
AST					-	0,06	0,80**	-0,007	-0,10	0,03	0,15	-0,009	-0,10	0,24*	0,49*	0,37*	0,21*	-0,03	0,003	0,19
GGT						-	0,06	0,02	-0,20	0,05	0,07	0,07	-0,20	-0,12	-0,03	0,15	0,07	-0,009	-0,22*	0,12
CK							-	0,04	-0,07	0,05	0,17	0,0009	-0,07	0,27*	0,33*	0,21*	0,37*	-0,21	0,19	0,26*
Glic								-	-0,01	-0,38*	-0,38*	-0,34*	-0,01	0,54**	0,01	0,55**	0,46**	0,19	0,14	0,22*
Trig									-	-0,001	-0,03	-0,13	1,00**	0,10	-0,13	-0,04	-0,03	0,08	0,34*	-0,12
Coolest										-	0,85*	0,96**	-0,001	-0,14	0,06	-0,07	0,07	-0,08	0,06	-0,08
HDL											-	0,70*	-0,03	-0,23*	-0,0008	-0,03	0,09	-0,15	0,11	-0,11
LDL												-	-0,13	-0,09	0,11	-0,08	0,06	-0,06	-0,009	-0,03
VLDL													-	0,10	-0,13	-0,04	-0,03	0,08	0,34*	-0,12
NEFA														-	0,38*	0,53**	0,47**	0,11	0,15	0,17
BHB															-	0,25*	0,10	-0,08	-0,16	0,22*
Cort																-	0,44**	0,29*	0,02	-0,003
Estrad																	-	-0,17	0,24*	0,15
Progest																		-	-0,10	-0,23*
Alb																			-	-0,04
Pt																				-

*P<0,05 **P<0,0001

Fonte: Oliveira (2015).

APÊNDICE B – TABELAS COMPLEMENTARES AO ARTIGO 2

Neste apêndice serão apresentadas as tabelas com os resultados das variáveis de cada grupo em cada momento de avaliação e da albumina com relação a cada grupo, independente de tempo e de cada tempo, independente de grupo dos dados referentes ao artigo 2.

Tabela 52 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST) (U/L) sérica dos animais inseminados com sêmen Bom (B), Médio (M) ou Regular (R) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Sêmen			Valor de P
	B	M	R	
-30	105,28 $\pm$ 2,74 ^C	103,46 $\pm$ 2,24 ^C	101,75 $\pm$ 2,61 ^C	0,623
4	121,05 $\pm$ 6,11 ^B	121,27 $\pm$ 6,11 ^B	116,76 $\pm$ 3,54 ^B	0,761
24	158,29 $\pm$ 4,06 ^A	162,18 $\pm$ 5,98 ^A	143,66 $\pm$ 4,30 ^A	0,241
Valor de P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

^{A,B,C}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 53 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de gama-glutamil transferase (GGT) (U/L) sérica dos animais inseminados com sêmen Bom (B), Médio (M) ou Regular (R) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Sêmen			Valor de P
	B	M	R	
-30	11,65 $\pm$ 0,72 ^A	10,47 $\pm$ 1,27	11,48 $\pm$ 0,83 ^A	0,646
4	8,72 $\pm$ 0,81 ^B	9,73 $\pm$ 0,79	9,59 $\pm$ 0,87 ^{AB}	0,633
24	7,41 $\pm$ 0,67 ^B	8,93 $\pm$ 0,68	7,60 $\pm$ 0,74 ^B	0,239
Valor de P	0,0002	0,524	0,003	

^{A,B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 54 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de creatina-quinase (CK) (U/L) sérica dos animais inseminados com sêmen Bom (B), Médio (M) ou Regular (R) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo			Valor de P
	B	M	R	
-30	214,56 $\pm$ 27,43 ^C	229,39 $\pm$ 29,45 ^C	202,63 $\pm$ 29,48 ^C	0,812
4	597,28 $\pm$ 129,86 ^B	451,61 $\pm$ 47,20 ^B	523,13 $\pm$ 75,94 ^B	0,546
24	1291,49 $\pm$ 97,29 ^A	1433,89 $\pm$ 81,90 ^A	1418,67 $\pm$ 139,09 ^A	0,577
Valor de P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

^{A,B,C}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 55 - Médias $\pm$ erro padrão das médias dos valores de albumina (g/dL) sérica dos animais que foram inseminados sêmen Bom (B), Médio (M) ou Regular (R)

Variável	Sêmen			Valor de P
	B	M	R	
Albumina	3,14 $\pm$ 0,01	3,25 $\pm$ 0,08	3,16 $\pm$ 0,01	0,284

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 56 – Médias $\pm$ erro padrão das médias dos valores de albumina (g/dL) sérica de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Variável	Tempo em relação à IA (horas)			Valor de P
	-30	4	24	
Albumina	3,12 $\pm$ 0,08 ^b	3,16 $\pm$ 0,01 ^{ab}	3,27 $\pm$ 0,01 ^a	<0,001

^{a,b}Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 57 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de proteína total (mg/dL) sérica dos animais inseminados com sêmen Bom (B), Médio (M) ou Regular (R) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4, 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Sêmen			Valor de P
	B	M	R	
-30	7,05 $\pm$ 0,07 ^C	7,04 $\pm$ 0,13 ^C	7,01 $\pm$ 0,07 ^C	0,973
4	7,37 $\pm$ 0,06 ^B	7,43 $\pm$ 0,07 ^B	7,30 $\pm$ 0,07 ^B	0,412
24	7,72 $\pm$ 0,04 ^A	7,81 $\pm$ 0,05 ^A	7,83 $\pm$ 0,05 ^A	0,237
Valor de P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

^{A,B,C}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 58 – Coeficientes de correlação (r) entre índice de resistência (RI), escore de vascularização (EV), ureia, creatinina (creat), gama-glutamil transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), creatina-quinase (CK), glicose (Glic), triglicérides (Trig), colesterol (Colest), lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), cortisol (Cort), estradiol (Estrad), progesterona (Progest), albumina (Alb) e proteínas totais (Pt)

	RI	EV	Urea	Creat	AST	GGT	CK	Glic	Trig	Colest	HDL	LDL	VLDL	Cort	Estrad	Progest	Alb	Pt
RI	-	-0,01	0,04	0,01	0,03	-0,001	-0,01	-0,14*	0,006	0,13*	0,10*	0,12*	0,006	-0,007	-0,15*	0,13*	-0,12*	-0,11*
EV		-	-0,13*	0,06	0,03	-0,11*	0,07	-0,005	-0,04	0,02	-0,03	0,07	-0,04	-0,12*	0,06	0,03	0,03	0,007
Urea			-	-0,02	0,15**	0,04	0,28**	0,07*	0,11*	0,18**	0,16**	0,15**	0,13**	0,16*	-0,005	-0,11*	-0,04	0,06
Creat				-	0,08*	-0,03	0,06*	0,08*	0,18*	0,10*	0,11*	0,04	0,15**	-0,02	-0,03	0,13*	0,29**	0,25**
AST					-	0,07*	0,55**	0,02	0,02	0,18**	0,14**	0,17**	0,02	0,15*	0,04	-0,11*	0,03	0,12**
GGT						-	-0,08*	-0,04	0,01	0,12**	0,11*	0,06*	-0,03	0,10*	-0,03	0,20**	0,38**	0,16**
CK							-	0,07*	0,06*	0,07*	0,05	0,07*	0,06*	0,26**	-0,07	-0,15*	0,05	0,13**
Glic								-	0,12*	-0,05	-0,04	-0,04	0,12*	0,15*	-0,04	0,10*	0,005	-0,02
Trig									-	0,23**	0,17**	0,17**	1,00**	0,08	-0,07	0,08	0,17**	0,17**
Colest										-	0,86**	0,88**	0,24**	-0,19**	-0,04	0,10*	0,007	0,003
HDL											-	0,53**	0,18**	-0,27**	-0,02	0,10*	-0,05	-0,04
LDL												-	0,18**	-0,07	-0,05	0,06	-0,01	0,005
VLDL													-	0,08	-0,07	0,05	0,19**	0,13**
Cort														-	0,003	-0,09*	0,14**	0,11*
Estrad															-	-0,04	-0,06	0,08
Progest																-	0,16*	-0,04
Alb																	-	0,60**
Pt																		-

*P<0,05 **P<0,0001

Fonte: Oliveira (2015).

APÊNDICE C – TABELAS COMPLEMENTARES AO ARTIGO 3

Neste apêndice serão apresentadas as tabelas com os resultados das variáveis de cada grupo em cada momento de avaliação e de ureia e RI com relação a cada grupo, independente de tempo e cada tempo independente do grupo, dos dados referentes ao artigo 3.

Tabela 59 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de ureia dos animais dos grupos vazio e prenhe

Variável	Grupo		Valor de P
	Vazio	Prenhe	
Uréia	19,40 $\pm$ 0,55	18,39 $\pm$ 0,43	0,306

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 60 – Médias $\pm$ erro padrão das médias de uréia de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Variável	Tempo em relação à IA (horas)			Valor de P
	-30	4	24	
Ureia	17,94 $\pm$ 0,62 ^b	17,13 $\pm$ 0,55 ^b	21,38 $\pm$ 0,52 ^a	<0,001

^{a,b,c} Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 61 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de creatinina (mg/dl) sérica dos animais dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	1,32 $\pm$ 0,03	1,38 $\pm$ 0,03	0,192
4	1,32 $\pm$ 0,04	1,42 $\pm$ 0,03	0,085
24	1,29 $\pm$ 0,01	1,42 $\pm$ 0,01	<0,0001
Valor de P	0,723	0,534	

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 62 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de aspartato aminotransferase (AST) (U/L) sérica dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	109,66 $\pm$ 5,76 ^B	102,62 $\pm$ 2,67 ^B	0,214
4	118,22 $\pm$ 4,49 ^B	122,76 $\pm$ 9,44 ^B	0,720
24	156,50 $\pm$ 4,80 ^A	159,88 $\pm$ 6,40 ^A	0,679
Valor de P	<0,0001	<0,0001	

^{A,B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 63 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de gama-glutamil transferase (GGT) (U/L) sérica dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	13,56 $\pm$ 1,23 ^A	10,49 $\pm$ 0,87	0,039
4	8,88 $\pm$ 1,44 ^B	8,63 $\pm$ 0,98	0,879
24	6,00 $\pm$ 0,79 ^B	8,66 $\pm$ 1,03	0,047
Valor de P	<0,0001	0,276	

^{A,B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 64 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de creatina-quinase (CK) (U/L) sérica dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	248,33 $\pm$ 62,99 ^B	194,05 $\pm$ 22,07 ^C	0,339
4	429,45 $\pm$ 56,24 ^B	698,43 $\pm$ 205,01 ^B	0,317
24	1212,28 $\pm$ 114,85 ^A	1361,90 $\pm$ 153,17 ^A	0,445
Valor de P	<0,0001	<0,0001	

^{A,B,C}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 65 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de glicose (mg/dl) plasmática dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	74,70 $\pm$ 3,92	74,17 $\pm$ 3,26	0,918
4	81,75 $\pm$ 6,59	82,89 $\pm$ 5,21	0,892
24	69,77 $\pm$ 4,36	78,04 $\pm$ 4,50	0,192
Valor de P	0,235	0,346	

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 66 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de triglicérides (mg/dl) sérico dos animais dos grupos Vazio e Prenhe, de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	19,38 $\pm$ 0,73 ^{AB}	21,43 $\pm$ 0,69 ^A	0,0572
4	17,84 $\pm$ 0,96 ^B	18,65 $\pm$ 0,76 ^B	0,515
24	21,97 $\pm$ 1,18 ^A	23,47 $\pm$,02 ^A	0,338
Valor de P	0,014	0,0003	

^{A,B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 67 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de colesterol (mg/dL) sérico dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	160,28 $\pm$ 5,66 ^{AB}	156,99 $\pm$ 4,72	0,661
4	141,48 $\pm$ 9,22 ^B	140,88 $\pm$ 6,24	0,955
24	163,11 $\pm$ 3,09 ^A	143,73 $\pm$ 3,85	0,0002
Valor de P	0,030	0,054	

^{A,B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 68 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de lipoproteínas de alta densidade (HDL) (mg/dl) sérica dos animais dos grupos Vazio e Prenhe, de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	93,85 $\pm$ 3,38 ^A	92,94 $\pm$ 2,61 ^A	0,832
4	80,37 $\pm$ 5,02 ^B	80,67 $\pm$ 3,59 ^B	0,959
24	89,34 $\pm$ 1,49 ^{A^B}	80,89 $\pm$ 1,52 ^B	0,0001
Valor de P	0,023	0,001	

^{A, B, C} Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 69 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (mg/dl) sérica dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	62,56 $\pm$ 3,56	60,02 $\pm$ 2,93	0,588
4	57,54 $\pm$ 5,24	56,47 $\pm$ 3,32	0,857
24	69,37 $\pm$ 1,91	58,14 $\pm$ 2,47	0,0006
Valor de P	0,065	0,687	

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 70 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) (mg/dl) sérica dos animais dos grupos Vazio e Prenhe, de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	3,87 $\pm$ 0,14 ^{AB}	4,28 $\pm$ 0,13 ^A	0,057
4	3,56 $\pm$ 0,19 ^B	3,73 $\pm$ 0,15 ^B	0,515
24	4,39 $\pm$ 0,23 ^A	4,69 $\pm$ 0,20 ^A	0,338
Valor de P	0,014	0,0003	

A, B, C Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 71 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de cortisol (nM) plasmático dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	58,52 $\pm$ 5,64 ^B	60,52 $\pm$ 7,34 ^B	0,840
4	64,27 $\pm$ 11,88 ^{AB}	56,02 $\pm$ 8,70 ^B	0,572
24	79,09 $\pm$ 3,86 ^A	102,73 $\pm$ 4,56 ^A	0,0001
Valor de P	0,035	<0,0001	

A,B Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 72 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de estradiol (pg/mL) plasmático dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	1,59 $\pm$ 0,44 ^C	3,89 $\pm$ 0,95	0,060
4	7,21 $\pm$ 1,03 ^A	5,06 $\pm$ 0,83	0,117
24	3,91 $\pm$ 0,21 ^B	4,29 $\pm$ 0,18	0,194
Valor de P	<0,0001	0,412	

A,B,C Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 73 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de progesterona (ng/mL) plasmática dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	2,07 $\pm$ 0,55 ^A	5,11 $\pm$ 1,49 ^A	0,104
4	1,34 $\pm$ 0,30 ^{AB}	2,55 $\pm$ 0,74 ^{AB}	0,226
24	0,58 $\pm$ 0,02 ^B	1,11 $\pm$ 0,08 ^B	<0,0001
Valor de P	<0,0001	0,0002	

A,B Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 74 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de albumina (g/dL) sérica dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	3,01 $\pm$ 0,04 ^B	3,08 $\pm$ 0,03 ^B	0,276
4	3,10 $\pm$ 0,05 ^{AB}	3,20 $\pm$ 0,03 ^A	0,073
24	3,23 $\pm$ 0,02 ^A	3,21 $\pm$ 0,02 ^A	0,473
Valor de P	0,0004	0,005	

^{A,B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 75 - Médias $\pm$ erro padrão das médias de proteína total (mg/dL) sérica dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	6,99 $\pm$ 0,12 ^B	7,08 $\pm$ 0,09 ^C	0,568
4	7,37 $\pm$ 0,10 ^A	7,37 $\pm$ 0,07 ^B	0,960
24	7,66 $\pm$ 0,06 ^A	7,78 $\pm$ 0,04 ^A	0,160
Valor de P	<0,0001	<0,0001	

^{A,B,C}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 76 - Médias $\pm$ erro padrão das médias do índice de resistência (RI) dos grupos prenhe e vazio

Variável	Grupo		Valor de P
	Vazio	Prenhe	
RI	0,69 $\pm$ 0,01	0,66 $\pm$ 0,01	0,435

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 77 - Médias $\pm$ erro padrão das médias do índice de resistência (RI) (0 a 1) de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Variável	Tempo em relação à IA (horas)			Valor de P
	-30	4	24	
RI	0,75 $\pm$ 0,01 ^a	0,63 $\pm$ 0,01 ^b	0,67 $\pm$ 0,01 ^b	<0,0001

Fonte: Oliveira (2015).

Tabela 78 – Médias $\pm$ erro padrão das médias dos valores do escore de vascularização (EV) (0 a 4) dos animais prenhes e vazios de acordo com cada tempo de avaliação (30 horas antes da IA, 4 e 24 horas após a IA)

Tempo em relação à IA (horas)	Grupo		Valor de P
	Vazia	Prenhe	
-30	2,25 $\pm$ 0,12 ^B	1,94 $\pm$ 0,08 ^B	0,041
4	2,70 $\pm$ 0,13 ^A	2,53 $\pm$ 0,09 ^A	0,294
24	2,35 $\pm$ 0,06 ^{AB}	2,34 $\pm$ 0,08 ^A	0,883
Valor de P	0,028	0,001	

^{A,B}Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

Fonte: Oliveira (2015).