FERNANDA JORDÃO AFFONSO

**Avaliação da dinâmica insulina-glicose, citocinas inflamatórias e
marcadores metabólicos em éguas gestantes e seus potros**

São Paulo

2019

FERNANDA JORDÃO AFFONSO

Avaliação da dinâmica insulina-glicose, citocinas inflamatórias e marcadores metabólicos em éguas gestantes e seus potros

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

Departamento:

Reprodução Animal

Orientadora:

Profa. Dra. Claudia Barbosa Fernandes

Coorientador:

Prof. Dr. Robert H. Douglas

São Paulo

2019

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

T. 3791
FMVZ

Affonso, Fernanda Jordão
Avaliação da dinâmica insulina-glicose, citocinas inflamatórias e marcadores metabólicos em éguas gestantes e seus potros / Fernanda Jordão Affonso. – 2019.
90 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2019.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Claudia Barbosa Fernandes.

Coorientador: Prof. Dr. Robert H. Douglas.

1. Equinos. 2. Gestação. 3. Síndrome Metabólica. 4. Obesidade. 5. IGF-1. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À INSULINA, METABOLISMO DE GLICOSE E CITOCINAS INFLAMATÓRIAS EM ÉQUAS GESTANTES.", protocolada sob o CEUA nº 4333100116 (a equas), sob a responsabilidade de **Cláudia Barbosa Fernandes** e equipe; Cláudia Barbosa Fernandes - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 14/04/2016.

We certify that the proposal "EVALUATION OF INSULIN RESISTANCE, GLUCOSE METABOLISM AND INFLAMMATORY CYTOKINES ON PREGNANT MARES.", utilizing 20 Equines (20 females), protocol number CEUA 4333100116 (a equas), under the responsibility of **Cláudia Barbosa Fernandes** and team; Cláudia Barbosa Fernandes - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 04/14/2016.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de 10/2016 a 10/2017

Área: **Reprodução Animal**

Origem: **Não aplicável biotério**

Espécie: **Equídeos**

sexo: **Fêmeas**

Idade: **3 a 10 anos**

N: **20**

Linhagem: **Mangalarga Paulista**

Peso: **400 a 600 kg**

Local do experimento: **Piracala, SP**

São Paulo, 29 de abril de 2019

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

São Paulo, 17 de abril de 2019

CEUA N 4333100116

Ilmo(a). Sr(a).
Responsável: Cláudia Barbosa Fernandes
Área: Reprodução Animal

Título da proposta: "AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À INSULINA, METABOLISMO DE GLICOSE E CITOCINAS INFLAMATÓRIAS EM ÉQUAS GESTANTES".

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais FMVZ (02-04-2019)

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Emenda (versão de 02/abril/2019) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Em relação ao número de animais, ao invés de 20 éguas com 3 a 10 anos, foram utilizadas 12 entre 5 e 15 anos e não houveram alterações referentes ao local do experimento, manejo, alimentação e coletas. Como houve alteração da idade das éguas, inclui novamente, com o n atual (12 animais). Além dos animais adultos já informados, avaliamos os potros nascidos das éguas. Foram 12 animais, seis nascidos em 2017 e seis nascidos em 2018. Realizamos as coletas 24 horas pós nascimento e aos 7, 14, 21 e 28 dias de vida. Realizamos pesagem dos animais com fita de pesagem, medimos com fita métrica perímetro torácico, de canela e altura e coletamos sangue com punção da veia jugular para obtenção de soro e plasma. ".

Comentário da CEUA: "Aprovado".

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traidi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: AFFONSO, Fernanda Jordão

Título: Avaliação da dinâmica insulina-glicose, citocinas inflamatórias e marcadores metabólicos em éguas gestantes e seus potros

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: _____

À minha mãe (Regina) e à minha irmã (Fabiana).

Nossa conexão não começa e nem termina aqui.

Obrigada por serem as outras partes do tripé.

Com todo meu amor, dedico.

AGRADECIMENTOS

Prof^a Claudia Fernandes (Profi), obrigada por abrir as portas pra mim, pela generosidade e pela confiança. Saiba que a liderança que você exerce gerindo pessoas é um dos meus maiores aprendizados durante esses anos de convivência e que eu certamente levarei como exemplo pra minha vida. Você é um ser humano especial, que cumpre com maestria a missão de guiar esses filhos que você adota. Obrigada por me dar essa oportunidade também! Nunca vou esquecer!

Guta Alonso (Doctors), seguirei sempre te agradecendo. Preciso repetir que você foi a primeira pessoa a acreditar em mim profissionalmente e isso certamente mudou a minha vida. Obrigada mais uma vez por abrir as portas da sua casa e me entregar de olhos fechados seus animais. Confiança não tem preço. Muito obrigada!

Ricardo Alonso (Seu Ricardo), receba onde estiver esse agradecimento por ter possibilitado a realização de mais um experimento, usando as suas éguas, algumas delas, entre as suas preferidas. A contribuição pra ciência é, com certeza, um dos seus maiores legados! Obrigada!

Alexandre Lemos (Lerzi), teria que escrever mais uma tese pra agradecer tudo! Obrigada por sempre acreditar em mim! Por mostrar meu potencial, me fazer acreditar que eu consigo, por iluminar as minhas idéias e me ajudar a enxergar o caminho. "O pesado é muito mais leve, sabendo que eu tenho você pra dividir". Te amo!

Fabiana Cantinelli (Biber) e Regina Jordão (Mamer), vocês são minha outra parte! A explicação pra tudo que eu sou, o caminho que eu trilhei até aqui! Obrigada por tanto! Estaremos juntas para todo o sempre! O amor ultrapassa dimensões! Amo vocês!

Minha família, em especial, meus avós (Yara e Fernando Jordão) e a San (Ednalva Figueiredo), muito obrigada por todo o apoio! Vocês também são parte dessa conquista.

Danilo França (Dan) e Amanda Riccio (Mandi), obrigada por manterem minha sanidade diária. Sem vocês estaria mais doida, com certeza. Vocês são a minha família também. Amo vocês.

Família Leppe e agregados, obrigada pelo apoio de sempre! Em especial pra Ana Carolina Santos (Carolzinha), Mariana Redoan, Fernanda Farias, Mayara Mateus e Alexandre Barbosa! Obrigada por dedicarem o tempo de vocês pra me ajudar! Nunca vou esquecer!

Beatriz Bringel e Robert Douglas por toda a colaboração desde o início do projeto, sempre dispostos a ajudar. Foram muito importantes nesse processo. Obrigada.

À todos os estagiários que me ajudaram durante o experimento, saibam que eu lembro da contribuição de cada um, vocês foram essenciais! Muito obrigada de coração!

À Fazenda Santa Rita e todos os funcionários, em especial o Fábio Moraes, uma pessoa especial sempre disposta a ajudar. Obrigada.

Prof Guilherme de Paula Nogueira, pela enorme ajuda com as análises, pela atenção e prontidão em nos atender. Muito obrigada.

Prof^a Carla Belli, Prof^a Camila Vannucchi e Dr^a Patrícia Brossi por todas as colaborações ao longo desse caminho. Muito obrigada.

À Clara Mori e ao Laboratório da Clínica Médica, da FMVZ-USP pela agilidade, e pronto atendimento. Fez toda diferença. Muito obrigada.

Ao Laboratório Especializado em Análises Científicas (LEAC) e à Margareth Braga e Simone Veiga pela competência e qualidade do trabalho

Pelo auxílio financeiro concedido através do processo nº 2017/05425-0, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal.

Por último, mas não menos importante, às éguas Ornela, Oriana, Suécia, Madrid, Isadora, Mariana, Grécia, Fortuna, Muralha e seus bebês. Obrigada por existirem e por permitirem a realização desse trabalho.

RESUMO

AFFONSO, F. J. **Avaliação da dinâmica insulina-glicose, citocinas inflamatórias e marcadores metabólicos em éguas gestantes e seus potros.** 90 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Os objetivos do nosso trabalho foram avaliar escore de condição corporal, dinâmicas de insulina e glicose, metabolismo de lipídeos e produção de adipocinas em éguas gestantes, a partir do dia da ovulação, a cada 55 dias de gestação, até o início da lactação (21 dias pós-parto), comparando éguas lactantes durante o início da gestação, com éguas não lactantes (Experimento 1), além de avaliar a influência da condição materna de lactante com medidas corporais, produção de adipocinas, metabolismo de lipídeos e de insulina e glicose dos potros do 1º ao 28º dia de vida. Utilizamos 12 éguas matrizes da raça Mangalarga Paulista, sendo 7 éguas não lactantes (NL, que não ficaram gestantes na estação anterior) e 5 éguas recém paridas, em lactação (L: lactantes) e seus potros (7 potros provenientes de éguas lactantes: ENL e 5 potros de éguas lactantes: EL). As avaliações e coletas de sangue das éguas foram realizadas no dia da ovulação (D0), aos 55, 110, 165, 220, 275, 330 dias de gestação (D55, D110, D165, D220, D275 e D330) e 21 dias pós-parto (D21pp) e do D1 ao D28 (D1, D7, D14, D21 e D28) nos potros. No Experimento 1, os escores de condição corporal (ECC) e escore de crista de pescoço (ECP) sofreram efeito do tempo, sendo ECC maior no D330 em comparação com D0 e D21pp, porém igual aos outros tempos de gestação, já o ECP, aumentou com o decorrer da gestação, apresentando diferença em relação ao D0, a partir do D220, voltando a se igualar no D21pp. A gordura subcutânea retroperitoneal (RET) foi menor no D21pp em comparação ao D0, D55 e D110, a do espaço intercostal (EIC) no D21pp foi menor do que o D110, porém igual aos outros tempos, que foram iguais entre si. As concentrações basais de insulina foram menores no D21pp em relação aos outros tempos, com exceção do D165. A área sob a curva de glicose (ASCg) foi maior no D275 em comparação com o D21pp. Os valores de RISQI foram maiores no D21pp do que no D55, D165 e D220. A concentração de cortisol foi maior no D55 do que no D220, 275 e 21pp. A resistina foi maior no D110 e no D165 do que no D0, D275, 330 e 21pp, já a leptina foi maior no D55, e no D110, o D110 foi igual ao D0, D220, e ao D275, porém maior que o D330 e ao D21pp. Quanto aos grupos, as L apresentaram menor ECC, GAR, EIC, insulina basal, ASCg e MIRG e maior RISQI, adiponectina e fator de necrose tumoral (TNF α). Houve interação entre grupo e tempo de gestação nas concentrações basais de glicose: entre as éguas L, não houve diferença ao longo do tempo, nas NL, as coletas D0, D55 e D110 apresentaram maiores concentrações que o D21pp, além de maiores concentrações nas éguas NL que L; na área sob a curva de insulina (ASCI): nas éguas L não houve alteração ao longo do tempo, já nas NL, a curva foi maior no D165 e D275 que no D21pp, as éguas L tiveram menor curva no D55, D110, D165, D275 e D21pp; triglicérides: nas éguas L, a concentração foi maior no D330 do que nos dias 0, 55, 110, 165 e D21pp, mas foi igual aos dias 220 e 275; nas éguas NL, não houve diferença ao longo dos tempos de gestação, já o D21pp apenas se igualou ao D0, sendo sua concentração menor do que as obtidas durante a gestação, nos tempos D0, D55, D110 e D165, as concentrações foram maiores no grupo NL do que no L; e AGNE: entre as éguas L, não houve efeito ao longo do tempo, nas NL a coleta D275 apresentou maior concentração que as do D0, D55 e D110, que por sua vez se igualaram aos outros tempos, houve maiores concentrações nas éguas NL que L nas coletas D165 e D275. No Experimento 2 nenhuma variável avaliada apresentou efeito de interação. O peso foi maior no D21 e D28 e os tempos D1, 7 e 14 diferiram entre si. A altura foi maior no D21 e D28, no D21 igual ao D14, sendo maior que o D1 e D7, que diferiram entre si. O perímetro torácico foi maior no D28. O perímetro de canela foi maior no D28 em comparação ao D1, D7 e D14. As concentrações de insulina

foram menores no D1 e iguais nos outros tempos, glicose foi menor no D28, que se igualou ao D21, sendo igual aos outros tempos. Já o triglicérides foi maior no D1 e no D7, no D14 se igualou a esses tempos e ao D21 e no D28 foi menor que os outros tempos, sendo igual ao D21. O cortisol foi maior no D1 e menor em todos os outros tempos. A IL10 foi maior no D1 e no D28. Todas as características corporais foram menores nos EL do que nos ENL. IGF-1, IL6, IL10 e TNF α foram maiores nos ENL. Como conclusão, as éguas lactantes apresentam melhor adaptação metabólica à gestação do que as éguas não lactantes, mostrando menores concentrações de insulina e glicose, maior sensibilidade à insulina e maior tolerância à glicose. Nos potros, algumas características se alteraram com o avanço da idade como insulina, glicose, triglicérides e cortisol, além da produção de IL10. Concluímos também que o *status* materno de lactante durante o terço inicial de gestação influencia o potro, refletindo em maior concentração de IGF1, IL6, IL10 e TNF α nos potros de éguas não lactantes. Observamos também que maior insulina materna se correlaciona com menor peso e altura do potro. Concluindo que o metabolismo materno durante a gestação influencia em características pós-natais do neonato até os 28 dias de vida.

Palavras-chave: Equinos. Gestação. Síndrome Metabólica. Obesidade. IGF-1

ABSTRACT

AFFONSO, FJ. **Evaluation of insulin-glucose dynamics, inflammatory cytokines and metabolic markers in pregnant mares and their foals.** 90 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

The objectives of our study were to evaluate body condition score, insulin and glucose dynamics, lipid metabolism and adipokine production in pregnant mares, starting at ovulation day and every 55 days of gestation until the beginning of lactation (21 days postpartum), comparing lactating with non-lactating mares (Experiment 1). Furthermore to evaluate the influence of lactation on body measurements, adipokine production, lipid metabolism, insulin and glucose in foals from the 1st to the 28th day of life. We used 12 Mangalarga Paulista mares, 7 non-lactating mares (NL, which were not pregnant in the previous season) and 5 lactating mares (L: lactating) and their foals (7 born from non-lactating mares: NLM, 5 from lactating mares: LM). Mares blood samples were collected on the day of ovulation (D0), at 55, 110, 165, 220, 275, 330 days of gestation (D55, D110, D165, D220, D275 and D330) and 21 days postpartum (D21pp) and from D1 to D28 (D1, D7, D14, D21 and D28) in the foals. In Experiment 1, body condition scores (BCS) and cresty neck score (CNS) were influenced by time, with higher BCS in D330 compared to D0 and D21pp, but similar to other times, ECP increased with the progression of gestation, presenting difference in relation to D0, starting from D220, returning to be equal at D21pp. Retroperitoneal subcutaneous fat (RET) was lower in D21pp compared to D0, D55 and D110, intercostal space (ICS) in D21pp was lower than D110, but similar to the other times, which were the same. Basal insulin concentrations were lower in D21pp compared to the other times, except for D165, the area under the curve of glucose (AUCg) was higher in D275 compared to D21pp, RISQI values were higher in D21pp than in D55, D165 and D220. Cortisol concentration was higher in D55 than in D220, 275 and 21pp. Resistin was higher in D110 and D165 than in D0, D275, 330 and 21pp, while leptin was higher in D55, and in D110, D110 was equal to D0, D220, and D275, but higher than D330 and D21pp. As for the groups, L presented lower BCS, RUM, CNS, basal insulin, AUCg, MIRG and higher RISQI, adiponectin and tumor necrosis factor (TNF α). There was interaction between group and time of gestation in the basal glucose concentrations: between L mares, there was no long time difference, in the NL, the D0, D55 and D110 presented higher concentrations than the D21pp, in addition to higher concentrations in the NL mares than L; in the area under the curve of insulin (AUCi): in the mares L there was no change over time, while in NL, the curve was higher in D165 and D275 than in D21pp, mares L, had a smaller curve in D55, D110, D165, D275 and D21pp; in mares L, the concentration was higher in D330 than on days 0, 55, 110, 165 and D21pp, but it was equal to days 220 and 275, in NL mares, there was no difference during times, since the D21pp level was only equal to D0, and its concentration was lower than those obtained during gestation at times D0, D55, D110 and D165, concentrations were higher in the NL group than in the L; and AGNE: between the L mares, there was no effect over time, in NL D275 presented higher concentration than those of D0, D55 and D110, which in turn were equal to the other times, there were higher concentrations in NL mares than L in samples D165 and D275. In Experiment 2 there was no interaction effect. The weight was higher in D21 and D28 and times D1, 7 and 14 differed from each other. The height was higher in D21 and D28, in D21 equal to D14, being greater than D1 and D7, which differed from each other. Thoracic perimeter was higher in D28. The perimeter of cannon bone was higher in D28 compared to D1, D7 and D14. Insulin concentrations were lower in D1 and the same at the other times, glucose was lower in D28, which was equal to D21, being equal to the other times. Triglycerides were higher in D1 and D7, in D14 it was equal to those times and in D21 and in D28 it was lower than the other times, being equal to D21. Cortisol was higher in D1 and lower

at all other times. IL10 was higher in D1 and D28. All body measurements were smaller in EL than in ENL. IGF-1, IL6, IL10 and TNF α were higher in ENL. As a conclusion, lactating mares show better metabolic adaptation to pregnancy than non-lactating mares, showing lower insulin and glucose concentrations, greater insulin sensitivity and greater glucose tolerance. In foals, some characteristics have changed with the advancement of age such as insulin, glucose, triglycerides and cortisol, in addition to the production of IL10. We conclude that maternal lactational status during the initial third of gestation influences the foal, reflecting a higher concentration of IGF1, IL6, IL10 and TNF α in foals of non - lactating mares. We also observed that higher maternal insulin correlates with lower weight and height of the foal. Concluding that maternal metabolism during pregnancy influences neonatal postnatal characteristics until 28 days of life.

Key-words: Equines. Gestation. Metabolic syndrome. Obesity. IGF-1

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias $\pm$ erros padrão do escore de condição corporal, escore de crista de pescoço e espessura de gordura subcutânea das regiões da garupa, espaço intercostal e retroperitoneal entre os grupos.....	33
Tabela 2 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de glicose (mg/dL) ao longo do tempo, entre os grupos.....	34
Tabela 3 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de insulina (μ U/mL) ao longo do tempo	34
Tabela 4 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de insulina (μ U/mL) entre os grupos....	34
Tabela 5 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de glicose (mg/dL) ao longo do tempo, aos 30, 60, 90 e 120 minutos do Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)	35
Tabela 6 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de glicose (mg/dL) ao longo do tempo, aos 30, 60, 90 e 120 minutos do Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)	35
Tabela 7 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de insulina (μ U/mL) ao longo do tempo, aos 30, 60, 90 e 120 minutos do Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)	36
Tabela 8 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de insulina (μ U/mL), entre os grupos, aos 30, 60, 90 e 120 minutos do Teste oral de tolerância à glicose	36
Tabela 9 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de insulina (μ U/mL), ao longo do tempo, entre os grupos, aos 120 minutos do TOTG	36
Tabela 10 - Médias $\pm$ erros padrão da ASCg ([mg/dL] min), ao longo do tempo	37
Tabela 11 - Médias $\pm$ erros padrão da ASCg ([mg/dL] min) entre os grupos	37
Tabela 12 - Médias $\pm$ erros padrão da ASCi (μ U/mL.min), ao longo do tempo, entre os grupos	37
Tabela 13 - Médias $\pm$ erros padrão do RISQI (μ U/mL ^{-0.5}) e MIRG ($mU_{insulina}^2/[10 \cdot L \cdot mg_{glicose}]$) ao longo do tempo	38
Tabela 14 - Médias $\pm$ erros padrão do RISQI (μ U/mL ^{-0.5}) e MIRG ($mU_{insulina}^2/[10 \cdot L \cdot mg_{glicose}]$) ao longo do tempo	38
Tabela 15 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de triglicérides (mg/dL) ao longo do tempo	39
Tabela 16 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE; mmol/dL) ao longo do tempo	39
Tabela 17 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de cortisol (μ g/dL) ao longo do tempo	39
Tabela 18 - Médias $\pm$ erros padrão do cortisol (μ g/dL) entre os grupos	40
Tabela 19 - Médias $\pm$ erros padrão das citocinas inflamatórias ao longo do tempo.....	40
Tabela 20 - Médias $\pm$ erros padrão das citocinas inflamatórias entre os grupos	41
Tabela 21 – Coeficientes de correlação entre escore de condição corporal, escore de crista de pescoço e gordura subcutânea da garupa, espaço intercostal e retroperitoneal.....	41
Tabela 22 – Coeficientes de correlação entre as leptina, adiponectina, resistina, interleucina 6, interleucina 10 e fator de necrose tumoral.....	42
Tabela 23 – Coeficientes de correlação entre escore de condição corporal, escore de crista de pescoço e gordura subcutânea da garupa, espaço intercostal e retroperitoneal, citocinas inflamatórias, triglicérides, ácidos graxos não esterificados e cortisol	42
Tabela 24 – Coeficientes de correlação entre as variáveis	43

Tabela 25 - Médias $\pm$ erros padrão das éguas dos 110 aos 330 dias de gestação.....	66
Tabela 26 - Médias $\pm$ erros padrão das mensurações ao longo do tempo	67
Tabela 27 - Médias $\pm$ erros padrão das mensurações entre os grupos.....	67
Tabela 28 - Médias $\pm$ erros padrão das análises laboratoriais ao longo do tempo	68
Tabela 29 - Médias $\pm$ erros padrão das análises laboratoriais entre os grupos.....	69
Tabela 30 - Médias $\pm$ erros padrão das citocinas inflamatórias ao longo do tempo.....	69
Tabela 31 - Médias $\pm$ erros padrão das citocinas inflamatórias entre os grupos	70
Tabela 32 - Correlação entre as variáveis neonatais.....	71
Tabela 33 - Correlação entre as variáveis maternas e neonatais	72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mensuração e imagem ultrassonográfica de gordura subcutânea da região da garupa (A e B), espaço intercostal (C e D) e retroperitoneal (E e F)	29
Figura 2 - Média e erro padrão dos escores de condição corporal e de crista de pescoço ao longo do tempo	32
Figura 3 - Média e erro padrão espessura de gordura subcutânea das regiões da garupa, espaço intercostal e retroperitoneal (cm) ao longo do tempo.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	micrograma
µU	microunidades
ADI	adiponectina
AGNE	ácidos graxos não esterificados
ASCg	área sob a curva de glicose
ASCi	área sob a curva de insulina
CAN	perímetro de canela
cm	centímetro
COR	cortisol
D0	dia da ovulação
D1	1 dia pós-parto
D110	110 dias de gestação
D14	14 dias pós-parto
D165	165 dias de gestação
D21	21 dias pós-parto
D21pp	21 dias pós-parto
D220	220 dias de gestação
D275	275 dias de gestação
D28	28 dias pós-parto
D330	330 dias de gestação
D55	55 dias de gestação
D7	7 dias pós-parto
dL	decilitro
DMG	Diabetes Mellitus Gestacional
ECC	escore de condição corporal
ECP	escore de crista de pescoço
EIC	espessura de gordura do espaço intercostal
EL	potros nascidos de éguas lactantes

ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ENL	potros nascidos de éguas não lactantes
FMVZ - USP	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
GAR	espessura de gordura da garupa
GH	hormônio do crescimento
GLI	glicose
GLI120	concentração de glicose aos 120 minutos
GLI30	concentração de glicose aos 30 minutos
GLI60	concentração de glicose aos 60 minutos
GLI90	concentração de glicose aos 90 minutos
GLUT4	transportador de glicose 4
IGF-1	fator de crescimento tipo insulina 1
IL10	interleucina 10
IL12	interleucina 12
IL1 β	interleucina 1 β
IL6	interleucina 6
INS	insulina
INS120	concentração de insulina aos 120 minutos
INS30	concentração de insulina aos 30 minutos
INS60	concentração de insulina aos 60 minutos
INS90	concentração de insulina aos 90 minutos
kcal	quilocaloria
kg	quilo
L	lactantes
LEAC	Laboratório Especializado em Análises Científicas
LEP	leptina
mg	miligrama
MHz	megahertz
MIRG	razão insulina-glicose modificada
mL	mililitro

mmol	milimol
ng	nanograma
NL	não lactantes
NRC	National Research Council
NS	não significativo
OST	Osteocalcina
P	valor de P
pg	picograma
RES	resistina
RET	espessura de gordura da região retroperitoneal
RI	resistência à insulina
RISQI	inverso da raiz quadrada da insulina
S	sul
SAS	<i>Statistical Analysis System</i>
SME	Síndrome Metabólica Equina
SP	São Paulo
TG	triglicérides
TNF α	fator de necrose tumoral
TOR	perímetro torácico
TOTG	Teste oral de tolerância à glicose
UNESP	Universidade Estadual Paulista
VLDL	very low density lipoprotein

LISTA DE SÍMBOLOS

β	beta
g	força g
$^{\circ}\text{C}$	graus Celsius
$\text{\textcircled{R}}$	marca registrada
$\sqrt{}$	raiz quadrada
$-$	menos
$\times$	vezes
$<$	menor que
$>$	maior que
$=$	igual
$\pm$	mais ou menos
$/$	por
$*$	asterisco
$\geq$	maior ou igual
$\%$	por cento
$'$	minutos
$''$	segundos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	23
1.1	OBJETIVO GERAL	25
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
2	SENSIBILIDADE À INSULINA E SUA RELAÇÃO COM CITOCINAS INFLAMATÓRIAS NA GESTAÇÃO EQUINA: UM COMPARATIVO ENTRE LACTANTES E NÃO LACTANTES.....	26
2.1	INTRODUÇÃO	26
2.2	MATERIAIS E MÉTODOS	27
2.2.1	Animais.....	27
2.2.2	Escore de condição corporal e adiposidade regional	28
2.2.3	Coletas e Análises laboratoriais.....	29
2.2.4	Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)	30
2.2.5	<i>Proxies</i>	31
2.2.6	Análise estatística	31
2.3	RESULTADOS	32
2.3.1	Escore de condição corporal e adiposidade Regional	32
2.3.2	Glicose e insulina	33
2.3.2.1	<i>Concentrações basais</i>	33
2.3.2.2	<i>Teste oral de tolerância à glicose</i>	34
2.3.2.3	<i>Área sob a curva</i>	37
2.3.2.4	<i>Proxies</i>	38
2.3.3	Análises Laboratoriais	38
2.3.4	Citocinas inflamatórias	40
2.3.5	Correlação.....	41
2.4	DISCUSSÃO	43
2.5	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS	55
3	INFLUÊNCIA DA LACTAÇÃO DURANTE A GESTAÇÃO INICIAL NA CURVA DE CRESCIMENTO, METABOLISMO E PRODUÇÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS EM POTROS.....	62
3.1	INTRODUÇÃO	62
3.2	MATERIAIS E MÉTODOS	63

3.2.1	Animais.....	64
3.2.2	Mensurações	64
3.2.3	Coletas e Análises laboratoriais.....	65
3.2.4	Análise estatística	65
3.3	RESULTADOS	66
3.3.1	Mensurações	67
3.3.2	Análises laboratoriais	68
3.3.3	Citocinas inflamatórias	69
3.3.4	Correlação.....	70
3.4	DISCUSSÃO	72
3.5	CONCLUSÃO	80
	REFERÊNCIAS	81
4	CONCLUSÕES GERAIS.....	88
	REFERÊNCIAS	88

1 INTRODUÇÃO GERAL

Durante a gestação, a mãe deve suprir não só os seus requerimentos metabólicos, mas também os do feto em desenvolvimento. Esse desafio aos mecanismos homeostáticos maternos aumenta com a idade gestacional de acordo com o aumento da demanda nutricional (FOWDEN; COMLINE; SILVER, 1984).

Em humanos, é bem conhecido que devido às adaptações hematobioquímicas da gestação, os intervalos de referência em exames laboratoriais diferem entre mulheres gestantes e não gestantes. Pensando nisso, veterinários que estejam tratando éguas prenhes ou periparturientes precisam estar cientes das alterações hematológicas e bioquímicas que ocorrem durante o parto, para evitar interpretações erradas dos resultados laboratoriais levando a diagnósticos equivocados e tratamentos injustificados ou incorretos (MARIELLA et al., 2014).

Alguns trabalhos reavaliaram parâmetros bioquímicos e hematológicos na gestação em éguas, resultando em desenvolvimento de intervalos de referência para essa condição fisiológica particular (HARVEY et al., 2005; AOKI; ISHII, 2012; SATUÉ; MONTESINOS, 2013; MARIELLA et al., 2014), entre eles, alguns avaliaram glicose basal no último mês pré-parto (AOKI; ISHII, 2012) ou durante toda a gestação (HARVEY et al., 2005). No entanto, nenhum trabalho até o momento avaliou a tolerância à glicose, a resposta insulinêmica, assim como a insulina basal ao longo da gestação, não havendo portanto valores de referência para que se possa diagnosticar uma égua gestante como resistente à insulina e/ou portadora de Diabetes Mellitus Gestacional (DMG), como ocorre em humanos.

O conceito de Síndrome Metabólica foi definido em humanos e equinos, se tratando de um conjunto de achados clínicos que incluem obesidade, dislipidemia, intolerância à glicose e hipertensão, associados com aumento no risco de doenças cardiovasculares e possivelmente diabetes mellitus tipo 2. Em equinos, é uma doença que somente foi descrita em 2002, e seus principais componentes são obesidade ou aumento da adiposidade regional, hiperinsulinemia e resistência à insulina, dislipidemia, inflamação sistêmica, alteração nas concentrações sanguíneas de adipocinas, hipertensão e associação com risco aumentado de laminite, fator que faz da Síndrome Metabólica Equina (SME) uma condição muito devastadora para os cavalos. As mudanças adaptativas da gestação são consideradas em mulheres um teste de estresse metabólico para o risco de desenvolvimento futuro de síndrome metabólica (BUTTE, 2000; JOHNSON, 2002; FRANK; 2011; GEORGE et al., 2011; ADAMS; 2012; GALANTINO-HOMER; ENIGLES, 2012, MCCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015; PEUGNET et al., 2016).

A epidemia de obesidade na população equina e humana tem como similaridade sua etiologia comportamental, uma vez que os criadores de equinos alimentam seus animais com dietas calóricas assim como as pessoas consomem alimentos altamente energéticos (PEUGNET et al., 2016). Atualmente o tecido adiposo é reconhecido como o maior órgão endócrino do corpo, secretando uma grande variedade de moléculas imunomoduladoras (adipocinas) que desempenham um papel importante na regulação da fisiologia vascular, imunológica e metabólica, entre elas, leptina, resistina, angiotensinogênio, adiponectina, TNF α e muitas interleucinas (IL6 e IL10, por exemplo; CHALDAKOV et al., 2003; GEOR; FRANK, 2009).

Em humanos, já existe extensivo conhecimento sobre o papel da expressão gênica, sinalização de receptores e produção de adipocinas durante a gestação (FIRSHMAN; VALBERG, 2007; VEJRAZKOVA et al., 2014). As concentrações séricas e placentárias de resistina, leptina e TNF α aumentam com o desenvolvimento da gestação, em contraste com os níveis de adiponectina. Esses níveis se correlacionam com o estado de sensibilidade à insulina reduzida desenvolvido frequentemente nos estágios avançados da gestação (ZAVALLA-GÓMEZ et al., 2008; MORRESEY, 2012). Na espécie equina, nada se sabe sobre a dinâmica da produção de citocinas inflamatórias durante a gestação, apesar da conhecida relação dessas substâncias com a resistência à insulina e como consequência, a SME em animais não gestantes (DE LAAT et al., 2014).

Em mulheres diabéticas, o controle das concentrações maternas de glicose antes da concepção e durante a gestação parecem reduzir a incidência de má formações congênitas, macrosomia fetal e síndrome do desconforto respiratório neonatal (MORRESEY, 2012). Em equinos, pouco se conhece sobre a influência do metabolismo materno durante a gestação na prole, mas sabe-se que o ambiente materno exerce uma ação recíproca sobre o genótipo fetal, contribuindo ativamente para as características pós natais do potro como altura, peso, conformação corporal, resposta imune, metabolismo energético, *status* osteoarticular, funções tireoideanas, adrenais e cardiovasculares e que qualquer condição que afete o estado metabólico ou endócrino da égua pode influenciar a circulação uterina, afetando o ambiente fetal (BUCCA, 2006; FERNANDES et al., 2014; COVERDALE; HAMMER; WALTER, 2015; PEUGNET et al., 2016).

Desta forma, é imprescindível que se conheça a dinâmica de insulina e glicose, as alterações hormonais e metabólicas, a produção de adipocinas, assim como a relação dessas variáveis tanto entre si, quanto com a alteração de gordura e adiposidade regional das éguas

durante toda a gestação, para que assim se possa diagnosticar possíveis problemas, atualmente ignorados na prática da equideocultura.

1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do nosso projeto foi avaliar as éguas gestantes a partir do dia da ovulação e ao longo de toda a gestação, até os 21 dias pós-parto (início da lactação), visando determinar quando e como ocorrem as adaptações metabólicas da gestação na espécie equina e como elas se correlacionam entre si. Além disso, tendo em vista que na rotina prática de reprodução as éguas se tornam gestantes logo nas primeiras semanas pós-parto, avaliamos um grupo de éguas recém paridas, visando detectar possíveis diferenças metabólicas relacionadas à lactação. Temos como objetivo também comparar peso ao nascimento, desenvolvimento e metabolismo dos potros provenientes de éguas que lactavam no início da gestação com éguas que não lactavam.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos do Capítulo 1 foram avaliar as dinâmicas de insulina e glicose, o metabolismo dos lipídeos e a produção de adipocinas em éguas gestantes, a partir dia da ovulação, a cada 55 dias de gestação, até o início da lactação (21 dias pós-parto), comparando ainda éguas lactantes durante o início da gestação, com éguas não lactantes.

No Capítulo 2, avaliamos a influência do *status* materno de lactante durante o início da gestação, com peso, altura, perímetro torácico e de canela, produção de adipocinas e marcadores metabólicos, e metabolismo de insulina e glicose dos potros, do 1º ao 28º dia de vida.

2 SENSIBILIDADE À INSULINA E SUA RELAÇÃO COM CITOCINAS INFLAMATÓRIAS NA GESTAÇÃO EQUINA: UM COMPARATIVO ENTRE LACTANTES E NÃO LACTANTES

2.1 INTRODUÇÃO

O metabolismo de glicose se adapta à gestação e lactação em várias espécies (humanos, Boden, 1996; ratos, Leturque et al., 1987; ovinos, Petterson et al., 1993; bovinos, Bell, 1995; suínos, Péré et al., 2000 e equinos, Evans, 1971; Fowden; Comline; Silver, 1984). Nesse período, a produção e a utilização de glicose se equilibram via interações hormonais, neurogênicas e citogênicas complexas (JOHNSON, 2008).

Essa adaptação envolve tanto o desenvolvimento progressivo fisiológico de resistência à insulina (RI) no tecido alvo (fígado, músculo ou tecido adiposo), quanto o aumento de até 2,5 vezes na secreção de insulina pelas células β pancreáticas, com o objetivo de manter a tolerância à glicose, combatendo a RI induzida e assim, sustentando a euglicemia materna (HOFFMAN et al., 2003; CATALANO, 2010; VEJRAZKOVA et al.; 2014). Desta forma, a gestação normal é caracterizada por diminuição de quase 50% na eliminação de glicose mediada por insulina e aumento de mais de 200% na secreção de insulina. O objetivo dessa adaptação é fornecer glicose, aminoácidos, ácidos graxos e cetonas para o feto, permitindo desenvolvimento e crescimento normal (VEJRAZKOVA et al., 2014).

A gestação humana normal está associada com hiperinsulinemia e declínio progressivo na sensibilidade à insulina em média de 60%, tanto em mulheres com tolerância à glicose normal quanto anormal (YILMAZ et al., 2010). Essa RI afeta os mecanismos regulatórios de glicose, suprimindo seu transporte intracelular (ou seja, diminuindo sua utilização), criando uma relativa deficiência energética intracelular e aumentando a glicemia. No entanto, a base molecular da RI na gestação não está completamente elucidada (JOHNSON, 2008).

A RI materna em associação com a remoção uterina de insulina constituem um equilíbrio ténue entre os requerimentos nutricionais fetais e maternos durante o último trimestre da gestação, representando um estresse diabetogênico para a égua (JOHNSON et al., 2009). Portanto, considerando-se o que vem sendo demonstrado em relação a importância da desregulação da glicose e RI na patogênese da laminite, não é surpreendente que a laminite possa ser causada ou agravada por fatores associados à gestação (JOHNSON et al., 2009). Em éguas que apresentam RI antes da gestação, o estresse metabólico adicional dessa condição

pode aumentar muito o risco de laminite, ainda que sejam necessários estudos epidemiológicos para que se verifique essa suspeita (GALANTINO-HOMER; ENGILES, 2012).

Estudos relatam que a incidência de obesidade na população equina pode ser maior do que 50% (COVERDALE; HAMMER; WALTER, 2015; DURHAM et al., 2019) e que ela está associada com risco de laminite, atividades metabólica e reprodutiva alteradas e sensibilidade à insulina reduzida (HUFF et al., 2008; CARTER et al., 2009a; BURNS et al., 2010). Foram observadas correlação positiva entre escore de condição corporal (ECC), espessura de gordura subcutânea, concentração plasmática de leptina, expressão gênica de adipocinas e resistência periférica à insulina, assim como correlação negativa com a concentração plasmática de adiponectina, em cavalos e pôneis (CARTER et al., 2009b; BURNS et al., 2010).

Além disso, sendo a égua um animal que apresenta rápida involução uterina, tendo a primeira ovulação pós-parto em torno de 12 dias (LEMES et al., 2017), é muito comum que elas se tornem gestantes ainda durante a lactação. No entanto, no nosso conhecimento não existem trabalhos que avaliaram a influência da lactação nas características metabólicas durante toda a gestação, não havendo conhecimento sobre a influência dessa condição no metabolismo de lipídeos e carboidratos, produção e sensibilidade à insulina assim como na produção de adipocinas.

Com isso, o objetivo desse trabalho foi avaliar éguas a partir do dia da ovulação, durante toda a gestação e início da lactação, além de comparar éguas lactantes e não lactantes em relação ao metabolismo de insulina e glicose, de lipídeos, assim como à produção de adipocinas, visando detectar possíveis modificações fisiológicas ou alterações provenientes da gestação.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no município de Piracaia, SP-Brasil, latitude 23° 03' 14" S longitude 46° 21' 29", durante as estações reprodutivas de 2016/2017, 2017/2018 e 2018/2019. Devido à estacionalidade da espécie e à influência da sazonalidade na qualidade das pastagens, as coletas se iniciaram entre os meses de novembro e janeiro.

2.2.1 Animais

Foram utilizadas 12 éguas matrizes da raça Mangalarga Paulista, entre 5 e 15 anos de idade, ECC entre 4 e 8, saudáveis, sem histórico de laminite e endocrinopatias e sem alterações

reprodutivas, sendo 7 éguas não lactantes (NL, que por escolha do proprietário não ficaram gestantes na estação anterior) e 5 éguas recém paridas, em lactação (L: lactantes). As éguas lactantes foram desmamadas entre 124 e 170 dias de gestação.

As éguas foram mantidas à pasto (*Tifton*), recebendo água e sal mineral *ad libitum*. As éguas do grupo L foram suplementadas com 1 kg de concentrado comercial isoproteico e isoenergético (NRC, 2007), uma vez ao dia, até o desmame. E todas receberam essa suplementação a partir dos 250 dias de gestação, com exceção de uma das éguas do grupo NL, que devido ao escore de condição corporal elevado durante todo o experimento não foi suplementada, ficando apenas sob regime de pasto. O concentrado era composto por 15% de proteína bruta, 5% de extrato etéreo, 12% de fibra bruta, 12% de matéria mineral, 1,6% de cálcio e 0,5% de fósforo e energia digestível de 3230 kcal/kg.

As avaliações e coletas de sangue foram realizadas no dia da ovulação (D0), aos 55, 110, 165, 220, 275, 330 dias de gestação (D55, D110, D165, D220, D275 e D330) e 21 dias pós-parto (D21pp). Na última coleta, todas as éguas estavam em diestro, diagnosticado pela presença de corpo lúteo, ao exame de ultrassonografia transretal, sem alterações uterinas aparentes.

2.2.2 Escore de condição corporal e adiposidade regional

As éguas foram avaliadas quanto ao ECC, segundo sistema desenvolvido por Henneke et al. (1983), que varia de 1 (muito magra) a 9 (obesa) e a presença de adiposidade regional foi monitorada por meio do escore relativo à crista do pescoço (*cresty neck*, ECP), que é graduado de 1 a 5 (CARTER et al., 2009). Nos dois casos, o valor considerado foi a média obtida entre a pontuação atribuída por três avaliadores previamente treinados.

Foram realizadas ainda avaliações ultrassonográficas subcutâneas da espessura de gordura de acordo com método desenvolvido por Kane et al. (1987) modificado por Dugdale et al. (2011), utilizando aparelho modelo DP-10Vet, Mindray®. As regiões escaneadas foram: garupa (GAR), onde o transdutor foi colocado a aproximadamente 5 cm lateral à linha média no centro do osso pélvico, equidistante à tuberosidade coxal e ao centro da cabeça da cauda; o 12º espaço intercostal (EIC), onde o transdutor foi localizado à 15 cm lateral à linha dorsal média e retroperitoneal (RET), com a probe posicionada paralela e imediatamente lateral à linha média ventral e caudal ao processo xifoide. As regiões foram escaneadas a aproximadamente 0,01 mm de profundidade com a utilização de transdutor linear de 5 MHz e a posição com

máxima espessura de gordura foi utilizada como local de medição. Todas as medições foram realizadas do lado direito do animal, pelo mesmo examinador e repetidas em triplicata, sendo os valores médios considerados (Figuras 1 e 2).

Figura 1 - Mensuração e imagem ultrassonográfica de gordura subcutânea da região da garupa (A e B), espaço intercostal (C e D) e retroperitoneal (E e F)

Fonte: (AFFONSO, 2019).

2.2.3 Coletas e Análises laboratoriais

Nos tempos estabelecidos (0, 55, 110, 165, 220, 275, 330 dias de gestação e 21 dias pós-parto) após jejum noturno de feno e concentrado, foram realizadas coletas de sangue pela manhã

(08-10:00 horas), por meio de punção da veia jugular, em tubos com e sem anticoagulante para análise de glicose e insulina basais, triglicérides, ácidos graxos não esterificados (AGNE), cortisol, leptina, resistina, adiponectina, interleucina 6 (IL6), interleucina 10 (IL10) e fator de necrose tumoral (TNF α). As amostras foram centrifugadas 30 minutos após a coleta por 30 minutos, a 3000g. O plasma e o soro foram aliquotados e armazenados a -20°C.

A avaliação das concentrações sanguíneas de glicose, triglicerídeos e AGNE foi realizada no Laboratório da Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ - USP) utilizando analisador bioquímico automático (RX Daytona), com auxílio de kits específicos da Randox[®] (glicose: GL3815, triglicérides: TR3823, AGNE: FA115), as análises de cortisol e insulina feitas por radioimunoensaio com a utilização de kits específicos (cortisol: 07-221105, MPBio[®], insulina: PI-12K, Millipore[®]) no Laboratório de Endocrinologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária – UNESP, Araçatuba e as análises de leptina, adiponectina, e resistina por ELISA (leptina: CBS-ELO012870HO, Cusabio[®], adiponectina: MBS081354, Mybio[®] resistina: MBS015038, Mybio[®]), IL6, IL10, TNF α por kit de imunoensaio Luminex[®] (EQCYTMAG-93K-03, Millipore[®]) no laboratório comercial LEAC - Laboratório Especializado em Análises Científicas (São Paulo - SP).

Foram coletadas amostras de urina a partir dos 165 dias de gestação, por meio de sondagem uretral, com sonda 16, para análises qualitativas da presença de glicose e corpos cetônicos, utilizando-se tiras para medição de cetonúria e glicosúria (Combur-Test, Roche[®]). Porém os resultados foram negativos em todas as coletas.

2.2.4 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

Após a realização da coleta de sangue em jejum foram administrados aos animais 0,15 mL/kg de produto à base de xarope de milho (Karo[®]), por via oral. Então novas coletas de sangue foram realizadas, aos 30, 60, 90 e 120 minutos pós administração, para análise das concentrações de glicose (GLI30, GLI60, GLI90, GLI120) e insulina (INS30, INS60, INS90 e INS120) e para que fossem obtidas as curvas de insulina e glicose ao longo do tempo, para posterior cálculo da área sob a curva de glicose (ASCg) e de insulina (ASCi). As áreas sob a curva de insulina e glicose foram calculadas pelo método trapezoidal, com auxílio do Microsoft Office Excel 2013[®].

2.2.5 Proxies

A sensibilidade à insulina foi determinada por meio da utilização do inverso da raiz quadrada da insulina (RISQI) e da responsividade das células β pancreáticas pela razão insulina-glicose modificada (MIRG), de acordo com Treiber et al., 2005. Os valores obtidos pela análise das concentrações plasmáticas basais de insulina e glicose foram inseridos nas seguintes equações: $RISQI = 1/\sqrt{\text{concentração insulina basal}}$ e $MIRG = [800 - 0.3 \times (\text{concentração insulina basal} - 50)^2] / (\text{concentração glicose basal} - 30)$. Animais que apresentaram RISQI menor que $0,32 \mu\text{U}/\text{mL}^{-0.5}$ e MIRG maior que $0,56 \text{ mU}_{\text{insulina}}^2/[10 \cdot \text{L} \cdot \text{mg}_{\text{glicose}}]$ foram considerados resistentes à insulina (TREIBER et al., 2005).

2.2.6 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados pelo programa SAS, versão University Edition 3.7.1 (SAS, 2017). As premissas normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias foram previamente testadas e quando necessárias foram realizadas as devidas transformações e retirada de *outliers*. As variáveis: ECC, ECP, espessura de gordura da garupa (GAR), do espaço intercostal (EIC) e retroperitoneal (RET), insulina, glicose, cortisol, triglicérides, ácidos graxos não esterificados (AGNE), leptina, adiponectina, resistina, IL6, IL0, $\text{TNF}\alpha$, GLI30, GLI60, GLI90, GLI120, INS30, INS60, INS90, ASCg, ASCi, RISQI e MIRG foram analisadas pelo PROC MIXED, utilizando arranjo fatorial, sendo considerados como fatores, o grupo (lactantes: L e não lactantes: NL) e o tempo (D0: dia da ovulação, D55, D110, D165, D210, D275, D330, ao longo da gestação e D21pp: 21 dias pós-parto), além da interação entre eles. O nível de significância considerado foi de 5%. As variáveis que apresentaram efeito significativo foram submetidas ao teste de Tukey. As variáveis RET, resistina, IL6, IL10, $\text{TNF}\alpha$, INS30 e MIRG não respeitaram as premissas e então foram submetidas ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, não sendo analisado o efeito da interação grupo x tempo. Para cálculo da relação entre as variáveis foi realizado os testes de correlação de Pearson e de Spearman para variáveis paramétricas e não paramétricas, respectivamente.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Escore de condição corporal e adiposidade Regional

Não houve efeito de interação entre grupo e coleta em nenhuma variável. As variáveis ECC e ECP sofreram efeito do tempo, sendo ECC maior no D330 em comparação com D0 e D21pp, porém igual aos outros tempos de gestação, já o ECP, aumentou com o decorrer da gestação, apresentando diferença em relação ao D0, a partir do D220, voltando a se igualar no D21pp (Figura 2). As éguas lactantes apresentaram ECC menor, porém ECP sem diferença estatística (Tabela 1).

Figura 2 - Média e erro padrão dos escores de condição corporal e de crista de pescoço ao longo do tempo

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes representam diferença estatística ($P < 0,05$).

ECC: escore de condição corporal, ECP: escore de crista de pescoço, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

A espessura de gordura da GAR não apresentou diferença entre os tempos, já a RET foi menor no D21pp em comparação a D0, D55 e D110, e o EIC no D21pp foi diferente do D110, porém igual aos outros tempos, que foram iguais entre si (Figura 3). Em relação aos grupos, GAR e EIC foram menores nas éguas lactantes, não havendo diferença para a RET (Tabela 1).

Figura 3 - Média e erro padrão espessura de gordura subcutânea das regiões da garupa, espaço intercostal e retroperitoneal (cm) ao longo do tempo

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes representam diferença estatística ($P < 0,05$).

GAR: garupa, EIC: espaço intercostal, RET: retroperitoneal, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

Tabela 1 - Médias $\pm$ erros padrão do escore de condição corporal, escore de crista de pescoço e espessura de gordura subcutânea das regiões da garupa, espaço intercostal e retroperitoneal entre os grupos

	GRUPOS		
	L	NL	P
ECC	5,52 $\pm$ 0,11	6,61 $\pm$ 0,17	<0,0001
ECP	0,92 $\pm$ 0,07	1,15 $\pm$ 0,10	0,08
GAR (cm)	0,98 $\pm$ 0,03	1,35 $\pm$ 0,06	<0,0001
EIC (cm)	0,56 $\pm$ 0,02	0,7 $\pm$ 0,04	0,003
RET (cm)	0,54 $\pm$ 0,01	0,53 $\pm$ 0,02	0,42

Fonte: (AFFONSO, 2019).

L: lactantes, NL: não lactantes, ECC: escore de condição corporal, ECP: escore de crista de pescoço, GAR: garupa, EIC: espaço intercostal, RET: retroperitoneal.

2.3.2 Glicose e insulina

2.3.2.1 Concentrações basais

Houve interação entre grupo e tempo de gestação nas concentrações basais de glicose ($P=0,03$). Entre as éguas L, não houve diferença nas concentrações ao longo do tempo. Nas éguas não lactantes, as coletas D0, D55 e D110 apresentaram maiores concentrações que o D21pp, além de maiores concentrações nas éguas NL que L, diferença não observada nos outros tempos (Tabela 2).

Tabela 2 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de glicose (mg/dL) ao longo do tempo, entre os grupos

GRUPOS	COLETAS							
	D0	D55	D110	D165	D220	D275	D330	D21pp
L	83,57 $\pm$ 1,9*	85,14 $\pm$ 1,89*	81,28 $\pm$ 2,84*	85,71 $\pm$ 2	84,28 $\pm$ 2,2	85,57 $\pm$ 3,3	85 $\pm$ 2,16	78,14 $\pm$ 3,5
NL	95,2 $\pm$ 3,7* ^a	95,6 $\pm$ 1,96* ^a	90,6 $\pm$ 1,56* ^a	88 $\pm$ 2,28 ^{ab}	83,8 $\pm$ 2,35 ^{ab}	83,6 $\pm$ 1,8 ^{ab}	86 $\pm$ 3,96 ^{ab}	74,4 $\pm$ 4,76 ^b

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística ($P < 0,05$).

Asteriscos na mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$).

L: lactantes, NL: não lactantes, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

As concentrações basais de insulina não sofreram efeito de interação, no entanto houve efeito de tempo e de grupo. As concentrações foram menores no D21pp em relação aos outros tempos, com exceção do D165 e ao D330 (Tabela 3). Em relação ao grupo, os resultados foram maiores nas NL do que nas L (Tabela 4).

Tabela 3 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de insulina (μ U/mL) ao longo do tempo

	COLETAS								P
	D0	D55	D110	D165	D220	D275	D330	D21pp	
INS	7,85 $\pm$ 1,8 1 ^a	7,72 $\pm$ 1,58 a	9,5 $\pm$ 2,5 ^a	6,29 $\pm$ 0,8 g ^{ab}	8,22 $\pm$ 1,47 a	7,73 $\pm$ 1,6 a	7,33 $\pm$ 1,83 ^a b	3,17 $\pm$ 0,46 b	<0,000 1

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística ($P < 0,05$).

INS: insulina, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

Tabela 4 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de insulina (μ U/mL) entre os grupos

	GRUPOS		P
	L	NL	
INSULINA	4,39 $\pm$ 0,32	11,42 $\pm$ 1,05	0,002

Fonte: (AFFONSO, 2019).

L: lactantes, NL: não lactantes.

2.3.2.2 Teste oral de tolerância à glicose

As concentrações de glicose aos 30, 60, 90 e 120 minutos não tiveram efeito de interação. A glicose aos 30 e 60 minutos foram iguais entre os grupos e entre os tempos de gestação. Aos 90 e 120 minutos, as concentrações foram maiores nos tempos D165, D220 e D275 em relação ao D21pp (Tabela 5).

Tabela 5 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de glicose (mg/dL) ao longo do tempo, aos 30, 60, 90 e 120 minutos do Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

	COLETAS								P
	D0	D55	D110	D165	D220	D275	D330	D21pp	
GLI30	102,5 $\pm$ 3,44	101 $\pm$ 4,45	94,41 $\pm$ 3,11	98,5 $\pm$ 2,35	94,75 $\pm$ 2,21	97,08 $\pm$ 2,08	98,83 $\pm$ 2,86	92,5 $\pm$ 4,28	0,19
GLI60	95 $\pm$ 2,74	99,58 $\pm$ 3,49	99,16 $\pm$ 2,9	103,91 $\pm$ 3,03	97,83 $\pm$ 2,65	106,75 $\pm$ 4,32	98,58 $\pm$ 2,98	93,6 $\pm$ 4	0,2
GLI90	89,5 $\pm$ 1,93 ^a _b	88 $\pm$ 3,49 ^{ab}	92,3 $\pm$ 2,45 ^{ab}	97,66 $\pm$ 2,19 ^a	96,83 $\pm$ 2,98 ^a	99,7 $\pm$ 3,15 ^a	92,33 $\pm$ 2,47 ^{ab}	83,22 $\pm$ 2,46 ^b	0,001
GLI120	87,45 $\pm$ 1,84 ^{ab}	86,81 $\pm$ 3,43 ^{ab}	89,41 $\pm$ 1,55 ^{ab}	96,5 $\pm$ 2,24 ^a	93,5 $\pm$ 2,79 ^a	96 $\pm$ 4,12 ^a	88,91 $\pm$ 1,76 ^{ab}	81,41 $\pm$ 4,04 ^b	0,002

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística ($P < 0,05$).

GLI30: glicose aos 30 minutos, GLI60: glicose aos 60 minutos, GLI90: glicose aos 90 minutos, GLI120: glicose aos 120 minutos D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

Em relação aos grupos, as concentrações foram maiores nas NL do que nas L, nas concentrações obtidas nos tempos 90 e 120 minutos do TOTG (Tabela 6).

Tabela 6 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de glicose (mg/dL) ao longo do tempo, aos 30, 60, 90 e 120 minutos do Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

	GRUPOS		P
	L	NL	
GLI30	96,08 $\pm$ 1,31	99,35 $\pm$ 2,02	0,14
GLI60	97,8 $\pm$ 1,53	101,42 $\pm$ 1,89	0,13
GLI90	90,08 $\pm$ 1,29	95,94 $\pm$ 1,6	0,003
GLI120	87,3 $\pm$ 1,28	93,89 $\pm$ 1,76	0,0007

Fonte: (AFFONSO, 2019).

GLI30: glicose aos 30 minutos, GLI60: glicose aos 60 minutos, GLI90: glicose aos 90 minutos, GLI120: glicose, L: lactantes, NL: não lactantes

Em relação à insulina, as coletas aos 30 minutos não se modificaram ao longo do tempo. Aos 60 minutos, observamos maiores concentrações no D275 do que no D0, D165 e D21pp. Já aos 90 minutos o D275 foi maior do que D0, D55, D110 e D21pp (Tabela 7). Em relação aos grupo, as concentrações foram maiores nas NL do que nas L aos 30, 60 e 90 minutos (Tabela 8). As concentrações de insulina aos 120 minutos sofreram efeito grupo x tempo e por isso foram demonstradas separadamente ($P=0,01$; Tabela 9).

Tabela 7 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de insulina ($\mu\text{U/mL}$) ao longo do tempo, aos 30, 60, 90 e 120 minutos do Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

	COLETAS								P
	D0	D55	D110	D165	D220	D275	D330	D21pp	
INS30	13,61 $\pm$ 2,14	17,5 $\pm$ 3,51	14,54 $\pm$ 3,47	15,68 $\pm$ 2,91	12,29 $\pm$ 2,15	16,54 $\pm$ 2,42	14,12 $\pm$ 2,2	9,16 $\pm$ 1,27	0,38
INS60	11,42 $\pm$ 1,33 _b	18,61 $\pm$ 3,58 _{ab}	15,88 $\pm$ 3,96 _{ab}	19,39 $\pm$ 3,5 ^{ab}	15,59 $\pm$ 2,39 ^{ab}	26,61 $\pm$ 3,99 ^a	16,42 $\pm$ 2,5 ^{ab}	12,6 $\pm$ 1,93 ^b	0,01
INS90	11,44 $\pm$ 2,41 _b	10,71 $\pm$ 3 ^b	11,52 $\pm$ 3,16 _b	15,36 $\pm$ 2,6 ^{ab}	15,71 $\pm$ 2,63 ^{ab}	25,06 $\pm$ 4,04 ^a	12,95 $\pm$ 2,17 ^{ab}	9,05 $\pm$ 1,9 _b	0,001

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística ($P < 0,05$).

INS30: insulina aos 30 minutos, INS60: insulina aos 60 minutos, INS90: insulina aos 90 minutos, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

Tabela 8 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de insulina ($\mu\text{U/mL}$), entre os grupos, aos 30, 60, 90 e 120 minutos do Teste oral de tolerância à glicose

	GRUPOS		P
	L	NL	
INS30	10,75 $\pm$ 0,8	19,12 $\pm$ 1,66	<0,0001
INS60	12,98 $\pm$ 1,27	23,11 $\pm$ 1,71	<0,0001
INS90	9,4 $\pm$ 0,83	20,04 $\pm$ 1,86	<0,0001

INS30: insulina aos 30 minutos, INS60: insulina aos 60 minutos, INS90: insulina aos 90 minutos, L: lactantes, NL: não lactantes.

As éguas lactantes não tiveram diferença nas concentrações de insulina aos 120 minutos do TOTG. Já as não lactantes apresentaram maiores concentrações no D275 do que no D330 e no D21pp, o D21pp ainda foi menor que o D55, D110 e D165. Além disso, nos tempos D0, D55, D110, D165 e D275, as éguas NL tiveram maiores concentrações que as L (Tabela 9).

Tabela 9 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de insulina ($\mu\text{U/mL}$), ao longo do tempo, entre os grupos, aos 120 minutos do TOTG

	COLETAS							
	D0	D55	D110	D165	D220	D275	D330	D21pp
L	6,22 $\pm$ 1,82*	4,29 $\pm$ 1,34*	4,56 $\pm$ 0,52*	8,66 $\pm$ 1,18*	12,09 $\pm$ 2,92	11,59 $\pm$ 3,38*	7,11 $\pm$ 1,95	4,88 $\pm$ 1,08
NL	13 $\pm$ 2,37* ^{abc}	20,52 $\pm$ 4,73* ^a _b	18,72 $\pm$ 2,47* ^a _b	24,22 $\pm$ 3,86* ^{ab}	17,26 $\pm$ 3,92 _{abc}	28,73 $\pm$ 5,53* ^a	10,67 $\pm$ 2,69 _{bc}	4,62 $\pm$ 1,43 ^c

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística ($P < 0,05$).

Asteriscos na mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$).

L: lactantes, NL: não lactantes, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

2.3.2.3 Área sob a curva

A ASCg não sofreu efeito da interação, mas sim de grupo e de tempo. Foi menor nas éguas L e maior no D275 em comparação com o D21pp, porém não diferiu dos outros tempos, que também não diferiram entre si (Tabelas 10 e 11).

Tabela 10 - Médias $\pm$ erros padrão da ASCg ([mg/dL] min), ao longo do tempo

	COLETAS								P
	D0	D55	D110	D165	D220	D275	D330	D21pp	
ASCg $\times 10^3$	11,17 $\pm$ 0,23 ^{ab}	11,25 $\pm$ 0,36 ^{ab}	11,19 $\pm$ 0,24 ^{ab}	11,75 $\pm$ 0,22 ^{ab}	11,34 $\pm$ 0,23 ^{ab}	12,08 $\pm$ 0,38 ^a	11,3 $\pm$ 0,26 ^{ab}	10,55 $\pm$ 0,4 ^b	0,04

Fonte: (AFFONSO, 2019).

ASCg: área sob a curva de glicose, ASCi: área sob a curva de insulina; D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

Tabela 11 - Médias $\pm$ erros padrão da ASCg ([mg/dL] min) entre os grupos

	GRUPOS		P
	L	NL	
ASCg $\times 10^3$	11,08 $\pm$ 0,12	11,68 $\pm$ 0,18	0,004

Fonte: (AFFONSO, 2019).

ASCg: área sob a curva de glicose, ASCi: área sob a curva de insulina; L: lactante, N: não lactante.

A ASCi sofreu efeito de interação ($P=0,04$). Nas éguas L não houve alteração ao longo do tempo, já nas NL, a curva foi maior no D165 e D275 que no D21pp. As éguas L, tiveram menor curva no D55, D110, D165, D275 e D21pp (Tabela 12).

Tabela 12 - Médias $\pm$ erros padrão da ASCi ([μ U/mL].min), ao longo do tempo, entre os grupos

GRUPOS	COLETAS							
	D0	D55	D110	D165	D220	D275	D330	D21pp
L	1,12 $\pm$ 0,23	0,88 $\pm$ 0,15*	0,78 $\pm$ 0,13*	1,2 $\pm$ 0,15*	1,3 $\pm$ 0,3	1,66 $\pm$ 0,23*	1,24 $\pm$ 0,2	0,87 $\pm$ 0,17*
NL	1,4 $\pm$ 0,1 ^{ab}	2,8 $\pm$ 0,46 ^a _b	2,63 $\pm$ 0,49 ^a _{ab}	3 $\pm$ 0,47 ^a _a	1,99 $\pm$ 0,39 ^a _b	3,21 $\pm$ 0,25 ^a _a	1,69 $\pm$ 0,37 ^a _b	1,36 $\pm$ 0,11 ^b _b

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística ($P<0,05$).

Asteriscos na mesma coluna representam diferença estatística ($P<0,05$).

L: lactantes, NL: não lactantes, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

2.3.2.4 Proxies

Os valores de RISQI foram maiores no D21pp do que no D55, D165 e D220 e nas éguas L do que NL. Os valores de MIRG não sofreram efeito do tempo, no entanto, foram maiores nas éguas NL do que L (Tabelas 13 e 14).

Tabela 13 - Médias $\pm$ erros padrão do RISQI ($\mu\text{U}/\text{mL}^{-0.5}$) e MIRG ($\text{mU}_{\text{insulina}}^2/[10 \cdot \text{L} \cdot \text{mg}_{\text{glicose}}]$) ao longo do tempo

	COLETAS								P
	D0	D55	D110	D165	D220	D275	D330	D21pp	
RISQI	0,45 $\pm$ 0,05 ^{ab}	0,39 $\pm$ 0,03 ^b	0,43 $\pm$ 0,05 ^{ab}	0,4 $\pm$ 0,03 ^b	0,38 $\pm$ 0,03 ^b	0,43 $\pm$ 0,05 ^{ab}	0,46 $\pm$ 0,05 ^{ab}	0,6 $\pm$ 0,05 ^a	0,004
MIRG	4,18 $\pm$ 0,54	4,78 $\pm$ 0,69	5,06 $\pm$ 0,85	3,95 $\pm$ 0,36	4,93 $\pm$ 0,63	4,66 $\pm$ 0,67	4,51 $\pm$ 0,88	2,94 $\pm$ 0,3	0,32

Fonte: (AFFONSO, 2019).

RISQI: inverso da raiz quadrada da insulina MIRG: razão insulina-glicose modificada, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

Tabela 14 - Médias $\pm$ erros padrão do RISQI ($\mu\text{U}/\text{mL}^{-0.5}$) e MIRG ($\text{mU}_{\text{insulina}}^2/[10 \cdot \text{L} \cdot \text{mg}_{\text{glicose}}]$) ao longo do tempo

	GRUPOS		P
	L	NL	
RISQI	0,52 $\pm$ 0,02	0,33 $\pm$ 0,02	<0,0001
MIRG	3,25 $\pm$ 0,14	6,09 $\pm$ 0,4	<0,0001

Fonte: (AFFONSO, 2019).

RISQI: inverso da raiz quadrada da insulina MIRG: razão insulina-glicose modificada L: lactantes, NL: não lactantes.

2.3.3 Análises Laboratoriais

As concentrações de triglicérides sofreram efeito de interação grupo x tempo ($P=0,0006$). Nas éguas L, a concentração foi maior no D330 do que nos dias 0, 55, 110, 165 e D21pp, mas foi igual aos dias 220 e 275, que também se igualaram ao D0 e ao D165 (Tabela 15). Nas éguas NL, não houve diferença ao longo dos tempos de gestação, já o D21pp, apenas se igualou ao D0, sendo sua concentração menor do que as obtidas durante a gestação. Nos tempos D0, D55, D110 e D165, as concentrações foram maiores no grupo NL do que no L (Tabela 16).

Tabela 15 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de triglicérides (mg/dL) ao longo do tempo

GRUPOS	COLETAS							
	D0	D55	D110	D165	D220	D275	D330	D21pp
L	19,61 $\pm$ 1,5 8*bc	16,12 $\pm$ 1,16 *c	17,58 $\pm$ 1,8 1*c	28,32 $\pm$ 2,9 6*bc	34,38 $\pm$ 3,9 ab	34,61 $\pm$ 4,9 5ab	46,58 $\pm$ 5, 56 ^a	16,8 $\pm$ 1,81 c
NL	37,7 $\pm$ 6,87 *ab	44,46 $\pm$ 7,91 *a	48,8 $\pm$ 3,95 *a	52,84 $\pm$ 3,7 6*a	43,9 $\pm$ 5,59 a	46,4 $\pm$ 5,62 a	43,54 $\pm$ 5, 93 ^a	17,94 $\pm$ 2,4 4 ^b

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística ($P < 0,05$).

Asteriscos na mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$).

L: lactantes, NL: não lactantes, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

Para a variável AGNE, o efeito de interação entre grupo e tempo foi significativo ($P = 0,006$). Entre as éguas L, não houve efeito ao longo do tempo. Nas éguas não lactantes, a coleta D275 apresentou maior concentração que as do D0, D55 e D110, que por sua vez se igualaram aos outros tempos. Houve maiores concentrações nas éguas NL que L nas coletas D165 e D275 (Tabela).

Tabela 16 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE; mmol/dL) ao longo do tempo

GRUPOS	COLETAS							
	D0	D55	D110	D165	D220	D275	D330	D21pp
L	0,37 $\pm$ 0,06	0,24 $\pm$ 0,02	0,24 $\pm$ 0,02	0,22 $\pm$ 0,03*	0,30 $\pm$ 0,05	0,31 $\pm$ 0,03*	0,30 $\pm$ 0,06	0,25 $\pm$ 0,03
NL	0,22 $\pm$ 0,03 ^b	0,24 $\pm$ 0,04 ^b	0,26 $\pm$ 0,04 ^b	0,39 $\pm$ 0,05* ^{ab}	0,38 $\pm$ 0,06 ^{ab}	0,62 $\pm$ 0,07* ^a	0,41 $\pm$ 0,05 ^{ab}	0,35 $\pm$ 0,08 ^{ab}

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística ($P < 0,05$).

Asteriscos na mesma coluna representam diferença estatística ($P < 0,05$).

L: lactantes, NL: não lactantes, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

A concentração de cortisol foi maior no D55 do que no D220, 275 e 21pp. Os outros tempos não tiveram diferença. Não houve efeito de grupo e de interação (Tabelas 17 e 18).

Tabela 17 - Médias $\pm$ erros padrão das concentrações de cortisol (μ g/dL) ao longo do tempo

	COLETAS								P
	D0	D55	D110	D165	D220	D275	D330	D21pp	
COR	1,58 $\pm$ 0,24 ab	2,54 $\pm$ 0,32 a	1,78 $\pm$ 0,14 ab	1,46 $\pm$ 0,09 ab	1,19 $\pm$ 0,1 3 ^b	0,98 $\pm$ 0,1 7 ^b	1,56 $\pm$ 0,2 9 ^{ab}	1,48 $\pm$ 0, 2 ^b	0,000 2

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística ($P < 0,05$).

COR: Cortisol, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

Tabela 18 - Médias $\pm$ erros padrão do cortisol ($\mu\text{g/dL}$) entre os grupos

	GRUPOS		
	L	NL	P
CORTISOL	1,53 $\pm$ 0,1	1,63 $\pm$ 0,14	0,49

L: lactantes, NL: não lactantes.

2.3.4 Citocinas inflamatórias

As variáveis adiponectina, IL6, IL10 e TNF α não sofreram efeito do tempo. As concentrações de resistina foram maiores no D110 e no D165 do que no D0, D275, 330 e 21pp, as de leptina foram maiores no D55, e no D110, o D110 foi igual ao D0, D220, e ao D275, porém maior que o D330 e ao D21pp (Tabela 19). As concentrações de adiponectina e TNF α foram maiores nas éguas lactantes (Tabela 20). Não houve efeito grupo x tempo.

Tabela 19 - Médias $\pm$ erros padrão das citocinas inflamatórias ao longo do tempo

	COLETAS								P
	D0	D55	D110	D165	D220	D275	D330	D21pp	
RES (ng/mL)	58,3 $\pm$ 3, 49 ^{bc}	69,11 $\pm$ 4, 23 ^{ab}	74,15 $\pm$ 6, 34 ^a	86,47 $\pm$ 6, 34 ^a	67,09 $\pm$ 9, 36 ^{abc}	54,44 $\pm$ 10, 62 ^{bc}	44,21 $\pm$ 8, 97 ^c	42,85 $\pm$ 8,5 8 ^c	0,004
LEP (ng/mL)	10,53 $\pm$ 1, 1 ^{abc}	14,55 $\pm$ 1, 27 ^a	12,44 $\pm$ 1, 16 ^{ab}	7,9 $\pm$ 0,57 c	9,02 $\pm$ 0,7 2 ^{bc}	9,32 $\pm$ 0,59 bc	7,91 $\pm$ 1,1 3 ^c	6,65 $\pm$ 0,8 ^c	<0,0001
ADI ($\mu\text{g/mL}$)	14,89 $\pm$ 2, 98	10,89 $\pm$ 1, 95	13,27 $\pm$ 2, 01	13,15 $\pm$ 2, 14	10,31 $\pm$ 1, 84	10,59 $\pm$ 1,7 9	10,55 $\pm$ 1, 74	9,61 $\pm$ 1,69	0,6
IL6 (pg/mL)	15,84 $\pm$ 3, 48	14,45 $\pm$ 3, 39	14,42 $\pm$ 2, 89	14,27 $\pm$ 2, 88	13,98 $\pm$ 2, 2	17,82 $\pm$ 3,4 3	15,82 $\pm$ 2, 36	16,12 $\pm$ 2,9 4	0,99
IL10 (pg/mL)	56,62 $\pm$ 9, 37	49,87 $\pm$ 6, 08	54,26 $\pm$ 9, 46	47,53 $\pm$ 7, 8	40,51 $\pm$ 6, 48	62,21 $\pm$ 8,7 8	68,6 $\pm$ 8,7 4	65,51 $\pm$ 8,4 8	0,19
TNFα (pg/mL)	3,9 $\pm$ 0,7 5	4,45 $\pm$ 0,9 9	5 $\pm$ 1,27	5,03 $\pm$ 1,2 9	4,64 $\pm$ 1,0 3	6,72 $\pm$ 1,06	6,48 $\pm$ 1,3 6	5,29 $\pm$ 1,25	0,41

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística ($P < 0,05$).

RES: resistina, LEP: leptina, ADI: adiponectina, IL6: interleucina, IL10: interleucina 10, TNF α : fator de necrose tumoral, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação, D220: 220 dias de gestação, D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, D21pp: 21 dias pós-parto.

Tabela 20 - Médias $\pm$ erros padrão das citocinas inflamatórias entre os grupos

	GRUPOS		P
	L	NL	
RESISTINA (ng/mL)	59,08 $\pm$ 3,44	66,27 $\pm$ 5,22	0,2
LEPTINA (ng/mL)	10,35 $\pm$ 5,7	9,07 $\pm$ 5,63	0,07
ADI (μ g/mL)	12,77 $\pm$ 0,91	10,12 $\pm$ 1,15	0,01
IL6 (pg/mL)	16,23 $\pm$ 1,37	14,2 $\pm$ 1,53	0,33
IL10 (pg/mL)	58,81 $\pm$ 4,58	51,87 $\pm$ 3,21	0,69
TNFα (pg/mL)	6,37 $\pm$ 0,63	3,71 $\pm$ 0,27	0,01

Fonte: (AFFONSO, 2019).

ADI: adiponectina, IL6: interleucina, IL10: interleucina 10, TNF α : fator de necrose tumoral, L: lactantes, NL: não lactantes.

2.3.5 Correlação

Todas as variáveis relacionadas à mensuração de gordura se correlacionaram positivamente, com exceção da RET que se correlacionou somente com EIC (Tabela 21).

Tabela 21 – Coeficientes de correlação entre escore de condição corporal, escore de crista de pescoço e gordura subcutânea da garupa, espaço intercostal e retroperitoneal

	ECC	ECP	GAR	EIC	RET
ECC					
ECP	0,79***				
GAR	0,72***	0,52***			
EIC	0,53***	0,31**	0,52***		
RET	NS	NS	NS	0,36**	

Fonte: (AFFONSO, 2019).

ECC: escore de condição corporal, ECP: escore de crista de pescoço, GAR: garupa, EIC: espaço intercostal, RET: retroperitoneal.

NS: não significativo.

*P <0,05, ** P<0,01, *** P<0,0001.

A leptina não se correlacionou com nenhuma adipocina, a adiponectina se correlacionou positivamente apenas com a resistina, que se correlacionou negativamente com IL10 e TNF α . A IL6 apresentou correlação positiva com IL10 e forte correlação positiva com TNF α , que também se correlacionou positivamente com IL10.

Tabela 22 – Coeficientes de correlação entre as leptina, adiponectina, resistina, interleucina 6, interleucina 10 e fator de necrose tumoral

	LEP	ADI	RES	IL6	IL10	TNF α
LEP						
ADI	NS					
RES	NS	0,41***				
IL6	NS	NS	NS			
IL10	NS	NS	-0,24*	0,38**		
TNF α	NS	NS	-0,3**	0,73***	0,45***	

Fonte: (AFFONSO, 2019).

LEP: leptina, RES: resistina, ADI: adiponectina, IL6: interleucina, IL10: interleucina 10, TNF α : fator de necrose tumoral.

NS: não significativo.

*P <0,05, ** P<0,01, *** P<0,0001.

Leptina se correlacionou negativamente com ECC, ECP e positivamente com RET. Já a adiponectina se correlacionou negativamente com ECP e positivamente com RET. IL6 e TNF α se correlacionaram negativamente com EIC. IL10 se correlacionou positivamente com ECP e GAR. O triglicérides apresentou correlação positiva com todas as variáveis relacionadas a gordura, com exceção do RET, já o AGNE, apenas com ECC e ECP e o cortisol apenas com EIC e RETRO. Resistina não se correlacionou com nenhuma variável (Tabela 23).

Tabela 23 – Coeficientes de correlação entre escore de condição corporal, escore de crista de pescoço e gordura subcutânea da garupa, espaço intercostal e retroperitoneal, citocinas inflamatórias, triglicérides, ácidos graxos não esterificados e cortisol

	LEP	ADI	RES	IL6	IL10	TNF α	TG	AGNE	CORTISOL
ECC	-0,22*	NS	NS	NS	NS	NS	0,62***	0,21*	NS
ECP	-0,28**	-0,21*	NS	NS	0,23*	NS	0,48***	0,22*	NS
GAR	NS	NS	NS	NS	0,2*	NS	0,45***	NS	NS
EIC	NS	NS	NS	-0,25*	NS	-0,26*	0,39**	NS	0,2*
RET	0,34**	0,3**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,22*

Fonte: (AFFONSO, 2019).

ECC: escore de condição corporal, ECP: escore de crista de pescoço, GAR: garupa, EIC: espaço intercostal, RET: retroperitoneal, LEP: leptina, RES: resistina, ADI: adiponectina, IL6: interleucina, IL10: interleucina 10, TNF α : fator de necrose tumoral, TG: triglicérides, AGNE: ácidos graxos não esterificados.

NS: não significativo.

*P <0,05, ** P<0,01, *** P<0,0001.

A glicose se correlacionou positivamente com RET, LEP e RES e negativamente com IL6, IL10 e TNF α . Já a insulina se correlacionou positivamente com ECC, GAR e EIC e negativamente com IL6 e TNF α . A ASCg apresentou correlação positiva com ECC e RES e negativa com IL6, IL10 e TNF α . A ASCi se correlacionou positivamente com ECC, ECP, GAR, e EIC, negativamente com IL6 e TNF α . O RISQ teve correlação positiva com IL6 e TNF α e

negativa com ECC, GAR e EIC. Por fim, o MIRG se correlacionou positivamente com ECC, GAR e EIC e negativamente com adiponectina, IL6 e TNF α (Tabela 24).

Tabela 24 – Coeficientes de correlação entre as variáveis

	GLI	INS	ASCg	ASCI	RISQI	MIRG
ECC	NS	0,39**	0,21*	0,45***	-0,28**	0,31**
ECP	NS	NS	NS	0,21*	NS	NS
GAR	NS	0,4***	NS	0,38**	-0,26*	0,3**
EIC	NS	0,34**	NS	0,32**	-0,32**	0,36**
RET	0,21*	NS	NS	NS	NS	NS
LEP	0,22*	NS	NS	NS	NS	NS
ADI	NS	NS	NS	NS	NS	-0,29**
RES	0,2*	NS	0,45***	NS	NS	NS
IL6	-0,28**	-0,3**	-0,26*	-0,32**	0,29**	-0,25**
IL10	-0,35**	NS	-0,31**	NS	NS	NS
TNFα	-0,24*	-0,28**	-0,28**	-0,39**	0,3**	-0,27**
TG	0,35**	0,43***	0,38**	0,49***	-0,4***	0,41***
AGNE	NS	NS	0,23*	0,32**	NS	NS
COR	0,3**	NS	NS	NS	NS	

Fonte: (AFFONSO, 2019).

ECC: escore de condição corporal, ECP: escore de crista de pescoço, GAR: garupa, EIC: espaço intercostal, RET: retroperitoneal, LEP: leptina, ADI: adiponectina, RES: resistina, IL6: interleucina, IL10: interleucina 10, TNF α : fator de necrose tumoral, TG: triglicérides, AGNE: ácidos graxos não esterificados, COR: cortisol, GLI: glicose basal, INS: insulina basal, ASCg: área sob a curva de glicose, ASCi: área sob a curva de insulina, RISQI: inverso da raiz quadrada da insulina, MIRG: razão insulina-glicose modificada.

NS: não significativo.

*P <0,05, ** P<0,01, *** P<0,0001.

2.4 DISCUSSÃO

As éguas lactantes apresentaram menores concentrações de insulina basal, de glicose basal no início da gestação, e de área sob a curva de insulina e glicose durante o teste oral de tolerância à glicose, além de maior sensibilidade à insulina e tolerância à glicose. Ao nosso conhecimento essa é a primeira descrição de perfil, comparação e correlação entre as variáveis condição corporal, adiposidade regional, dinâmica de insulina e glicose, metabolismo de lipídeos e a dinâmica da produção de adipocinas de éguas lactantes e não lactantes nos períodos pré, intra e pós gestacionais.

As éguas lactantes não alteraram as concentrações de glicose ao longo da gestação, assim como observado por Smith et al., 2017, trabalhando com éguas à pasto, ECC entre 6 e 7,

suplementadas com concentrado no final da gestação, ou seja, condições mais próximas ao nosso grupo NL, uma vez que as L, recebiam suplementação no início e obtiveram menor ECC ($5,52 \pm 0,11$). Ainda assim as NL apresentaram maior glicemia que as L até os 110 dias de gestação. Essas diferenças entre os grupos se tornam mais relevantes quando se considera o fato de que até os 170 dias de gestação os dois grupos não recebiam a mesma dieta, uma vez que por conta da lactação, as L eram suplementados com concentrado, enquanto as éguas não lactantes se alimentavam exclusivamente de pasto.

Hiperglicemia é raramente detectada em cavalos com SME porque a maioria dos animais mantém uma resposta pancreática compensatória de insulina devido à RI. No entanto, as concentrações de glicose no sangue são muitas vezes próximas ao limite superior da faixa de referência (110 mg/dL), como observado nos animais NL do presente estudo, indicando perda parcial do controle glicêmico (FRANK et al., 2010; FRANK, 2011). Embora publicações mais recentes indiquem que a mensuração da glicose basal em animais com suspeita de desregulação insulínica é mais indicada para a identificação de casos ocasionais de diabetes mellitus (DURHAM et al., 2019).

Hiperinsulinemia basal, indicativa de RI não foi identificada durante o experimento (>20 mU/L; FRANK et al., 2010; MCCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015), embora éguas NL tenham apresentado maiores valores do que as L, e em comparação com os já observados durante a gestação (SMITH et al., 2017).

Independente do grupo, valores mais baixos de insulina basal foram encontrados aos 21 dias pós-parto em comparação com quase todos os momentos anteriores, com consequência também na ASCi, refletindo a passagem de um perfil anabólico para catabólico, por conta do início da lactação. George et al., 2011 não detectaram diferenças na insulina basal entre éguas prenhes e não prenhes, no entanto, suas avaliações se iniciaram com 25 semanas de gestação (em torno de 175 dias). Smith et al., 2017 observaram maiores níveis de insulina no início da gestação em comparação com as últimas semanas. Em humanos é normal que se observe aumento na concentração basal de insulina na gestação tardia, o que parece ser uma resposta à RI, permitindo aumento no provisionamento de glicose para o feto (BUTTE, 2000). Nós não observamos diferença, porém obtivemos níveis numericamente maiores do que os observados por Smith et al., 2017, ao longo de toda a gestação, ressaltando ainda que esses valores seriam provavelmente maiores, caso não tivéssemos éguas lactantes no grupo experimental.

Testes dinâmicos para avaliação da sensibilidade à insulina são recomendados. Isso porque a insensibilidade tecidual talvez só seja revelada após o desafio do controle glicêmico

(FRANK et al., 2010). Na realização do TOTG, as concentrações de insulina e glicose são mensuradas após um desafio oral com carboidratos, e isso pode aumentar a sensibilidade do teste para a desregulação da insulina, permitindo que as concentrações de glicose e insulina pós-prandiais sejam medidas sob condições controladas, refletindo melhor as respostas de glicose e insulina durante o pastejo (SCHUVER et al., 2014). No TOTG, as concentrações de glicose aos 30 e 60 minutos, não sofreram efeito de tempo, nem de grupo, pois provavelmente a glicose oferecida ainda estava em processo de absorção intestinal (DURHAM et al., 2019), porém foram maiores nas éguas NL do que L, aos 90 e 120 minutos, demonstrando que o retorno aos valores basais é mais demorado nesse grupo.

No pós-parto, os níveis de glicose aos 90 e 120 minutos do TOTG foram menores do que aos 165, 220 e 275 dias de gestação, mostrando tanto redução na sensibilidade à insulina, com menor captação celular de glicose nesse momento da gestação, visando disponibilizar glicose aos tecidos fetoplacentários, como já relatado (GEORGE et al., 2011), como possível mobilização de glicose para a glândula mamária no pós-parto, já observada por outros autores, especialmente durante a lactação inicial, quando parece ocorrer maior *clearance* de glicose no TOTG, com um retorno mais rápido aos valores basais (HOFFMAN et al., 2003).

As concentrações de insulina foram maiores nas éguas NL aos 30, 60 e 90 minutos do TOTG, independente do momento avaliado. Aos 120 minutos, as concentrações foram maiores nas NL em todos os momentos, com exceção dos 220, 330 dias de gestação e 21 dias pós-parto. Considerando a não diferença estatística entre os valores de glicose aos 30 e 60 minutos, a diferença de insulina entre os grupos, observada nesses períodos do TOTG, provavelmente refletem a diferença basal já existente entre eles, independente do desafio glicêmico (xarope de glicose). Vale ressaltar que, aos 220 dias de gestação, quando as concentrações de insulina aos 120 minutos do TOTG se tornaram iguais estatisticamente entre os grupos, estávamos entre os meses de junho e agosto, ou seja, inverno no hemisfério sul, quando ocorre diminuição na oferta e qualidade de pastagem, devido às diferenças no conteúdo de carboidratos não estruturais (BEYTHIEN et al., 2017). Esse fator somado à ausência de suplementação com concentrado em todos os animais nesse período, refletiram em redução na insulinemia no grupo NL e não em um aumento das concentrações de insulina nas L, uma vez que esse grupo não sofreu efeito da gestação. Aos 330 dias de gestação e 21 dias pós-parto, essa similaridade entre os grupos deve ocorrer por conta da produção de colostro, uma vez que, nesse momento, os dois grupos se tornaram metabolicamente similares. Interessantemente nesse momento, todos os animais estavam sendo suplementados com concentrado comercial (a partir dos 250 dias de gestação,

com exceção de uma égua NL) e ainda assim as L apresentaram menores concentrações de insulina.

Autores sugerem aumento na sensibilidade à glicose nas células β pancreáticas durante a gestação, relatando maiores concentrações de insulina entre 150 e 270 dias de gestação, entre 30 e 90 minutos após infusão de glicose, quando comparado aos animais não prenhes e à éguas prenhes próximos à termo, a diferença deixa de existir após os 270 dias de gestação (FOWDEN; COMLINE; SILVER, 1984). Da mesma forma, detectamos maiores concentrações de insulina aos 275 dias de gestação, aos 60 minutos após administração oral de glicose, em comparação com o dia da ovulação e com o início da lactação, e aos 90 minutos em comparação com o dia da ovulação, a gestação inicial (55 a 110 dias) e o início da lactação. Assim como Fowden; Comline; Silver, 1984, as diferenças desaparecem aos 330 dias de gestação. Nossos dados sugerem também maior sensibilidade das células β pancreáticas à glicose aos 275 dias de gestação, porém como a maioria dos trabalhos que realizou teste dinâmico não avaliou os animais antes da gestação e na gestação inicial, encontramos defasagem de dados comparativos. Não encontramos na média hiperinsulinemia equivalente à RI durante o TOTG ($>60 \mu\text{U/mL}$; DURHAM et al., 2019).

A área sob a curva é a melhor avaliação da tolerância à glicose (FRANK et al., 2010). Em relação a ASCg, nossos valores são maiores que os observados por Frank et al., 2010, em cavalos magros ($9,2 \times 10^3 \text{ mg/dL/min}$), porém menores que os observados em cavalos obesos/resistentes à insulina ($15,5 \times 10^3 \text{ mg/dL/min}$). Funk et al., 2012 obtiveram valores similares aos nossos ($10,4 - 13,2 \times 10^3 \text{ mg/dL/min}$), em cavalos saudáveis: sem histórico de laminite e sem sinais de SME. No nosso trabalho, maiores ASCg foram encontradas aos 275 dias de gestação em comparação com 21 dias pós-parto, independente do grupo. Já as ASCi apresentaram o mesmo padrão, porém apenas nas NL, ocorrendo apenas aumento numérico nesse período nas L. Após os 270 dias, o feto ganha aproximadamente 45% do peso final ao nascimento e consequentemente tem uma alta demanda de glicose. A captação uterina de glicose remove 75% dessa demanda da circulação materna, e é dependente exclusivamente do gradiente de concentração entre as circulações materna e fetal através da placenta. O útero gravídico remove a insulina da circulação materna a uma taxa significativa (atribuída a captação e degradação placentária), similar à remoção pelos tecidos periféricos na ausência da gestação, isso contribui significativamente para os requerimentos corpóreos de insulina durante a gestação (SIMMONS; BATTAGLIA; MESCHIA, 1979; FOWDEN; COMLINE; SILVER, 1984; JOHNSON et al., 2009; MORRESEY, 2013). A RI periférica é maior por volta do oitavo

mês de gestação, permitindo máxima utilização dos nutrientes pelo feto (BEYTHIEN et al., 2017), podendo refletir no aumento da ASC de glicose e insulina nesse período. Porém a maior curva nas NL, demonstra redução na sensibilidade à insulina ainda maior nesse grupo, permitindo sugerir que as éguas lactantes estão mais próximas do fisiológico e mais longe do limiar metabólico indicativo de alterações como RI e hiperinsulinemia, que podem levar à laminite, apesar dessas alterações não terem sido observadas. É interessante observar também que no dia da ovulação, a ASCi também era igual entre os grupos, se tornando maior nas NL, a partir dos 55 dias de gestação, sugerindo possível efeito da gestação na liberação pancreática de insulina nesse grupo, embora essa hipótese precise ser melhor elucidada. George et al., 2011 observaram maior ASCi em éguas prenhes entrando em terço inicial, do que em éguas não prenhes, porém apenas em animais que recebiam alimentação rica em amido, não existindo diferença nas que recebiam alimentação a base de fibra e gordura, mostrando que outros fatores podem influenciar as mudanças metabólicas provenientes da gestação, entre eles, a dieta, ou ainda o *status* de lactante durante a gestação inicial, como observado no nosso trabalho.

Os *proxies* identificam propriedades bem estudadas sobre regulação e RI com poder estatisticamente determinado sendo, portanto, superiores a indicações não específicas, como hiperinsulinemia basal e intolerância à glicose. Em cavalos, as células β pancreáticas parecem particularmente resistentes, de modo que, em animais insulinoresistentes, altas concentrações de insulina são comumente observadas. O RISQI (inverso da raiz quadrada da insulina) representa o grau de sensibilidade à insulina, de modo que valores menores que $0,32 \mu\text{U}/\text{mL}^{-0.5}$ sugerem RI. O MIRGI (razão insulina-glicose modificada) representa a habilidade do pâncreas em secretar insulina e valores maiores que $5,6 \text{ mU}_{\text{insulina}}^2 / [10 \cdot \text{L} \cdot \text{mg}_{\text{glicose}}]$ sugerem intolerância à glicose. RISQI e MIRG juntos identificam indivíduos aparentemente saudáveis que estejam compensando a baixa sensibilidade à insulina com o aumento da atividade das células β pancreáticas, determinando se as alterações na tolerância à glicose estão ocorrendo entre a insulina plasmática e o tecido alvo ou se resultam da responsividade alterada das células β (TREIBER et al., 2005b; PRATT; SICILIANO; WALSTON, 2009). Maiores valores de RISQI (maior sensibilidade à insulina) foram encontrados nas coletas realizadas aos 21 dias pós-parto (lactação), quando comparados com os obtidos aos 55, 165 e 220 dias de gestação, demonstrando maior sensibilidade à insulina nesse período. Apesar da ausência de RI propriamente dita ($0,38 \pm 0,03$, aos 220 dias de gestação), os valores são próximos ao limite mínimo para que se considere um animal resistente, ainda mais tratando-se de períodos de baixa qualidade de pastagem, em que as éguas ainda não recebiam suplementação. Considerando a

diferença nos valores de RISQI obtidos entre L e NL em ($0,52 \pm 0,02$; $0,33 \pm 0,02$, respectivamente, $P < 0,0001$), podemos inferir que se não houvésssemos éguas lactantes no grupo experimental, teríamos observado RI durante a gestação. Além disso, visto os baixos valores de RISQI nas éguas NL, podemos supor que se esses animais estivessem obesos (e/ou com presença de adiposidade regional), ou ainda, recebendo suplementação de concentrado durante toda a gestação, ou em maiores quantidades no terço final, poderiam se tornar resistentes à insulina, e portanto, mais suscetíveis à laminite, especialmente nos períodos da gestação em que se observa maior RI, no entanto, essa hipótese deve ser melhor elucidada.

Já os valores de MIRG não mudaram ao longo da gestação, nem em comparação ao dia da ovulação, nem ao pós-parto, estando sempre dentro do considerado normal. No entanto comparando os grupos, independente do tempo, é maior nas éguas NL ($6,09 \pm 0,4$), atingindo valor superior ao normal, sendo considerado intolerância à glicose.

Quanto ao acúmulo de gordura, não obtivemos na média valores indicativos de obesidade ($ECC \geq 7$; HENNEKE et al., 1983), nem de acúmulo de gordura na crista do pescoço, indicativo de SME ($ECP \geq 3$; (CARTER et al., 2009a). A obesidade não vem mais sendo vista como uma causa da SME, tratando-se no entanto, de uma característica comumente associada, que quando presente pode exacerbar a desregulação insulínica (BAMFORD et al., 2014; MCCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015; DURHAM et al., 2019). No nosso trabalho, o ECC foi maior nas éguas NL, assim como a espessura de gordura subcutânea na região da garupa e do espaço intercostal medida por ultrassom, o ECP foi numericamente maior nesse grupo, sem diferença estatística ($P=0,08$). Esses dados revelam que, apesar das éguas lactantes estarem nessa condição em parte do experimento e de receberem suplementação de concentrado nesse período, parece haver maior mobilização de gordura e/ou maior facilidade em manter o escore de condição corporal considerado ideal nesse grupo.

Fradinho et al., 2014 observaram aumento no ECC do nono mês de gestação (aproximadamente 270 dias), ao primeiro mês de lactação. Nós observamos maior ECC no D330, do que no D0 e no 21pp e maior ECP, do D220 ao D330 do que o D0 e o D55. Não observamos diminuição do ECP durante o D21pp, parecendo não ser o pescoço a região preferencial para a mobilização de gordura em momentos de requerimento energético, como a lactação, dado que talvez explique a não diferença estatística do ECP entre L e NL. Martin-Gimenez; Aguirre-Pascasio; de Blas, 2016, não observaram diferença na gordura do pescoço, em nenhum dos três pontos avaliados por ultrassonografia entre animais obesos e não obesos, observando diferença na garupa e no espaço intercostal.

A mensuração da espessura da gordura subcutânea por ultrassonografia é considerada um método para discernir a distribuição de gordura em diferentes regiões do corpo e tem sido proposta, até então, como o método não invasivo mais preciso e objetivo para medir a distribuição de gordura em cavalos vivos (JOHNSON, 2002; MARTIN-GIMENEZ; AGUIRRE-PASCASIO; DE BLAS, 2016). Em humanos, a gordura subcutânea se acumula durante o primeiro e segundo trimestre na gestação normal. Já entre o fim do segundo e início do terceiro, as mensurações começam a diminuir em todos os pontos, uma vez que a gordura é mobilizada para sustentar o crescimento fetal (YILMAZ et al., 2010). Smith et al., 2017, avaliando porcentagem de gordura em éguas obesas, observaram, níveis reduzidos dos 61-120, 181-240 e 301-360 dias de gestação, que eles atribuíram a períodos de estresse metabólico. No nosso trabalho, a espessura de gordura da garupa não se alterou ao longo do tempo, como já relatado por outros autores (GENTRY et al., 2004), que revelam maior variação na gordura subcutânea da cabeça da cauda, da cernelha, não mensurados diretamente no nosso trabalho, e do EIC, que para nós foi maior no D110 do que no D21pp. Essa ausência de variação nessa região, indica que a cobertura de gordura da garupa pode não ser o melhor indicador do ECC em cavalos, especialmente em animais com ECC médio (GENTRY et al., 2004; DUGDALE et al., 2011), embora entre as variáveis relacionadas à mensuração de gordura que se correlacionaram positivamente entre si, a GAR tenha apresentado o maior coeficiente de correlação com ECC (0,72; $P < 0,0001$). Além disso, os nossos animais receberam suplementação de concentrado e aparentemente fêmeas em gestação tardia, alimentadas apenas a pasto perdem condição corporal e mostram maior mobilização de depósitos de gordura, como a garupa (PEUGNET et al., 2016).

Os valores de gordura subcutânea da garupa obtidos em trabalhos comparando animais com alto e baixo ECC, de diversas raças, são menores que os nossos (ECC alto: 0,43 cm; ECC baixo: 0,38 cm; GENTRY et al., 2004). No entanto, os valores de EIC do mesmo trabalho são bem maiores (ECC alto: 1,85 cm; ECC baixo: 0,92 cm), mesmo quando comparado ao maior valor obtido no nosso trabalho (D110; 0,76 cm). Comparando nossos dados com os de outro trabalho com éguas egípcias, que separou os animais entre obesas ($ECC > 7$), moderadas ($ECC > 3$ e ≤ 7) e caquéticas ($ECC \leq 3$), apesar de na média os nossos escores nunca chegarem a 7 (nem durante a gestação, nem entre L e NL), o que seria considerado éguas moderadas e não obesas, a quantidade de gordura da garupa, esteve próxima ou maior do que o observado por eles em éguas obesas ($1,01 \pm 0,05$), sendo muito distante do observado no grupo de éguas moderadas ($0,49 \pm 0,03$; ABO EL-MAATY et al., 2017).

As nossas éguas eram todas Mangalarga Paulista e morfologicamente homogêneas, acreditamos ser uma característica da raça o acúmulo e manutenção de gordura na região da garupa. Observando os dados obtidos em cavalos Andaluz, raça considerada um exemplo de *easy keeper*, ou seja resistência em perder gordura corpórea, sendo especulada como uma raça predisposta ao desenvolvimento de desordens endocrinopáticas (MARTIN-GIMENEZ; AGUIRRE-PASCASIO; DE BLAS, 2016), a gordura subcutânea da garupa e espaço intercostal em animais com $ECC < 7$ foram bem próximos aos nossos ($1,25 \pm 5,52$; $0,69 \pm 0,29$), principalmente nas nossas éguas NL ($1,35 \pm 0,06$; $0,7 \pm 0,04$) e os obtidos em animais com $ECC \geq 7$ foram numericamente maiores que os nossos ($1,7 \pm 9,35$; $8,24 \pm 4,96$). No nosso conhecimento, não existem trabalhos mensurando gordura subcutânea em animais Mangalarga Paulista.

Trabalhos em humanos demonstraram que a mensuração por ultrassonografia da profundidade do tecido adiposo visceral em gestação inicial estava associada com RI nesse período e com a intolerância à glicose na gestação tardia, independente do índice de massa corpórea (DE SOUZA et al., 2014). Em cavalos, o ECP é relatado como a medida mais fortemente correlacionada com ASCi, sugerindo que o seu acúmulo é um fator de risco para a RI em cavalos (FRANK et al., 2006). No nosso caso, o ECP também se correlacionou positivamente com ASCi, porém, entre as mensurações, foi a que apresentou o menor coeficiente de correlação, além de não se correlacionar com as outras variáveis relacionadas à insulina e glicose. ECC, GAR e EIC também se correlacionaram positivamente com ASCi, assim como com insulina e MIRG e negativamente com RISQI, ou seja, quanto mais gordura, maior responsividade das células β pancreáticas à glicose e menor a sensibilidade à insulina. Já o RET não se correlacionou com as variáveis relacionadas ao metabolismo da insulina, apenas com a glicemia basal, o que nos leva a concluir que talvez a gordura acumulada nessa região não tenha tanta influência nesse metabolismo, característica que pode ser representada também pela sua correlação positiva com adiponectina, citocina conhecida por melhorar a sensibilidade à insulina e reduzir inflamação (DURHAM et al., 2019), apesar da também correlação positiva com leptina, conhecida pela relação com RI (FRANK et al., 2006).

Os valores normais de AGNE em cavalos permanecem desconhecidos, porém em muitos estudos, os valores determinados para cavalos em jejum não excedem $0,05 \text{ mmol/L}$ (FRANK; SOJKA; LATOUR, 2002; KEDZIERSKI; KOWALIK, 2009). Assim como no nosso trabalho, Kedzierski; Kusy; Kowalik, 2011 avaliando éguas recém paridas obtiveram valores muito maiores do que os relatados como referência. A insulina é um hormônio anabólico, conhecido

por suprimir a quebra dos triglicérides no tecido adiposo. A RI estimula a hidrólise dos triglicérides resultando em subsequente aumento no AGNE circulante, sendo suas concentração um indicador da degradação de lipídeos no tecido adiposo (AOKI; ISHII, 2012; AUYYUENYONG et al., 2018). A RI fisiológica da gestação facilita o suprimento de glicose para o feto por meio de uma troca na utilização de substrato no tecido materno, de carboidrato para ácidos graxos e da diminuição na utilização de glicose pelos tecidos periféricos (HOFFMAN et al., 2003). Estudos demonstram que éguas gestantes quando comparadas a não gestantes, apresentam maiores níveis de AGNE (WATSON et al. 1992; KEDZIERSKI et al. 2008). No entanto, o aumento nas concentrações de AGNE aos 165 e 275 dias de gestação, apenas nas NL, nos permite sugerir que nesse grupo a RI fisiológica da gestação está mais exacerbada, refletindo em menor sensibilidade à insulina e diminuição na captação celular de glicose. Trabalhos anteriores reportam aumento nas concentrações de AGNE com o desenvolvimento da RI e correlação positiva com ASCi (ETO et al., 2002; FRANK et al., 2006). No nosso trabalho, o AGNE se correlacionou positivamente com ASCg e ASCi.

Houve um aumento nos níveis de triglicérides nas L dos 220 aos 330 dias de gestação, se igualando então aos valores encontrados nas NL, que estavam maiores até o momento, reduzindo aos 21 dias pós-parto, quando todos os animais estavam em lactação. Esse aumento em terço final reflete o catabolismo materno e parece ser um achado normal da gestação, já relatado por Harvey et al., 2005 em éguas em gestação média e tardia com redução após o parto, por Smith et al., 2017 dos 241 aos 300 dias da gestação e em humanos e ratos próximos ao nascimento (LABORDE et al., 1999). A transferência de lipídeos (principalmente triglicérides) pela placenta para o crescimento fetal e para a glândula mamária, visando transferir gordura para ao leite podem induzir a lipólise, ocasionando em transporte de AGNE para o fígado, aumentando a síntese hepática de triglicérides e a superprodução de VLDL (*very low density lipoprotein*, WATSON et al., 1993; ARFUSO et al., 2016). No entanto, nas éguas NL não observamos esse aumento fisiológico da gestação, pois elas apresentaram em todos os momentos (incluindo o D0) valores numéricos maiores que os alcançados pelas lactantes durante o pico de triglicérides. Sabe-se que a RI nos músculos e no tecido adiposo em humanos leva à sobrecarga de ácidos graxos livres no fígado, causando um aumento na síntese de triglicérides e VLDL nos hepatócitos (ERTELT et al., 2014), além de que cavalos e pôneis afetados pela SME normalmente sofrem de hipertrigliceridemia, sendo este um preditor significativo de laminite, com os valores de corte para pôneis estando entre 57-94 mg/dL (FRANK et al., 2006; DURHAM et al., 2019). Os valores encontrados, mesmo nas éguas NL,

não atingiram esse limiar, porém triglicérides se correlacionaram positivamente com glicose, insulina, ASCg, ASCi, MIRG e negativamente com RISQI, nos permitindo inferir que quanto maior as concentrações de triglicérides, maiores as concentrações de insulina e glicose, maior o tempo para retorno aos níveis basais de glicose e insulina após desafio glicêmico, maior a responsividade das células β pancreáticas à glicose e menor a sensibilidade à insulina, sugerindo que as éguas NL estão mais suscetíveis às alterações metabólicas durante a gestação.

Os níveis de triglicérides reduziram nos 21 dias pós-parto nos dois grupos. Harvey et al., 2005 atribuíram o decréscimo observado no pós-parto ao aumento na atividade da lipoproteína lipase relacionado à indução da enzima no tecido mamário, permitindo a síntese da gordura do leite, que apesar de relativamente baixo em éguas (1,3% a 2%), necessita de um aumento no fornecimento para síntese dos lipídeos, sendo os triglicérides um importante nutriente. Em outras espécies, a prolactina promove o mecanismo pelo qual o AGNE é canalizado via VLDL para a glândula mamária (WATSON et al., 1993; HARVEY et al., 2005; AOKI; ISHII, 2012). Apesar disso, a lactação em éguas não está associada com balanço energético negativo. Diferente do observado em outras espécies, as éguas parecem não perder peso e os níveis de glicose permanecem dentro dos valores de referência, não sendo a lactação uma carga metabólica para elas (FOWDEN; COMLINE; SILVER, 1984; SAVIO et al., 1990; HEIDLER et al., 2003; BEYTHIEN et al., 2017). As éguas compensam o gasto energético durante a lactação, principalmente aumentando a ingestão de alimentos, podendo diferenciar de não lactantes na liberação de muitos hormônios metabólicos (DEICHSEL; AURICH, 2005).

Leptina é um hormônio tecidual sintetizado principalmente pelos adipócitos, que regula o metabolismo energético, sendo liberado em grandes quantidades em situações de balanço energético positivo, atuando em receptores no hipotálamo e suprimindo o apetite (FRANK, 2011; KEDZIERSKI; KUSY; KOWALIK, 2011). Redução na leptina no pós-parto, observada em cavalos e pôneis promove a ingestão calórica, protegendo as éguas do balanço energético negativo, permitindo a manutenção de boa condição corporal e o fornecimento adequado de leite. E parece acontecer independente do ECC, podendo ser causada pela perda da placenta, uma vez que esse tecido também produz leptina (HEIDLER et al., 2003; DEICHSEL; AURICH, 2005; BERG; MCNAMARA; KEISLER, 2007; ARFUSO et al., 2016).

Em muitas espécies, incluindo humanos, as concentrações de leptina estão elevadas durante a gestação, como resultado do aumento da síntese pelo tecido materno, estimulada pelas concentrações de estrógeno, além da leptina produzida pelo feto e pela placenta (HEIDLER et al., 2003; HENSON; CASTRACANE, 2006; YILMAZ et al., 2010; EL-DORF et al., 2016).

Em éguas, concentrações mais altas de leptina foram encontradas nas últimas semanas de gestação, diminuindo após o parto e então estabilizando (ROMAGNOLI et al., 2007; BERG; MCNAMARA; KEISLER, 2007; HUFF et al., 2008; FRADINHO et al., 2014). No entanto, alguns trabalhos não relatam este padrão (HEIDLER et al., 2003; ARFUSO et al., 2016; SMITH et al., 2017). Avaliando toda a gestação Smith et al., 2017 observaram aumento apenas do 181-240 dias ($2,9 \text{ ug/L} \pm 0,27$), encontrando valores muito menores do que os nossos, sem detecção de hiperleptinemia em nenhum momento.

Os valores de corte para definir hiperleptinemia variam entre estudos, porém $7,3 \text{ ng/mL}$ parecem prever a ocorrência de laminite em pôneis (CARTER et al., 2009b), enquanto outros estudos definem cavalos com $<5 \text{ ng/mL}$ normoleptinêmicos e com $>12 \text{ ng/mL}$ hiperleptinêmicos (CALTABILOTA et al., 2010). Nós encontramos hiperleptinemia, além de redução nas concentrações de leptina ao longo da gestação, sendo os valores observados a partir dos 165 dias semelhantes aos encontrados 21 dias pós parto. Além disso, as maiores concentrações não coincidem com os momentos de maior acúmulo de gordura. A falta de correlação entre ECC e leptina, como encontrado em animais não gestantes, em alguns trabalhos com éguas prenhes, sugerem que a placenta pode contribuir mais do que o tecido materno durante a gestação (FRADINHO et al., 2014; MCCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015).

Estudos relatam influência da leptina na atividade secretória endócrina do pâncreas em cavalos e associação entre hiperleptinemia e hiperinsulinemia, hiperglicemia e RI em cavalos obesos (FRANK et al., 2006; DALL'AGLIO et al., 2013). No entanto, assim como Menzies-Gow; Harris; Elliott, 2017 trabalhando com pôneis, não encontramos correlação entre as concentrações de leptina e insulina. De modo que os resultados seguem controversos, principalmente durante a gestação.

As concentrações séricas e placentárias de resistina e $\text{TNF}\alpha$ aumentam com o desenvolvimento da gestação, em contraste com os níveis de adiponectina. Esses níveis se correlacionam com o estado de sensibilidade à insulina reduzida desenvolvido frequentemente nos estágios avançados da gestação (ZAVAZA-GÓMEZ et al., 2008; MORRESEY, 2012). No nosso trabalho, a adiponectina, assim como as interleucinas e o $\text{TNF}\alpha$ não se alteraram ao longo do tempo. A resistina foi maior no D110 e D165 do que no D0, D275, D330 e D21pp, coincidindo com os períodos de maiores valores numéricos de espessura de gordura subcutânea (sem diferença estatística) das três regiões avaliadas (GAR, EIC e RETRO), porém sem correlação com nenhum parâmetro. A resistina, assim como a leptina parece estar elevada em indivíduos obesos, representando uma ligação entre obesidade e RI, inibindo a captação de

glicose insulina mediada nos adipócitos, exercendo ação autócrina-parácrina no tecido adiposo (STEPPAN et al., 2001; JOHNSON, 2002). A resistina se correlacionou positivamente com a glicose e com a ASCg, nos permitindo hipotetizar que quanto maior a concentração de resistina, menor a captação celular. Não observamos diferença entre os grupos, apesar de maior valor numérico nas NL. Estudos *in vitro* em adipócitos demonstraram que aumento na expressão de resistina induz aumento de IL6 e TNF α (YUCHANG et al., 2006). Nós não encontramos essa relação nos nossos resultados.

A adiponectina é uma adipocina secretada exclusivamente pelo tecido adiposo, que está inversamente relacionada com a gordura e com a RI, ainda que trabalhos recentes tenham demonstrado não existir correlação entre as concentrações de adiponectina e as medidas morfométricas de obesidade (MENZIES-GOW; HARRIS; ELLIOTT, 2017; DURHAM et al., 2019). Observamos essa relação inversa apenas no ECP, no entanto, estudos relatam que a crista de pescoço parece ser o depósito mais reativo em cavalos, em relação à sinalização inflamatória, apresentando particular importância na produção de mediadores inflamatórios, especialmente IL1 β e IL6 (BURNS et al., 2010; ERTELT et al., 2014). Não encontramos correlação positiva de IL6 com nenhuma variável relacionada à gordura.

A adiponectina apresentou correlação negativa com o MIRG, ou seja, quanto maiores as concentrações de adiponectina, maior a tolerância à glicose (menor responsividade das células β pancreáticas). Além disso, as éguas L apresentaram maior adiponectinemia, independente do tempo avaliado, sabe-se que a adiponectina é conhecida pelo seu potencial anti-inflamatório, sendo considerada um sensibilizador à insulina e que hipoadiponectinemia é apontada como um fator de risco para o desenvolvimento da laminite (DURHAM et al., 2019). No entanto, vale ressaltar que os níveis encontrados nesse trabalho são bem maiores que os observados em animais doentes (2,5 $\mu\text{g/mL}$; MENZIES-GOW; HARRIS; ELLIOTT, 2017).

Em indivíduos obesos, adipócitos necróticos levam ao recrutamento de leucócitos no tecido adiposo, onde os monócitos se tornam macrófagos pró-inflamatórios ativados, que localizados em torno dos adipócitos compreendem a fonte primária das citocinas inflamatórias (TNF α , IL1 β , IL6 e IL12), coordenando a RI (PELUSO; PALMERY, 2015). Apesar de não termos encontrado correlação entre TNF α e adiponectina, ele é responsável pela supressão na sua transcrição, sugerindo seu envolvimento no desenvolvimento da DMG em humanos. As elevadas concentrações de TNF α atuam na diminuição da sensibilidade à insulina por indução de falha pós-receptor (GLUT4), uma vez que a insulina se torna incapaz de mobilizar seus receptores do citoplasma para a membrana celular. Mulheres com DMG apresentam aumento

de TNF α , com sinais de inflamação subclínica (CATALANO, 2010; GALANTINO-HOMER; ENGILES, 2012; VEJRAZKOVA et al., 2014). Foi demonstrado em cavalos, que obesidade e RI também estão associados com elevadas concentrações de TNF α (VICK et al., 2007).

No nosso trabalho, IL6 e TNF α se correlacionaram fortemente (0,73; $P < 0,0001$). Além disso, as concentrações de TNF α foram maiores nas éguas lactantes. Contrapondo com os efeitos relatados na literatura em relação à RI em várias espécies, as duas citocinas se correlacionaram negativamente com glicose, insulina, ASCg, ASCi e MIRG e positivamente com RISQI, traçando um perfil de sensibilidade à insulina, reforçado pela forte correlação de ambas com IL10, que assim como a adiponectina é conhecida por ser um mediador anti-inflamatório (TADROS; FRANK; DONNELL, 2013). Trabalhos em humanos confirmaram a relação entre TNF α e RI fisiológica da gestação, em uma população de 574 mulheres saudáveis e euglicêmicas, com diferentes categorias de escore corporal, ressaltando que a literatura existente investigando a relação entre mediadores inflamatórios e RI tem se concentrado em gestantes obesas e/ou diabéticas (WALSH et al., 2013). Visto o importante papel desempenhado pelo TNF α no mecanismo inflamatório que regula a implantação, a placentação e, eventualmente, o prognóstico da gestação, além da sua secreção não apenas pelas células imunes inatas, mas também pela placenta humana (ALIJOTAS-REIG et al., 2017), podemos concluir que em níveis fisiológicos o TNF α se trata de um mediador necessário para o sucesso da gestação e que muito ainda precisa ser elucidado sobre a fisiologia da gestação em éguas e a influência da lactação.

2.5 CONCLUSÃO

Embora tenhamos observado algumas alterações ocasionadas pela gestação, as diferenças causadas pelo *status* de lactante durante o terço inicial e médio, foram mais significativas. As éguas lactantes apresentam melhor adaptação metabólica à gestação do que as éguas não lactantes, mostrando menores concentrações de insulina e glicose, maior sensibilidade à insulina e maior tolerância à glicose. As éguas NL parecem estar mais próximas ao limite metabólico para que se desenvolva desordens endocrinológicas e mais predispostas ao desenvolvido de laminite durante a gestação, embora essa hipótese deva ser melhor elucidada.

REFERÊNCIAS

ABO EL-MAATY, A. M.; MOHAMED, A. H.; ABU-AITA, N. A.; MORGAN, H. M. Markers for predicting overweight or obesity of broodmares. **Journal of Equine Veterinary Science**, 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0737080617300254>>.

ALIJOTAS-REIG, J.; ESTEVE-VALVERDE, E.; FERRER-OLIVERAS, R.; LLURBA, E.; GRIS, J. M. Tumor necrosis factor-alpha and pregnancy : focus on biologics. an updated and comprehensive review. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v. 53, n. 1, p. 40–53, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s12016-016-8596-x>>.

AOKI, T.; ISHII, M. Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (Heavy Draft Horse). **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 3, p. 170–176, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2011.08.015>>.

ARFUSO, F.; GIANNETTO, C.; RIZZO, M.; FAZIO, F.; GIUDICE, E.; PICCIONE, G. Serum levels of mitochondrial uncoupling protein 1, leptin, and lipids during late pregnancy and the early postpartum period in mares. **Theriogenology**, v. 86, n. 5, p. 1156–1164, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.005>>.

AUYUENYONG, R.; HENZE, A.; UNGRU, J.; SCHWEIGERT, F. J.; RAILA, J.; VERVUERT, I. Determination of lipid profiles in serum of obese ponies before and after weight reduction by using multi-one-dimensional thin-layer chromatography. **Research in Veterinary Science**, v. 117, p. 111–117, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.11.013>>.

BAMFORD, N. J.; POTTER, S. J.; HARRIS, P. A.; BAILEY, S. R. Breed differences in insulin sensitivity and insulinemic responses to oral glucose in horses and ponies of moderate body condition score. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 47, n. 1, p. 101–107, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.domaniend.2013.11.001>>.

BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2804–2819, 1995.

BERG, E. L.; MCNAMARA, D. L.; KEISLER, D. H. Endocrine profiles of periparturient mares and their foals. **Journal of andrology**, v. 85, p. 1660–1668, 2007.

BEYTHIEN, E.; WULF, M.; ILLE, N.; AURICH, J.; AURICH, C. Effects of sex, pregnancy and season on insulin secretion and carbohydrate metabolism in horses. **Animal Reproduction Science**, n. April, p. 0–1, 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378432017303214>>.

BODEN, G. Fuel metabolism in pregnancy and in gestational diabetes mellitus. **Diabetes in Pregnancy**, v. 23, n. 1, p. 1–10, 1996.

BURNS, T. A.; GEOR, R. J.; MUDGE, M. C.; MCCUTCHEON, L. J.; HINCHCLIFF, K. W.; BELKNAP, J. K. Proinflammatory cytokine and chemokine gene expression profiles in subcutaneous and visceral adipose tissue depots of insulin - resistant and insulin - sensitive light breed horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 932–939, 2010.

BUTTE, N. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 1256–1261, 2000.

CALTABILOTA, T.; EARL, L.; THOMPSON, J.; CLAVIER, S.; MITCHAM, P.

Hyperleptinemia in mares and geldings : Assessment of insulin sensitivity from glucose responses to insulin injection. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 9, p. 2940–2949, 2010.

CARTER, R. A.; GEOR, R. J.; S.W., B.; CUBITT, T. A.; HARRIS, P. A. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. **The Veterinary Journal**, v. 179, n. 2, p. 204–210, 2009a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.029>>.

CARTER, R. A.; TREIBER, K. H.; GEOR, R. J.; DOUGLASS, L.; HARRIS, P. A. Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies. **Equine veterinary journal**, v. 41, n. 2, p. 171–8, 2009b. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19418747>>.

CATALANO, P. M. Obesity, insulin resistance, and pregnancy outcome. **Reproduction**, v. 140, n. 3, p. 365–371, 2010.

COVERDALE, J. A.; HAMMER, C. J.; WALTER, K. W. HORSE SPECIES SYMPOSIUM: nutritional programming and the impact on mare and foal. **Journal of Animal Science**, v. 93, p. 3261–3267, 2015.

DALL'AGLIO, C.; MERCATI, F.; PASCUCCI, L.; CECCARELLI, P. Immunolocalization of leptin and its receptor in the pancreas of the horse. **Acta Histochemica**, v. 115, n. 7, p. 757–760, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.acthis.2013.05.008>>.

DE SOUZA, L. R.; KOGAN, E.; BERGER, H.; ALVES, J. G.; LEBOVIC, G.; RETNAKARAN, R.; MAGUIRE, J. L.; RAY, J. G. Abdominal adiposity and insulin resistance in early pregnancy. **J Obstet Gynaecol Can**, v. 36, n. 11, p. 969–975, 2014. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1701-2163\(15\)30409-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1701-2163(15)30409-6)>.

DEICHSEL, K.; AURICH, J. Lactation and lactational effects on metabolism and reproduction in the horse mare. **Livestock Production Science**, v. 98, n. 1–2, p. 25–30, 2005.

DUGDALE, A. H. A.; CURTIS, G. C.; CRIPPS, P. J.; HARRIS, P. A.; ARGO, C. M. Effects of season and body condition on appetite, body mass and body composition in ad libitum fed pony mares. **Veterinary Journal**, v. 190, n. 3, p. 329–337, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.11.009>>.

DURHAM, A. E.; FRANK, N.; MCGOWAN, C. M.; MENZIES-GOW, N. J.; ROELFSEMA, E.; VERVUERT, I.; FEIGE, K.; FEY, K. ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, p. 335–349, 2019.

EL-DORF, A. A.-E.; OSSMAN, A. M. E.; EL-HALWAGY, A. E.-S.; BORG, H. M.; ABD-ELBAR, E. S. Use of serum leptin and insulin hormones levels as predictors of pregnancy outcome in pregnant women with history of recurrent early pregnancy loss. **Middle East Fertility Society Journal**, v. 21, n. 1, p. 36–40, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mefs.2015.08.004>>.

ERTELT, A.; BARTON, A.; SCHMITZ, R. R.; GEHLEN, H. Metabolic syndrome : is equine disease comparable to what we know in humans ? **Endocrine Connections**, v. 3, p. 1–13, 2014.

ETO, K.; YAMASHITA, T.; MATSUI, J.; TERAUCHI, Y.; NODA, M.; KADOWAKI, T. Genetic Manipulations of Fatty Acid Metabolism in β -Cells Are Associated With Dysregulated Insulin. **Diabetes**, v. 51, n. December, p. S414-420, 2002.

EVANS, J. W. Effect of fasting, gestation, lactation and exercise on glucose turnover in horses. **Journal of Animal Science**, v. 33, n. 5, p. 1001–1004, 1971.

FOWDEN, A. L.; COMLINE, R. S.; SILVER, M. Insulin secretion and carbohydrate metabolism during pregnancy in the mare. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 4, p. 239–46, 1984. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6383807>>.

FRADINHO, M. J.; CORREIA, M. J.; GRÁCIO, V.; BLIEBERNICHT, M.; FARRIM, a; MATEUS, L.; MARTIN-ROSSET, W.; BESSA, R. J. B.; CALDEIRA, R. M.; FERREIRA-DIAS, G. Effects of body condition and leptin on the reproductive performance of Lusitano mares on extensive systems. **Theriogenology**, v. 81, n. 9, p. 1214–22, jun. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24613603>>. Acesso em: 25 abr. 2015.

FRANK, N. Equine metabolic syndrome. **Vet Clin Equine**, v. 27, n. 1, p. 73–92, abr. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21392655>>. Acesso em: 25 abr. 2015.

FRANK, N.; ELLIOTT, S. B.; BRANDT, L. E.; KEISLER, D. H. Physical characteristics, blood hormone concentrations, and plasma lipid concentrations in obese horses with insulin resistance. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 228, n. 9, p. 1383–90, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16649943>>.

FRANK, N.; GEOR, R. J.; BAILEY, S. R.; DURHAM, A. E.; JOHNSON, P. J. Equine Metabolic Syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 467–475, 2010. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3040842&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.

FRANK, N.; SOJKA, J.E.; LATOUR, M.A. Effect of withholding feed on concentration and composition of plasma very low density lipoprotein and serum nonesterified fatty acids in horses. **Am J Vet Res**, v. 63, p. 1018–1021, 2002.

FUNK, R. A.; WOOLDRIDGE, A. A.; STEWART, A. J.; BEHREND, E. N.; KEMPPAINEN, R. J.; ZHONG, Q.; JOHNSON, A. K. Seasonal changes in the combined glucose-insulin tolerance test in normal aged horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 4, p. 1035–1041, 2012.

GALANTINO-HOMER, H. L.; ENGILES, J. B. Insulin resistance and laminitis in broodmares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 10, p. 680–688, out. 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0737080612007344>>. Acesso em: 4 maio. 2015.

GENTRY, L. R.; THOMPSON, D. L.; GENTRY, G. T.; DEL VECCHIO, R. P.; DAVIS, K. A.; DEL VECCHIO, P. M. The relationship between body condition score and ultrasonic fat measurements in mares of high versus low body condition. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, n. May, p. 198–203, 2004.

GEORGE, L. A.; STANIAR, W. B.; CUBITT, T. A.; TREIBER, K. H.; HARRIS, P. A.; GEOR, R. J. Evaluation of the effects of pregnancy on insulin sensitivity, insulin secretion, and glucose dynamics in Thoroughbred mares. **American Journal of Veterinary Research**, v. 72, n. 5, p. 666–674, 2011.

HARVEY, J. W.; PATE, M. G.; KIVIPELTO, J.; ASQUITH, R. L. Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 3, p. 248–254, 2005.

HEIDLER, B.; PARVIZI, N.; SAUERWEIN, H.; BRUCKMAIER, R. M.; et al. Effects of

lactation on metabolic and reproductive hormones in Lipizzaner mares. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 25, p. 47–59, 2003.

HENNEKE, D. R.; POLTER, G. D.; KREIDER, J. L.; YEATES, B. F. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 15, n. 4, p. 371–376, 1983.

HENSON, M. C.; CASTRACANE, V. D. Leptin in pregnancy: an update. **Biology of Reproduction**, v. 74, p. 218–229, 2006.

HOFFMAN, R. M.; KRONFELD, D. S.; COOPER, W. L.; HARRIS, P. A. Glucose clearance in grazing mares is affected by diet, pregnancy, and lactation. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 7, p. 1764–1771, 2003.

HUFF, N. K.; THOMPSON, D. L.; GENTRY, L. R.; DEPEW, C. G. Hyperleptinemia in Mares: Prevalence in Lactating Mares and Effect on Rebreeding Success. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 10, p. 579–586, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2008.08.008>>.

JOHNSON, C. A. Glucose homeostasis during canine pregnancy: Insulin resistance, ketosis, and hypoglycemia. **Theriogenology**, v. 70, n. 9, p. 1418–1423, 2008.

JOHNSON, P. J. The equine metabolic syndrome Peripheral Cushing's syndrome. **The Veterinary Clinics Equine Practice**, v. 18, p. 271–293, 2002.

JOHNSON, P. J.; MESSER IV, N. T.; GANJAM, S. K.; WIEDMEYER, C. E. Pregnancy-Associated Laminitis in Mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 29, n. 1, p. 42–46, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2008.11.009>>.

KANE, R. A.; FISHER, M.; PARRETT, D.; LAWRENCE, L. M. Estimating fatness in horses. **Proc 10th Equine Nutr Physiol Symp**, p. 127–131, 1987.

KEDZIERSKI W.; KAPICA M.; KOLSTRUNG R.; PLUTA M. Concentrations of plasma leptin, ghrelin and parameters of lipid metabolism in purebred Arabian and pony mares during the periparturient period. **Med Weter**, v. 64, p. 427–430, 2008.

KEDZIERSKI W.; KOWALIK S. Leptin and ghrelin and the indices of lipid metabolism as related to sex steroid hormones in trotters. **J Equine Vet Sci**, v. 29, p. 17–23. 2009.

KEDZIERSKI, W.; KUSY, R.; KOWALIK, S. Plasma leptin level in hyperlipidemic mares and their newborn foals. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 46, p. 275–280, 2011.

LABORDE J. B.; WALL K. S.; BOLON B. et al. Haematology and serum chemistry parameters of the pregnant rat. **Lab Anim**, v. 33, p. 275–287, 1999.

LEMES, K. M.; SILVA, L. A.; ALONSO, M. A.; CELEGHINI, E. C. C.; PUGLIESI, G.; CARVALHO, H. F.; AFFONSO, F. J.; SILVA, D. F.; LEITE, T. G. Uterine Vascular Perfusion and Involution During the Postpartum Period in Mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 51, p. 61–69, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2016.10.010>>.

LETURQUE, A., S.; HUGUEL, P. F.; GIRARD, J. Glucose metabolism in pregnancy. **Biology of the Neonate**, v.51, p.64–69, 1987.

MARTIN-GIMENEZ, T.; AGUIRRE-PASCASIO, C. N.; DE BLAS, I. Ultrasonographic assessment of regional fat distribution and its relationship with body condition in an easy

keeper-horse breed. **Journal of Equine Veterinary Science**, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0737080615300356>>.

MCCUE, M. E.; GEOR, R. J.; SCHULTZ, N. Equine metabolic syndrome: a complex disease influenced by genetics and the environment. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, n. 5, p. 367–375, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2015.03.004>>.

MENZIES-GOW, N. J.; HARRIS, P. A.; ELLIOTT, J. Prospective cohort study evaluating risk factors for the development of pasture-associated laminitis in the United Kingdom. **Equine Veterinary Journal**, v. 49, p. 300–306, 2017.

MORRESEY, P. Metabolic Syndrome in the Pregnant Mare. **AEEP Proceedings**, v. 58, p. 339–344, 2012.

MORRESEY, P. R. Metabolic diseases - do we really know if they affect reproduction? In: Proceedings of the Society for Theriogenology 2013 Annual Conference, **Anais... Clinical Theriogenology**, 2013.

PÉRE, M. C.; ETIENNE, M.; DOURMAD, J.Y. Adaptations of glucose metabolism in multiparous sows: Effects of pregnancy and feeding level. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2933–2941, 2000.

PETTERSON, J. A.; DUNSHEA, F. R.; EHRHARDT, R. A.; BELL, A. W. Pregnancy and undernutrition alter glucose metabolic responses to insulin in sheep. **Journal of Nutrition**, v.124, p.1286–1295, 1993

PEUGNET, P.; ROBLES, M.; WIMEL, L.; TARRADE, A.; CHAVATTE-PALMER, P. Management of the pregnant mare and long-term consequences on the offspring. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 99–109, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.01.028>>.

PRATT, S. E.; SICILIANO, P. D.; WALSTON, L. Variation of insulin sensitivity estimates in horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 29, n. 6, p. 507–512, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2009.04.194>>.

ROMAGNOLI, U.; MACCHI, E.; ROMANO, G.; MOTTA, M.; ACCORNERO, P.; BARATTA, M. Leptin concentration in plasma and in milk during the interpartum period in the mare. **Animal Reproduction Science**, v. 97, n. 1–2, p. 180–185, 2007.

SAVIO J. D.; BOLAND M. P.; HYNES N.; ROCHE J. F. Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. **J Reprod Fertil**, v. 88, p. 569–579, 1990.

SCHUVER, A.; FRANK, N.; CHAMEROY, K. A.; ELLIOTT, S. B. Assessment of insulin and glucose dynamics by using an oral sugar test in horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 4, p. 465–470, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2013.09.006>>.

SIMMONS, M.; BATTAGLIA, F.; MESCHIA, G. Placental transfer of glucose. **Journal of Developmental Physiology**, v. 1, p. 227–243, 1979.

SMITH, S.; MARR, C. M.; DUNNETT, C.; MENZIES-GOW, N. J. The effect of mare obesity and endocrine function on foal birthweight in Thoroughbreds. **Equine Veterinary Journal**, v. 49, n. 4, p. 461–466, 2017.

STEPPAN, C. M.; BAILEY, S. T.; BHAT, S.; BROWN, E. J.; BANERJEE, R. R.; WRIGHT, C. M.; PATEL, H. R.; AHIMA, R. S.; LAZAR, M. A. The hormone resistin links obesity to

diabetes. **Nature**, v. 409, n. 18, p. 307–312, 2001.

TADROS, E. M.; FRANK, N.; DONNELL, R. L. Effects of equine metabolic syndrome on inflammatory responses of horses to intravenous lipopolysaccharide infusion. **American Journal of Veterinary Research**, v. 74, n. 7, p. 1010–1019, 2013.

TREIBER, K. H.; KRONFELD, D. S.; HESS, T. M.; BOSTON, R. C.; HARRIS, P. a. Use of proxies and reference quintiles obtained from minimal model analysis for determination responsiveness in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 12, 2005.

VEJRAZKOVA, D.; VCELAK, J.; VANKOVA, M.; LUKASOVA, P.; BRADNOVA, O.; HALKOVA, T.; KANCHEVA, R.; BENDLOVA, B. Steroids and insulin resistance in pregnancy. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 139, p. 122–129, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2012.11.007>>.

VICK, M. M.; ADAMS, A.A.; MURPHY, B. a; SESSIONS, D. R.; HOROHOV, D. W.; COOK, R. F.; SHELTON, B. J.; FITZGERALD, B. P. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. **Journal of animal science**, v. 85, n. 5, p. 1144–55, maio 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17264235>>. Acesso em: 25 abr. 2015.

WALSH, J. M.; MCGOWAN, C. A.; BYRNE, J. A.; RATH, A.; MCAULIFFE, F. M. The association between TNF- α and insulin resistance in euglycemic women. **Cytokine**, v. 64, n. 1, p. 208–212, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2013.07.001>>.

WATSON T. D.; BURNS L.; LOVE S.; PACKARD C. J.; SHEPERD J. Plasma lipids, lipoproteins and post-heparin lipases in ponies with hyperlipaemia. **Equine Vet J**, v. 24, p. 341–346, 1992.

WATSON, T. D. G.; BURNS, L.; PACKARD, C. J.; SHEPHERD, J. Effects of pregnancy and lactation on plasma lipid and lipoprotein concentrations, lipoprotein composition and post-heparin lipase activities in Shetland pony mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 97, p. 563–568, 1993.

YILMAZ, O.; KUCUK, M.; ILGIN, A.; DAGDELEN, M. Assessment of insulin sensitivity/resistance and their relations with leptin concentrations and anthropometric measures in a pregnant population with and without gestational diabetes mellitus. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 24, n. 2, p. 109–114, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2009.01.006>>.

YUCHANG, F.; LIEHONG, L.; NANLAN, L.; TIMOTHY, W. Proinflammatory cytokine production and insulin sensitivity regulated by overexpression of resistin in 3T3-L1 adipocytes. **Nutrition & Metabolism**, v. 3, n. 28, p. 1–10, 2006.

ZAVALZA-GÓMEZ, A. B.; ANAYA-PRADO, R.; RINCÓN-SÁNCHEZ, A. R.; MORA-MARTÍNEZ, J. M. Adipokines and insulin resistance during pregnancy. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 80, n. 1, p. 8–15, 2008.

3 INFLUÊNCIA DA LACTAÇÃO DURANTE A GESTAÇÃO INICIAL NA CURVA DE CRESCIMENTO, METABOLISMO E PRODUÇÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS EM POTROS

3.1 INTRODUÇÃO

A nutrição durante a vida fetal vem sendo reportada como um fator significativo na saúde, crescimento e performance em equinos, podendo influenciar também o desenvolvimento dos sistemas de controle de insulina e glicose do feto (GEORGE et al., 2009; MORLEY; MURRAY, 2014).

A maioria das recomendações nutricionais indica que se alimente éguas gestantes em níveis energéticos de manutenção até os 5 meses de gestação e, subsequentemente, aumente os níveis de energia visando atender às crescentes demandas fetais (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2007; CHAVATTE-PALMER; PEUGNET; ROBLES, 2017). Alguns estudos (GEORGE et al., 2009; HAMMER et al., 2011) indicam que quando a nutrição materna é alterada via suplementação com concentrado, maiores concentrações de insulina são necessárias para manter euglicemia na égua, podendo ocasionar uma reprogramação metabólica do potro. Alguns autores ainda sugerem que a condição “*easy keeper*” (animais obesos e/ou difíceis de perder peso) pode resultar dessa programação metabólica intrauterina (SATTERFIELD; COVERDALE; WU, 2010).

Da mesma forma, a suscetibilidade à SME, ou seja, um conjunto de fatores de risco para o desenvolvimento de laminite endocrinopática, cuja característica consistente é a desregulação insulínica (FRANK; TADROS, 2014; DURHAM et al., 2019), pode ser definida antes do nascimento (JOHNSON, 2002; FRANK et al., 2010). Essas alterações epigenéticas afetam a performance de descendentes e podem ser transmitidas à próxima geração (COVERDALE; HAMMER; WALTER, 2015).

Comparado às outras espécies de produção, o feto equino torna-se maduro durante a gestação mais tardia, sendo então menos capaz de realizar os processos de desaminação e gliconeogênese (COVERDALE; HAMMER; WALTER, 2015). Por essa razão, para a sua sobrevivência e desenvolvimento, ele é altamente dependente dos níveis sanguíneos maternos de nutrientes como a glicose e da sua transferência placentária. Por essa característica, a captação umbilical e o consumo uterino-placentário de glicose são altos, fazendo com que o feto equino seja provavelmente mais suscetível aos efeitos adversos da alteração nutricional

materna, particularmente na gestação tardia (COVERDALE; HAMMER; WALTER, 2015).

Qualquer condição que afete o estado metabólico ou endócrino da égua pode influenciar a circulação uterina, afetando o ambiente fetal (BUCCA, 2006; COVERDALE; HAMMER; WALTER, 2015). Essa ação recíproca do ambiente materno com o genótipo fetal, contribui ativamente para as características pós-natais do potro como altura, peso, conformação corporal, resposta imune, metabolismo energético, *status* osteoarticular e funções tireoideanas, adrenais e cardiovasculares (FERNANDES et al., 2014; PEUGNET et al., 2016). No entanto, o quanto as modificações epigenéticas controlam o desenvolvimento inicial do potro ainda não está elucidado (PEUGNET et al., 2016).

Especula-se que problemas ortopédicos possam estar associados com altas concentrações de glicose após a alimentação, resultando na supressão da regulação central da secreção de GH e subsequente rompimento do eixo GH / IGF-1. Está bem documentado que IGF-1, GH e insulina são afetados pela nutrição (GLADE, 1986; SCANLON; ISSA; DIEGUEZ, 1996; ROPP; RAUB; MINTON, 2003). Observações epidemiológicas mostraram que potros nascidos de fêmeas alimentadas com concentrado durante a gestação apresentam mais chances de desenvolver lesões de osteocondrose em comparação com potros nascidos de mães alimentadas somente com forragem (HEYDEN et al., 2013; PEUGNET et al., 2015; CHAVATTE-PALMER; PEUGNET; ROBLES, 2017).

Trabalhos anteriores no nosso grupo observaram pela primeira vez, que as éguas lactantes concomitantemente ao início da próxima gestação apresentaram menor glicemia, menor insulinemia, além de maior sensibilidade à insulina e tolerância à glicose, parecendo ser menos suscetíveis as adaptações metabólicas ocasionadas pela gestação. Nesse contexto nosso trabalho teve como objetivo comparar o crescimento, o metabolismo de insulina, glicose e carboidratos, além da produção de citocinas inflamatórias, osteocalcina e IGF-1 em potros provenientes de éguas lactantes e não lactantes, do 1º ao 28º dia de vida.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda Santa Rita II, localizada no município de Piracaia-SP, latitude 23° 03' 14" S longitude 46° 21' 29", durante as estações reprodutivas de 2017/2018 e 2018/2019. Devido à estacionalidade reprodutiva da espécie, as coletas ocorreram entre os meses de outubro e janeiro.

3.2.1 Animais

Foram utilizados 12 potros normais, sendo 8 machos e 4 fêmeas, provenientes de eutocia, filhos de éguas Mangalarga Paulista com 5 a 15 anos de idade, saudáveis, sem histórico de laminite e endocrinopatias. Do dia da ovulação, até no máximo 170 dias de gestação (124 a 170), 5 dessas éguas estavam lactando. As outras 7 éguas não ficaram gestantes na estação anterior.

As éguas foram mantidas à pasto (*Tifton*), recebendo água e sal *ad libitum*. As éguas do grupo EL foram suplementadas com 1 kg de concentrado comercial isoproteico e isoenergético (NRC, 2007), uma vez ao dia, até o desmame. E todas receberam essa suplementação a partir dos 250 dias de gestação, com exceção de uma das éguas do grupo ENL, que devido ao escore de condição corporal elevado durante todo o experimento não foi suplementada, ficando apenas sob regime de pasto. O concentrado era composto por 15% de proteína bruta, 5% de extrato etéreo, 12% de fibra bruta, 12% de matéria mineral, 1,6% de cálcio e 0,5% de fósforo e energia digestível de 3230 kcal/kg.

Dos 55 e 330 dias de gestação as éguas foram avaliadas quanto ao escore de condição corporal (ECC, Henneke et al. (1983), que varia de 1 (muito magra) a 9 (obesa) e escore relativo à crista do pescoço (*cresty neck*, ECP), que é graduado de 1 a 5 (CARTER et al., 2009), considerando-se a média obtida entre a pontuação atribuída por três avaliadores previamente treinados. Foram ainda realizadas coletas de sangue pela manhã (08-10 horas), após jejum noturno de feno e concentrado para análise de glicose, insulina, triglicérides, ácidos graxos não esterificados (AGNE), cortisol, leptina, resistina, adiponectina, interleucina 6 (IL6), interleucina 10 (IL10) e fator de necrose tumoral (TNF α).

As avaliações dos potros e coletas de sangue foram realizadas no dia seguinte ao nascimento e aos 7, 14, 21 e 28 dias de idade.

3.2.2 Mensurações

Nos dias estabelecidos (1, 7, 14, 21 e 28 dias), os potros foram pesados, com auxílio da fita de pesagem e foram mensurados os perímetros torácicos, de canela e a altura, com auxílio de fita métrica, com os potros apoiados em piso de concreto nivelado. Foi realizada ultrassonografia subcutâneas das regiões da garupa, espaço intercostal e retroperitoneal para avaliação de gordura subcutânea, porém não houve detecção de gordura em nenhuma avaliação.

3.2.3 Coletas e Análises laboratoriais

Foram realizadas coletas de sangue pela manhã (08-10:00 horas), por meio de punção da veia jugular, em tubos com e sem anticoagulante para análise de glicose e insulina basais, triglicérides, ácidos graxos não esterificados (AGNE), cortisol, leptina, resistina, adiponectina, interleucina 6 (IL6), interleucina 10 (IL10), fator de necrose tumoral (TNF α), osteocalcina e fator de crescimento tipo insulina 1 (IGF-1). As amostras foram centrifugadas 30 minutos após a coleta por 30 minutos, a 3000g. O plasma e o soro foram aliquotados e armazenados a -20°C.

A avaliação das concentrações sanguíneas de glicose, triglicérides e ácidos graxos não esterificados (AGNE) foi realizada no Laboratório da Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ - USP) utilizando analisador bioquímico automático (RX Daytona), com auxílio de kits específicos da Randox[®] (glicose: GL3815, triglicérides: TR3823, AGNE: FA115), as análises de cortisol e insulina feitas por radioimunoensaio com a utilização de kits específicos (cortisol: 07-221105, MPBio[®] e insulina: PI-12K, Millipore[®]) no Laboratório de Endocrinologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária – UNESP, Araçatuba e as análises de leptina, adiponectina, resistina, osteocalcina e IGF-1 por ELISA (leptina: CBS-ELO012870HO, Cusabio[®]; adiponectina: MBS081354, Mybio[®]; resistina: MBS015038, Mybio[®]; osteocalcina: MBS282432, Mybio[®] e IGF-1: CBSELO11086hO, Cusabio[®]), IL6, IL10, TNF α por kit de imunoensaio Luminex[®] (EQCYTMAG-93K-03, Millipore[®]) no laboratório comercial LEAC - Laboratório Especializado em Análises Científicas (São Paulo - SP).

3.2.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados pelo programa SAS, versão University Edition 3.7.1 (SAS, 2017). As premissas normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias foram previamente testadas e quando necessárias foram realizadas as devidas transformações e retirada de *outliers*. Os potros foram divididos em dois grupos, de acordo com a condição reprodutiva materna no início da gestação, sendo eles EL (potros nascidos de éguas lactantes, n=7) e ENL (potros nascidos de éguas não lactantes, n=5). As variáveis: peso, altura, perímetro torácico (TOR), perímetro de canela (CAN), insulina, glicose, cortisol, triglicérides, ácidos graxos não esterificados (AGNE), leptina, adiponectina, resistina, IL6, IL0, TNF α , osteocalcina e IGF-1 foram analisadas pelo PROC MIXED, utilizando arranjo fatorial, sendo considerados

como fatores, o grupo e o tempo (D1, D7, D14, D21 e D28), além da interação entre eles. O nível de significância considerado foi de 5%. As variáveis que apresentaram efeito significativo foram submetidas ao teste LSD. As variáveis peso, CAN, TOR e adiponectina não respeitaram as premissas e então foram submetidas ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, não sendo analisado o efeito da interação grupo x tempo nessas variáveis.

Avaliamos a correlação entre as variáveis maternas e neonatais com os testes de correlação de Pearson e de Spearman para variáveis paramétricas e não paramétricas, respectivamente.

3.3 RESULTADOS

Os dados referentes as éguas dos 110 aos 330 dias de gestação estão demonstrados na tabela abaixo (Tabela 25).

Tabela 25 - Médias $\pm$ erros padrão das éguas dos 110 aos 330 dias de gestação

	EL					ENL				
	D110	D165	D220	D275	D330	D110	D165	D220	D275	D330
ECC	5,09 $\pm$ 0,35	5,33 $\pm$ 0,32	6,04 $\pm$ 0,3	6,04 $\pm$ 0,3	6,23 $\pm$ 0,24	6,86 $\pm$ 0,44	6,93 $\pm$ 0,37	6,86 $\pm$ 0,42	7,13 $\pm$ 0,4	7,26 $\pm$ 0,37
ECP	0,76 $\pm$ 0,17	0,85 $\pm$ 0,14	1,28 $\pm$ 0,16	1,23 $\pm$ 0,24	1,23 $\pm$ 0,24	1 $\pm$ 0,38	1,2 $\pm$ 0,22	1,46 $\pm$ 0,16	1,46 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,24
GLI (mg/dL)	81,28 $\pm$ 2,84	85,71 $\pm$ 2,05	84,28 $\pm$ 2,23	85,57 $\pm$ 3,32	85 $\pm$ 2,16	90,6 $\pm$ 1,56	88 $\pm$ 2,28	83,8 $\pm$ 2,35	83,6 $\pm$ 1,8	86 $\pm$ 3,96
INS (μ U/mL)	3,57 $\pm$ 0,59	5,01 $\pm$ 0,91	6 $\pm$ 1,32	5,33 $\pm$ 1,3	3,64 $\pm$ 0,84	17,81 $\pm$ 3,34	8,54 $\pm$ 1,24	11,33 $\pm$ 2,55	11,08 $\pm$ 2,93	12,51 $\pm$ 3,03
TG (mg/dL)	17,58 $\pm$ 1,81	28,32 $\pm$ 2,96	34,38 $\pm$ 3,9	34,61 $\pm$ 4,95	46,58 $\pm$ 5,56	48,8 $\pm$ 3,95	52,84 $\pm$ 3,76	43,9 $\pm$ 5,59	46,4 $\pm$ 5,62	43,54 $\pm$ 5,93
AGNE (mmol/dL)	0,24 $\pm$ 0,02	0,22 $\pm$ 0,03	0,3 $\pm$ 0,05	0,31 $\pm$ 0,03	0,3 $\pm$ 0,06	0,26 $\pm$ 0,04	0,39 $\pm$ 0,05	0,38 $\pm$ 0,06	0,62 $\pm$ 0,07	0,41 $\pm$ 0,05
COR (μ g/dL)	1,73 $\pm$ 0,23	1,35 $\pm$ 0,11	1,03 $\pm$ 0,13	1,15 $\pm$ 0,25	1,74 $\pm$ 0,47	1,85 $\pm$ 0,08	1,62 $\pm$ 0,15	1,42 $\pm$ 0,23	0,75 $\pm$ 0,18	1,3 $\pm$ 0,28
RES (ng/mL)	73,36 $\pm$ 9,86	74,38 $\pm$ 6,9	63,75 $\pm$ 1,69	53,2 $\pm$ 1,342	46,34 $\pm$ 1,044	75,27 $\pm$ 7,77	103,39 $\pm$ 6,57	71,78 $\pm$ 1,679	56,18 $\pm$ 1,91	41,23 $\pm$ 1,727
LEP (ng/mL)	12,62 $\pm$ 1,67	7,82 $\pm$ 0,65	9,97 $\pm$ 1,08	9,85 $\pm$ 0,65	8,28 $\pm$ 1,67	12,18 $\pm$ 1,72	8,02 $\pm$ 1,12	7,69 $\pm$ 0,52	8,58 $\pm$ 1,09	7,47 $\pm$ 1,66
ADI (μ g/mL)	14,64 $\pm$ 2,23	14,89 $\pm$ 2,99	10,86 $\pm$ 1,81	9,41 $\pm$ 1,7	11,57 $\pm$ 2,49	11,35 $\pm$ 3,84	10,72 $\pm$ 2,98	9,52 $\pm$ 3,91	12,23 $\pm$ 3,75	9,12 $\pm$ 2,49
IL6 (pg/mL)	17,06 $\pm$ 4,23	16,12 $\pm$ 4,59	13,94 $\pm$ 3,64	18,31 $\pm$ 4,68	15,45 $\pm$ 2,58	10,73 $\pm$ 3,4	11,67 $\pm$ 2,76	14,02 $\pm$ 2,6	17,14 $\pm$ 5,62	16,34 $\pm$ 4,78
IL10 (pg/mL)	62,3 $\pm$ 5,13	46,1 $\pm$ 1,02	41,41 $\pm$ 1,037	67,86 $\pm$ 13,3	67,32 $\pm$ 1,463	43,01 $\pm$ 7,49	49,53 $\pm$ 1,373	39,42 $\pm$ 8,29	54,31 $\pm$ 1,051	70,39 $\pm$ 7,28
TNFα (pg/mL)	6,98 $\pm$ 1,84	6,51 $\pm$ 2,06	5,21 $\pm$ 1,88	8,12 $\pm$ 1,57	7,1 $\pm$ 2,3	2,23 $\pm$ 0,5	2,95 $\pm$ 0,47	3,96 $\pm$ 0,58	4,75 $\pm$ 0,78	5,61 $\pm$ 0,89

Fonte: (AFFONSO, 2019).

EL: potros nascidos de éguas lactantes, ENL: potros nascidos de éguas não lactantes, D0: dia da ovulação, D55: 55 dias de gestação, D110: 110 dias de gestação, D165: 165 dias de gestação D275: 275 dias de gestação, D330: 330 dias de gestação, ECC: escore de condição corporal, ECP: escore de crista de pescoço, GLI: glicose,

INS: insulina, TG: triglicérides, AGNE: ácidos graxos não esterificados, COR: cortisol, RES: resistina, LEP: leptina, ADI: adiponectina, IL6: interleucina, IL10: interleucina 10, TNF α : fator de necrose tumoral.

3.3.1 Mensurações

Não houve efeito tempo x grupo. Todas as variáveis sofreram efeito do tempo. O peso foi maior no D21 e D28; e os tempos D1, 7 e 14 diferiram entre si. A altura foi maior no D21 e D28, no D21 foi igual ao D14, sendo maior que o D1 e D7, que diferiram entre si. O perímetro torácico foi maior no D28, no D14 e D21 não houve diferença. Os dois tempos diferiram de D7, que diferiram entre si. O perímetro de canela foi maior no D28 em comparação ao D1, D7 e D14 (Tabela 25). Todas as características foram menores nos potros de ENL do que nos de EL (Tabela 26).

Tabela 26 - Médias $\pm$ erros padrão das mensurações ao longo do tempo

	TEMPOS					P
	D1	D7	D14	D21	D28	
PESO (kg)	50,58 $\pm$ 2,63 ^d	60,6 $\pm$ 2,49 ^c	72,25 $\pm$ 2,44 ^b	81,16 $\pm$ 2,87 ^a	90,16 $\pm$ 3,02 ^a	<0,0001
ALTURA (cm)	100,45 $\pm$ 1,06 ^d	103,95 $\pm$ 1,09 ^c	107,25 $\pm$ 0,94 ^b	109,25 $\pm$ 1,09 ^{ab}	111,45 $\pm$ 1,13 ^a	<0,0001
TOR (cm)	83,25 $\pm$ 2,15 ^c	87,12 $\pm$ 1,56 ^c	93,25 $\pm$ 1,09 ^b	95,7 $\pm$ 1,03 ^b	98,5 $\pm$ 1,03 ^a	<0,0001
CAN (cm)	11,5 $\pm$ 0,25 ^{bc}	11,33 $\pm$ 0,29 ^c	11,81 $\pm$ 0,25 ^{bc}	12,12 $\pm$ 0,24 ^{ab}	12,35 $\pm$ 0,22 ^a	0,02

Fonte: (AFFONSO, 2019).

TOR: perímetro torácico, CAN: perímetro de canela, D1: 1 dia pós-parto, D7: 7 dias pós-parto, D14: 14 dias pós-parto, D21: 21 dias pós-parto, D28: 28 dias pós-parto.

Tabela 27 - Médias $\pm$ erros padrão das mensurações entre os grupos

	TEMPOS		P
	EL	ENL	
PESO (kg)	76,75 $\pm$ 2,54	62,29 $\pm$ 3,18	0,002
ALTURA (cm)	107,7 $\pm$ 0,76	104,62 $\pm$ 1,19	0,004
TOR (cm)	94,01 $\pm$ 0,9	87,89 $\pm$ 1,75	0,006
CAN (cm)	12,05 $\pm$ 0,14	11,47 $\pm$ 0,19	0,03

Fonte: (AFFONSO, 2019).

TOR: perímetro torácico, CAN: perímetro de canela, EL: potros nascidos de éguas lactantes, ENL: potros nascidos de éguas não lactantes.

3.3.2 Análises laboratoriais

Nenhuma variável avaliada apresentou efeito de interação. Insulina, glicose, triglicérides e cortisol se alteraram ao longo do tempo. As concentrações de insulina foram menores no D1 e iguais nos outros tempos. Glicose foi menor no D28, que se igualou ao D21, sendo igual aos outros tempos. Já o triglicérides foi maior no D1 e no D7, no D14 se igualou a esses tempos e ao D21 e no D28 foi menor que aos outros tempos, sendo igual ao D21. O cortisol foi maior no D1 e menor em todos os outros tempos (Tabela 25). Em relação aos grupos, as concentrações de IGF-1 foram maiores no grupo ENL (Tabela 26).

Tabela 28 - Médias $\pm$ erros padrão das análises laboratoriais ao longo do tempo

	TEMPOS					P
	D1	D7	D14	D21	D28	
INS (μ U/mL)	3,82 $\pm$ 0,27 ^b	6,28 $\pm$ 0,59 ^a	7,89 $\pm$ 0,98 ^a	6,97 $\pm$ 0,69 ^a	5,87 $\pm$ 0,88 ^a	0,002
GLI (mg/dL)	144,83 $\pm$ 5,27 ^a	148,33 $\pm$ 3,96 ^a	147,25 $\pm$ 4,27 ^a	140,25 $\pm$ 3,04 ^{ab}	133,33 $\pm$ 3,75 ^b	0,02
TG (mg/dL)	72,64 $\pm$ 21,95 ^a	65,59 $\pm$ 8,38 ^a	51,92 $\pm$ 7,73 ^{ab}	41 $\pm$ 3,47 ^{bc}	34,05 $\pm$ 2,84 ^c	0,005
AGNE (mmol/dL)	0,65 $\pm$ 0,08	0,62 $\pm$ 0,11	0,53 $\pm$ 0,07	0,54 $\pm$ 0,11	0,49 $\pm$ 0,1	0,22
COR (μ g/dL)	0,83 $\pm$ 0,09 ^a	0,42 $\pm$ 0,06 ^b	0,43 $\pm$ 0,04 ^b	0,57 $\pm$ 0,06 ^b	0,6 $\pm$ 0,07 ^b	0,003
OST (ng/mL)	0,68 $\pm$ 0,1	0,87 $\pm$ 0,19	0,98 $\pm$ 0,18	1,02 $\pm$ 0,14	1,19 $\pm$ 0,28	0,95
IGF-1 (ng/mL)	163,6 $\pm$ 87,37	145,29 $\pm$ 87,4	49,72 $\pm$ 23,13	35,52 $\pm$ 14	24,67 $\pm$ 11,76	0,26

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística ($P < 0,05$).

INS: insulina, GLI: glicose, TG: triglicérides, AGNE: ácidos graxos não esterificados, COR: cortisol, OST: osteocalcina, IGF-1: fator de crescimento tipo insulina 1, D1: 1 dia pós-parto, D7: 7 dias pós-parto, D14: 14 dias pós-parto, D21: 21 dias pós-parto, D28: 28 dias pós-parto.

Tabela 29 - Médias $\pm$ erros padrão das análises laboratoriais entre os grupos

	GRUPOS		P
	EL	ENL	
INS (μ U/mL)	6,37 $\pm$ 0,42	5,87 $\pm$ 0,64	0,39
GLI (mg/dL)	140,3 $\pm$ 2,41	146,54 $\pm$ 3,04	0,15
TG (mg/dL)	48,58 $\pm$ 3,74	59,72 $\pm$ 11,77	0,76
AGNE (mmol/dL)	0,58 $\pm$ 0,07	0,54 $\pm$ 0,03	0,21
COR (μ g/dL)	0,59 $\pm$ 0,04	0,54 $\pm$ 0,05	0,53
OST (ng/mL)	0,87 $\pm$ 0,08	1,08 $\pm$ 0,17	0,95
IGF-1 (ng/mL)	29,48 $\pm$ 3,82	176,53 $\pm$ 65,8	0,0002

Fonte: (AFFONSO, 2019).

INS: insulina, GLI: glicose, TG: triglicérides, AGNE: ácidos graxos não esterificados, COR: cortisol, OST: osteocalcina, IGF-1: fator de crescimento tipo insulina 1, EL: potros nascidos de éguas lactantes, ENL: potros nascidos de éguas não lactantes.

3.3.3 Citocinas inflamatórias

Apenas a IL10 apresentou diferença ao longo do tempo, sendo maior no D1 e no D28 do que no D7, D14 e D21, que se igualaram entre si (Tabela 29). Tanto IL6, quanto IL10 e TNF α foram maiores nas ENL (Tabela 30). Nenhuma variável avaliada no experimento apresentou efeito de interação.

Tabela 30 - Médias $\pm$ erros padrão das citocinas inflamatórias ao longo do tempo

	TEMPOS					P
	D1	D7	D14	D21	D28	
RES (ng/mL)	12,83 $\pm$ 1,21	12,41 $\pm$ 1,03	13,4 $\pm$ 1,48	13,17 $\pm$ 1,29	12,62 $\pm$ 1,07	0,68
LEP (ng/mL)	8,65 $\pm$ 2,11	10,19 $\pm$ 1,69	8,17 $\pm$ 0,97	9,61 $\pm$ 1,71	9,4 $\pm$ 2,03	0,91
ADI (μ g/mL)	4,57 $\pm$ 0,24	4,98 $\pm$ 0,27	5,16 $\pm$ 0,21	5,19 $\pm$ 0,28	5,05 $\pm$ 0,19	0,43
IL6 (pg/mL)	14 $\pm$ 2,25	10,4 $\pm$ 1,19	11,66 $\pm$ 1,58	11,51 $\pm$ 1,67	9,23 $\pm$ 1,08	0,35
IL10 (pg/mL)	114,11 $\pm$ 13,04 ^a	72,08 $\pm$ 8,13 ^b	69,12 $\pm$ 6,96 ^b	72,98 $\pm$ 5,25 ^b	100,44 $\pm$ 9,25 ^a	0,0001
TNFα (pg/mL)	9,05 $\pm$ 1,35	8,99 $\pm$ 1,78	9,15 $\pm$ 2,11	8,19 $\pm$ 1,71	14,64 $\pm$ 3,41	0,19

Fonte: (AFFONSO, 2019).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística (P<0,05).

RES: resistina, LEP: leptina, ADI: adiponectina, IL6: interleucina, IL10: interleucina 10, TNF α : fator de necrose tumoral, D1: 1 dia pós-parto, D7: 7 dias pós-parto, D14: 14 dias pós-parto, D21: 21 dias pós-parto, D28: 28 dias pós-parto.

Tabela 31 - Médias $\pm$ erros padrão das citocinas inflamatórias entre os grupos

	TEMPOS		P
	EL	ENL	
RES (ng/mL)	12,65 $\pm$ 0,67	13,23 $\pm$ 0,88	0,95
LEP (ng/mL)	10,5 $\pm$ 11,45	7,26 $\pm$ 0,67	0,11
ADI (μ g/mL)	5,02 $\pm$ 0,11	4,94 $\pm$ 0,21	0,47
IL6 (pg/mL)	9,89 $\pm$ 0,74	13,57 $\pm$ 1,33	0,01
IL10 (pg/mL)	75,37 $\pm$ 3,89	100,75 $\pm$ 8,84	0,0006
TNFα (pg/mL)	8,08 $\pm$ 1,08	12,89 $\pm$ 1,75	0,006

Fonte: (AFFONSO, 2019).
RES: resistina, LEP: leptina, ADI: adiponectina, IL6: interleucina, IL10: interleucina 10, TNF α : fator de necrose tumoral, EL: potros nascidos de éguas lactantes, ENL: potros nascidos de éguas não lactantes.

3.3.4 Correlação

A maioria das variáveis neonatais não se correlacionou entre si. Houve correlação positiva entre as variáveis de crescimento e todas se correlacionaram negativamente com glicose, com triglicérides e IL10 (com exceção do perímetro de canela). Peso e perímetro torácico se correlacionaram positivamente com insulina, assim como a glicose. IGF-1 se correlacionou negativamente com altura, perímetro torácico e de canela e positivamente com glicose e triglicérides. Osteocalcina se correlacionou negativamente com AGNE e positivamente com leptina. Resistina e TNF α não se correlacionaram com nenhuma variável.

Tabela 32 - Correlação entre as variáveis neonatais

	PESO															
ALT	0,9***	ALT														
TOR	0,89***	0,84***	TOR													
CAN	0,58***	0,60***	0,59***	CAN												
GLI	-0,41**	-0,44**	-0,31*	-0,45**	GLI											
INS	0,25*	NS	0,28*	NS	0,36**	INS										
COR	NS	-0,29**	NS	NS	NS	NS	COR									
TG	-0,44**	-0,44**	-0,47**	-0,27*	0,25*	NS	0,3*	TG								
AGNE	-0,42**	-0,35**	NS	NS	0,28*	NS	0,34**	0,35**	AGNE							
LEP	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-0,3*	LEP						
RES	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	RES					
ADI	NS	NS	NS	0,28*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-0,33*	ADI				
IL6	-0,25*	NS	-0,31*	NS	NS	NS	0,29*	0,4**	NS	NS	NS	NS	IL6			
IL10	-0,28*	-0,35**	-0,43**	NS	NS	-0,32*	0,32*	NS	NS	NS	NS	NS	0,27*	IL10		
TNFα	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,4***	TNFα	
OST	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-0,27*	0,27*	NS	NS	0,4**	NS	NS	OST
IGF-1	NS	-0,41**	-0,55***	-0,51***	0,36**	NS	NS	0,53***	NS	NS	NS	NS	0,53***	0,44**	NS	0,37**

Fonte: (AFFONSO, 2019).

ALT: altura; TOR: perímetro torácico, CAN: perímetro de canela, GLI: glicose, INS: insulina, COR: cortisol, TG: triglicérides, AGNE: ácidos graxos não esterificados, LEP: leptina, RES: resistina, ADI: adiponectina, IL6: interleucina, IL10: interleucina 10, TNF α : fator de necrose tumoral, OST: osteocalcina, IGF-1: fator de crescimento tipo insulina 1.

NS: não significativo.

*P <0,05, ** P<0,01, *** P<0,0001

Em relação a variáveis maternas, a maior parte não se correlacionou com as variáveis neonatais. ECC materno se correlacionou com IL10 neonatal e ECP se correlacionou negativamente com IGF-1. Glicose materna se correlacionou negativamente com insulina neonatal. A insulina materna se correlacionou negativamente com peso e altura e positivamente com resistina e IL10 neonatais. Leptina materna se correlacionou negativamente com a insulina neonatal e a resistina, negativamente com peso e adiponectina do potro e positivamente com leptina, IL6 e osteocalcina. A adiponectina materna se correlacionou com leptina, IL6, osteocalcina e IGF-1 neonatais, todos positivamente. IL6 materna se correlacionou positivamente com altura, adiponectina e IL6 neonatal e negativamente com glicose do potro. Já TNF α da mãe, se correlacionou com peso e altura do potro (Tabela 33).

Tabela 33 - Correlação entre as variáveis maternas e neonatais

	VARIÁVEIS MATERNAS									
	ECC	ECP	GLI	INS	LEP	RES	ADI	IL6	IL10	TNF α
PESO	NS	NS	NS	-0,28*	NS	-0,29*	NS	NS	NS	0,35**
ALT	NS	NS	NS	-0,4**	NS	NS	NS	0,32*	NS	0,3*
GLI	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-0,3*	NS	NS
INS	NS	NS	-0,31*	NS	-0,34**	NS	NS	NS	NS	NS
LEP	NS	NS	NS	NS	NS	0,38**	0,29*	NS	NS	NS
RES	NS	NS	NS	0,26*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ADI	NS	NS	NS	NS	NS	-0,26*	NS	0,28*	NS	NS
IL6	NS	NS	NS	NS	NS	0,29*	0,37**	0,26*	NS	NS
IL10	0,29*	NS	NS	0,35**	NS	NS	NS	NS	NS	NS
TNFα	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
OST	NS	NS	NS	NS	NS	0,28*	0,29*	NS	NS	NS
IGF-1	NS	-0,29*	NS	NS	NS	NS	0,38**	NS	NS	NS

Fonte: (AFFONSO, 2019).

ALT: altura; GLI: glicose, INS: insulina, LEP: leptina, RES: resistina, ADI: adiponectina, IL6: interleucina, IL10: interleucina 10, TNF α : fator de necrose tumoral, OST: osteocalcina, IGF-1: fator de crescimento tipo insulina 1.

NS: não significativo.

*P <0,05, ** P<0,01, *** P<0,0001.

3.4 DISCUSSÃO

Nesse trabalho, mostramos que a condição materna parece se refletir nos potros, principalmente na produção de IGF-1, um dos fatores de crescimento relacionados à regulação do crescimento ósseo longitudinal, que age localmente na placa de crescimento, como um estimulador da proliferação e hipertrofia dos condrócitos (van der EERDEN; KARPERIEN; WIT, 2003; FRADINHO et al., 2018). Esse hormônio vem sendo associado à renovação óssea, maturação da cartilagem e crescimento médio diário, estimulando ainda diferenciação e proliferação de mioblastos (LAWRENCE, 2009; FRADINHO et al., 2018). No nosso trabalho, os potros nascidos de éguas que lactavam na gestação inicial, apresentaram valores de IGF-1 muito menores do que os das que não passaram por essa condição no início da gestação.

Os hormônios mais importantes do eixo somatotrópico são GH (hormônio do crescimento) e IGF-1. O IGF-1 sanguíneo reflete a produção hepática, regulada pelo GH (DAVICCO et al., 1994). Distúrbios nos mecanismos que controlam os efeitos do IGF-1, como alteração na sua concentração ou de seu receptor, e/ou afinidade ou disponibilidade do receptor

podem desregular os processos envolvidos no controle local da integridade articular (LEJEUNE et al., 2007; BACCARIN et al., 2011). Se suas concentrações alcançam níveis anormais, a superproliferação da cartilagem pode contribuir na ocorrência da Osteocondrite dissecante (RALSTON, 1996; LAWRENCE, 2009).

Em estudo anterior do nosso grupo, detectamos que as alterações metabólicas decorrentes da gestação são mais exacerbadas em éguas que não estão lactando, pois observamos menores concentrações de insulina basal, de glicose basal no início da gestação, menor área sob a curva de insulina e glicose, além de maior sensibilidade à insulina e tolerância à glicose, em éguas lactando concomitantemente ao início da gestação.

A insulina, por sua vez, aumenta o crescimento tecidual por meio de seus efeitos anabólicos durante o metabolismo fetal, além de estimular a produção de IGF-1 (PEUGNET et al., 2016). Os receptores de insulina são encontrados em osteoblastos e osteoclastos. De modo que ela estimula a formação óssea pelos osteoblastos e também parece suprimir a função dos osteoclastos (FOWDEN; FORHEAD, 2004; WILCOX, 2005). No nosso trabalho não encontramos correlação entre insulina materna com insulina e IGF-1 neonatais.

Alguns autores especulam que doenças ortopédicas como osteocondrose estejam relacionadas com concentrações mais baixas de insulina e IGF-1 (LEJEUNE et al., 2007; BACCARIN et al., 2011). No entanto, os resultados seguem controversos. Trabalhos correlacionaram a hiperinsulinemia pós-prandial à presença de lesões radiográficas de osteocondrose em cavalos antes dos 12 meses de idade (RALSTON, 1996, 2002). Estudos epidemiológicos demonstraram que potros nascidos de éguas suplementadas com concentrado durante a gestação tem maior incidência de lesões de osteocondrose comparado com os nascidos de éguas não suplementadas (HEYDEN et al., 2013).

A passagem de IGF-1 e insulina da mãe para o feto é biologicamente importante (HESS-DUDAN et al., 1994). Estudos anteriores encontraram sítios de expressão de IGF-1 nos tecidos placentários de éguas durante as últimas semanas de gestação (ARAI et al., 2006). Visto que as ENL são mais resistentes à insulina e hiperinsulinêmicas em relação as EL (como observado no capítulo anterior), podemos inferir que essa condição influencie os potros e essa ação se reflita nas maiores concentrações de IGF-1 nos potros de ENL. A RI causa aumento compensatório da secreção de insulina visando manter a homeostase da glicose, mas pode alterar a sinalização da insulina em outros sistemas, como no eixo somatotrófico, aumentando o risco de osteocondrose (RALSTON, 1996; BACCARIN et al., 2011).

Além disso, o IGF-1 já foi encontrado no colostro e no leite de éguas e parece ter um papel no desenvolvimento intestinal de algumas espécies (BERG; MCNAMARA; KEISLER, 2007). Mais estudos são necessários para que se conheça a influência materna nas concentrações de IGF-1 dos potros e se determine se ela ocorre pré ou pós-parto.

No nosso trabalho, as concentrações de IGF-1 se correlacionaram negativamente com altura, perímetro torácico e canela, mas não com o peso, reforçando a relação desse hormônio com o desenvolvimento ósseo. Porém não encontramos explicação para a correlação negativa entre os parâmetros. Em fetos de ovelhas e macacos, a administração de IGF-1 apresentou efeitos no crescimento de tecidos específicos, mas sem efeito sobre o peso corporal (FOWDEN, 2003).

Davicco et al. (1994) reportaram que as concentrações de IGF1 e osteocalcina aumentaram entre o nascimento e a primeira semana de vida dos potros, sugerindo que esse aumento estimula a formação óssea nesse período. Peugnet et al., 2015 também encontraram aumento no IGF-1, porém entre 0 e 180 dias. Nós não observamos diferença nas concentrações ao longo do tempo, apesar de uma diminuição numérica importante aos 28 dias.

Outras condições parecem influenciar as concentrações de IGF-1 como o sexo. Os níveis de IGF-1 são menores nas fêmeas, no nascimento, aos 130 e 180 dias de vida (LAWRENCE, 2009; PEUGNET et al., 2015). No nosso trabalho não avaliamos esse fator, porém temos maior número de potros machos nos dois grupos avaliados.

Outros trabalhos observaram correlação entre as concentrações de IGF-1 e os marcadores de formação óssea em cavalos, como a osteocalcina, um marcador específico da atividade osteoblástica e formação óssea (DAVICCO et al., 1994; van der EERDEN; KAPERIEN; WIT, 2003; FRADINHO et al., 2018). Nós também observamos essa correlação, obtendo o mesmo valor de coeficiente de correlação que Fradinho et al., 2018 (0,37) trabalhando com 27 potros monitorados do nascimento aos 36 meses de idade. Porém não observamos diferença na concentração de osteocalcina entre os grupos e ao longo do tempo.

As concentrações de glicose dos potros, não se alteraram até os 21 dias, diminuindo aos 28 dias, em comparação com 1, 7 e 14 dias. Esse resultado se assemelha ao trabalho de Aoki; Ishii, 2012, que obtiveram valores constantes de glicose nas 4 primeiras semanas de vida. George et al., 2009, encontraram aos 5 dias de vida, valores maiores que os nossos aos 7 dias ($148,33 \pm 3,96$), independente da dieta materna (baixo x alto amido), porém, nossos valores são mais próximos aos de potros provenientes de éguas se alimentando com dieta contendo baixo amido. A glicemia em jejum diminui conforme o potro se torna mais velho, alcançando valores

mais baixos aos 90 dias, devido à transição progressiva no substrato energético da dieta, conforme o potro passa a consumir mais forragem e menos leite, que é rico em lactose e primeiramente absorvido e digerido no intestino delgado. Isso não parece ser afetado pelo sexo, nem pela dieta materna. O fato de a concentração de glicose no sangue estar estável após o primeiro dia indica que o sistema de controle de glicose já estava funcionando ao nascimento (GEORGE et al., 2009; PEUGNET et al., 2015).

Os níveis glicêmicos dos neonatos costumam estar relacionados aos níveis maternos devido à transferência placentária e a RI observada na gestação (FOWDEN; COMLINE; SILVER, 1984). Diferenças na glicose ou insulina podem indicar efeito da composição da dieta materna durante o final da gestação no desenvolvimento fetal de mecanismos hepáticos, pancreáticos ou neurais que afetam a homeostase da glicose ou a secreção de insulina (GEORGE et al., 2009). Não encontramos correlação entre insulina materna e insulina e glicose neonatais, porém houve correlação negativa entre a glicose materna e a insulina do potro.

Dobbs et al. (2011) encontraram maiores níveis de insulina e glicose basal em potros provenientes de éguas com maior ECC, apesar de não encontrarem menor sensibilidade à insulina. Sabemos que as ENL apresentaram maior ECC que as EL, no entanto, não encontramos diferença nas concentrações de insulina e glicose dos potros e nem correlação entre ECC materno e insulina e glicose neonatais.

A insulina é liberada pelo pâncreas fetal entre o início e o meio da gestação e se mantém até termo (FOWDEN; FORHEAD, 2004). Muitos estudos propuseram que a taxa de crescimento fetal tem efeito na sensibilidade à insulina pós-natal (ALLEN et al., 2002; FOWDEN; FORHEAD, 2004). Fetos maiores para a idade por razões nutricionais, apresentam maior insulina basal e maior resposta das células β à glicose do que potros sofrendo retardo de crescimento intrauterino. No entanto, o quanto essa anormalidade se resolve ou continua a se desenvolver até a SME ainda é desconhecido (MORLEY; MURRAY, 2014). No nosso trabalho, a insulina fetal se correlacionou positivamente com peso e perímetro torácico.

Em fetos e neonatos, a resposta das células β pancreáticas à glicose aumenta com o aumento do peso e maturidade (OUSEY et al., 2008). A maturação da função das células β pancreáticas ocorre ao longo do tempo em potros com um aumento nas concentrações de insulina durante as primeiras 24-48 horas pós-parto (FOWDEN et al. 1982, 2005). Esse período de maturação parece continuar por aproximadamente 3 meses após o nascimento, quando níveis semelhantes aos de equinos maduros são alcançados (FIRSHMAN; VALBERG, 2007). No nosso trabalho, a insulina foi menor apenas no primeiro dia, em contraste com a maior glicemia,

refletindo imaturidade pancreática nesse período. Esse achado concorda com trabalhos anteriores que mostraram que no Dia 1 os potros apresentam relativa RI, com menor *clearance* de glicose, provavelmente devido às elevadas concentrações de norepinefrina, cortisol e glucagon que ocorrem durante o primeiro dia pós parto (BERRYHILL et al., 2019). No nosso trabalho também foi observado maior cortisol um dia após o nascimento, provavelmente refletindo o aumento do cortisol fetal responsável pelo desencadeamento do parto (FOWDEN; FORHEAD, 2004).

Não é apenas o metabolismo dos carboidratos que é afetado pelos eventos iniciais da vida, mas sim todo o metabolismo energético (PEUGNET et al., 2016). Um estudo em potros relatou concentrações de triglicérides maiores que 50 mg/dL nas primeiras seis semanas de vida (BARTON; LEROY, 2007). Nós observamos esses valores apenas até os 14 dias. Nossos valores estão dentro da média de 51–264 mg/dL encontrada por Berryhill et al., 2017 em potros saudáveis, entre 1 e 2 dias e de 28 -135 mg/dL, entre 10 e 12 dias. Os potros, enquanto estão mamando, apresentam maiores valores de triglicérides do que cavalos adultos (BERRYHILL et al., 2017).

O nível de triglicérides maior nos primeiros dias pode refletir o pico de triglicérides materno que ocorre no final da gestação, já relatado em outros trabalhos (SMITH et al., 2017) ainda mais se considerando a imaturidade hepática do neonato (AXON; PALMER, 2008). Peugnet et al., 2015 relataram aumento no nível de triglicérides na primeira semana, diminuindo gradualmente até a quarta semana. Nós observamos níveis estáveis até os 14 dias, porém também observamos essa redução na quarta semana que pode ser explicada pela transição de colostro para leite, que possui menos gordura (AOKI; ISHII, 2012).

Já foi relatado que éguas obesas apresentam maior quantidade de gordura no leite do que éguas magras (FRADINHO et al., 2014), o que poderia refletir em maior lipemia nos potros. Porém apesar das ENL estarem obesas a partir dos 275 dias de gestação ($ECC \geq 7$; HENNEKE et al., 1983), a pequena diferença de escore entre os dois grupos pode não ser suficiente para refletir essa diferença de triglicérides nos potros. No entanto, não analisamos o leite das éguas para comprovar essas hipóteses.

O AGNE não se alterou ao longo do tempo, demonstrando ausência de mobilização de gordura corporal, provavelmente refletindo à ingestão adequada de leite (PEUGNET et al., 2015), no nosso caso, desde o primeiro dia de vida. Esse fato pode ser demonstrado também pelo ganho de peso, refletindo balanço energético positivo. Os dois grupos tiveram mobilização lipídica semelhante.

Como era esperado, os parâmetros de crescimento aumentaram ao longo do tempo, mas é interessante observar a diferença no padrão dessa curva entre as variáveis. O peso aumenta até os 21 dias, com um ganho semanal de 10,34 kg em média, esse aumento significativo para de aparecer dos 21 aos 28 dias (apesar do aumento numérico), mostrando que o ganho de peso parece ser mais pronunciado nas primeiras três semanas de vida. A altura segue um padrão parecido, porém dos 14 aos 21 dias o aumento deixa de ser significativo, voltando a ser entre 21 e 28 dias, aumentando em média 3 cm por semana. Diferente de altura e peso, o perímetro torácico não aumenta significativamente da primeira para a segunda semana, aumentando da segunda pra terceira e da terceira pra quarta, em média 4,46 centímetros por semana. Diferente dos outros parâmetros, o perímetro de canela tem pouca variação semanal, apresentando aumento significativo apenas aos 28 dias. Nossos potros são mais leves com 1 dia de vida ($50,58 \pm 2,63$) do que os observados por George et al., 2009 ao nascimento, comparando potros provenientes de éguas alimentadas com dietas contendo alto e baixo amido ($56,9 \pm 2$ e $57,5 \pm 2$; $P = 0,85$) e dentro da média obtida por Smith et al., 2017 (45-69 kg), no qual 55% das éguas eram obesas.

Em humanos, estudos mostraram que a RI da mãe durante a gestação está associada ao aumento do ganho de peso infantil e adiposidade no primeiro ano de vida, independente do estado materno de tolerância à glicose (YACHI et al., 2011). Mulheres obesas, com DMG são três vezes mais propensas a apresentar macrosomia fetal ou bebês grandes para a idade, com aumento de adiposidade e maior suscetibilidade à nascimento por parto cesárea (HOWELL; POWELL, 2018). A teoria é que a hiperglicemia materna levaria à hiperglicemia fetal que por sua vez estabeleceria a hiperinsulinemia fetal visando controlar seus níveis de glicose (RUIZ-PALACIOS et al., 2017). Esta insulina fetal ativa o anabolismo, promovendo assim um crescimento fetal excessivo (RUIZ-PALACIOS et al., 2017). Em equinos existe uma relação direta entre a concentração sanguínea materna de glicose e o peso placentário, que se correlaciona diretamente com o peso fetal (ALLEN et al., 2002).

Em estudo anterior do nosso grupo, não detectamos ao longo da gestação hiperglicemia e/ou glicosúria, não caracterizando DMG nas éguas, mas percebemos menores concentrações de glicose basal no início da gestação, de insulina basal, menor área sob a curva de insulina e glicose em éguas lactando no início da gestação. Nesse contexto, esperávamos que as ENL tivessem potros maiores, porém observamos valores maiores em todos os parâmetros corporais em potros de EL, sendo possível que em cavalos, a dinâmica da influência da insulina no crescimento fetal funcione de maneira diferente, ainda mais se considerando diferenças no tipo

de placentação entre humanos e equinos (epiteliocorial versus hemodiocorial; CHAVATTE-PALMER; TARRADE, 2016). Além de que, mesmo durante à RI, não é comum que se observe hiperglicemia em cavalos porque a maioria dos animais apresentam resposta compensatória de insulina (FRANK et al., 2010).

É importante ressaltar também que uma limitação do nosso experimento é a presença de três éguas nulíparas no grupo ENL (n=5) e outros trabalhos do nosso grupo encontraram relação entre a paridade e o tamanho dos potros até um ano de idade, demonstrando menor peso e tamanho nos potros de éguas nulíparas (FERNANDES et al., 2014; MEIRELLES et al., 2017). Outra limitação é o fato das EL terem recebido suplementação com concentrado até o desmame (120-170 dias de gestação), que apesar de não coincidir com o período de maior crescimento fetal (FOWDEN; COMLINE; SILVER, 1984), pode ter influenciado na obtenção de potros maiores nesse grupo. Maiores pesquisas são necessárias para que se confirme a obtenção de potros maiores em éguas lactantes durante o início da gestação em comparação com éguas não lactantes, excluindo-se o efeito da dieta e da paridade.

Leptina é um hormônio tecidual sintetizado principalmente pelos adipócitos, que regula o metabolismo energético, sendo liberado em grandes quantidades em situações de balanço energético positivo, atuando em receptores no hipotálamo e suprimindo o apetite (FRANK, 2011; KEDZIERSKI; KUSY; KOWALIK, 2011). Estudos anteriores demonstraram aparente hiperleptinemia em éguas obesas (GENTRY et al., 2002). Níveis alterados de leptina materna parecem contribuir com o crescimento fetal exacerbado em humanos. Estudos em camundongos demonstraram que os descendentes expostos prematuramente à excesso de leptina, apresentam aumento no número de terminações nervosas no hipotálamo, durante o período neonatal, alterando a regulação do apetite e apresentando aumento do ganho de peso pós-natal e desenvolvimento de obesidade (YURA et al., 2005; HOWELL; POWELL, 2018).

Em éguas, não conhecemos os níveis fisiológicos de leptina durante a gestação. Apesar de alguns trabalhos terem avaliado, as concentrações variam entre eles e as diferentes condições amostrais dificultam a comparação (HEIDLER et al., 2003; HUFF et al., 2008; SMITH et al., 2017). No nosso trabalho, apenas as ENL eram obesas no final da gestação, porém não observamos diferença na leptinemia dos potros entre os dois grupos. Também não observamos, como já relatado em trabalhos anteriores, correlação entre leptina e IGF-1 neonatais (UNER et al., 2013) e leptina materna com peso ao nascimento (SMITH et al., 2017). Assim como Smith et al., 2017 não encontramos correlação entre leptina materna e triglicérides e leptina neonatal. O fato de a leptina no sangue não aumentar nos potros, em um período de rápido crescimento,

pode ser um mecanismo para estimular a ingestão de alimentos, garantindo aporte energético adequado para esse período (similar a éguas no início da lactação) (BERG; MCNAMARA; KEISLER, 2007).

Interessante observar que as concentrações de resistina e adiponectina nos potros são muito menores numericamente do que as encontradas em suas mães ao longo da gestação (44,21-86,47; 4,98-5,19, respectivamente), esse achado pode ser explicado pela baixa reserva de gordura nos potros (BERG; MCNAMARA; KEISLER, 2007) e por essas adipocinas serem produzidas majoritariamente pelos adipócitos (STEPPAN et al., 2001; SHIRAKAWA et al., 2015). Já as concentrações maternas e neonatais de leptina são mais parecidas numericamente, no entanto existem referências de que essa adipocina é produzida em outros locais, além de estar presente no leite. Por ser composta por 167 aminoácidos, pode ser absorvida pelo trato gastrointestinal dos potros (BERG; MCNAMARA; KEISLER, 2007; ROMAGNOLI et al., 2007; KEDZIERSKI; KUSY; KOWALIK, 2011; DALL'AGLIO et al., 2013).

Na interpretação da concentração de citocinas em neonatos deve ser considerada a transferência passiva por colostro ou leite, a produção pelo potro, além de transferência por fluido amniótico ou tecidos placentários, nunca investigados em cavalos (BOYD et al., 2003; MARIELLA et al., 2017). Boyd et al., 2003 não encontraram aumento de IL6, IL10 e TNF α do nascimento até os 28 dias em potros, sugerindo imaturidade do sistema imune durante esse período. Nós encontramos diminuição na concentração de IL10 do dia 1 em diante, aumentando novamente no D28.

Pouco se conhece sobre a presença de citocinas no colostro equino, no entanto, Burton et al. (2009) relatam concentrações indetectáveis de IL6 e IL10 em potros saudáveis, antes da ingestão de colostro, que contém IL6. IL10 se manteve indetectável e não foi encontrada no colostro. No nosso trabalho, a correlação positiva entre IL6 materna e IL6 do potro, sugere transferência placentária e/ou colostrar dessa citocina. Trabalho de Secor et al. (2012) confirmaram a presença de TNF α no colostro e a transferência para os potros. É interessante observar que o TNF α é maior em éguas lactantes quando comparado a éguas não lactantes (como observado no capítulo anterior), no entanto esse padrão se inverte nos potros.

Além disso, pouco se sabe sobre a expressão fisiológica das citocinas durante o parto em éguas, mas a expressão de IL1 β , IL6 e TNF α aumentam significativamente durante o parto em humanos (MENDELSON; MONTALBANO; GAO, 2017). Além disso é possível que esse padrão seja diferente em éguas metabolicamente alteradas.

As maiores concentrações de IL6 e TNF α nos potros de ENL podem caracterizar um maior perfil inflamatório nesse grupo, uma vez que se tratam de citocinas pró-inflamatórias (DE LAAT et al., 2015), relacionadas também com obesidade e RI em cavalos (VICK et al., 2007). No entanto, a maior concentração também de IL10 nesse grupo, torna esse perfil contraditório, uma vez que essa citocina é conhecida por ser um mediador anti-inflamatório, conhecido por seu papel na regulação do sistema imune e inibição da expressão/produção de citocinas pró-inflamatórias (CHOI et al., 2007). Embora o aumento da expressão de IL10 não esteja consistentemente associado à obesidade, o aumento da produção pelo tecido adiposo e maiores concentrações sanguíneas em humanos e roedores obesos, em comparação com achados em indivíduos não obesos, tem sido descrito (ESPOSITO et al., 2003; JUGE-AUBRY et al., 2005). Tadros et al., 2013 encontraram aumento nas concentrações também de IL10 em cavalos após indução de endotoxemia, persistindo por mais tempo em animais com SME. É possível que exista maior concentração dessas citocinas no colostro/leite das ENL, e/ou maior transferência placentária durante a gestação ou parto. Porém, estudos mais aprofundados são necessários para elucidação dessas hipóteses.

3.5 CONCLUSÃO

Concluimos que algumas características se alteram com o avanço da idade como insulina, glicose, triglicérides e cortisol, além da produção de IL10. Concluimos também que o *status* materno de lactante durante o terço inicial de gestação influencia o potro, refletindo em maior concentração de IGF-1, IL6, IL10 e TNF α nos potros de éguas não lactantes. Concluindo que o metabolismo materno durante a gestação influencia nas características pós-natais do neonato até os 28 dias de vida.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, W. R.; WILSHER, S.; STEWART, F.; OUSEY, J.; FOWDEN, A. The influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. II. Endocrinology of pregnancy. **Journal of Endocrinology**, v. 172, n. 2, p. 237–246, 2002.
- AOKI, T.; ISHII, M. Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (Heavy Draft Horse). **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 3, p. 170–176, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2011.08.015>>.
- ARAI, K. Y.; TANAKA, Y.; TANIYAMA, H.; TSUNODA, N.; NAMBO, Y.; NAGAMINE, N.; WATANABE, G.; TAYA, K. Expression of inhibins, activins, insulin-like growth factor-I and steroidogenic enzymes in the equine placenta. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 31, n. 1, p. 19–34, 2006.
- AXON, J. E.; PALMER, J. E. Clinical pathology of the foal. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 24, n. 2, p. 357–385, 2008.
- BACCARIN, R. Y. A.; PEREIRA, M. A.; RONCATI, N. V.; FURTADO, P. V.; OLIVEIRA, C. A.; HAGEN, S. C. F. Identificação dos níveis séricos do fator de crescimento tipo. **Pesq Vest Bras**, v. 31, n. 8, p. 677–682, 2011.
- BARTON, M.H., LEROY, B.E. Serum bile acids concentrations in healthy and clinically ill neonatal foals. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 508–513, 2007.
- BERG, E. L.; MCNAMARA, D. L.; KEISLER, D. H. Endocrine profiles of periparturient mares and their foals. **Journal of andrology**, v. 85, p. 1660–1668, 2007.
- BERRYHILL, E. H.; MAGDESIAN, K. G.; KASS, P. H.; EDMAN, J. E. Triglyceride concentrations in neonatal foals: Serial measurement and effects of age and illness. **The Veterinary Journal**, v. 227, p. 23–29, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.08.002>>.
- BERRYHILL, E. H.; MAGDESIAN, K. G.; TADROS, E. M.; EDMAN, J. E. Effects of age on serum glucose and insulin concentrations and glucose/insulin ratios in neonatal foals and their dams during the first 2 weeks postpartum. **The Veterinary Journal**, v. 246, p. 1–6, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.01.013>>.
- BOYD, N. K.; COHEN, N. D.; LIM, W.; MARTENS, R. J.; CHAFFIN, M. K.; BALL, J. M. Temporal changes in cytokine expression of foals during the first month of life. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 92, p. 75–85, 2003.
- BUCCA, S. Diagnosis of the Compromised Equine Pregnancy. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 22, n. 3, p. 749–761, 2006.
- BURTON, A. B.; WAGNER, B.; ERB, H. N.; AINSWORTH, D. M. Serum interleukin-6 (IL-6) and IL-10 concentrations in normal and septic neonatal foals. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 132, p. 122–128, 2009.
- CARTER, R. A.; GEOR, R. J.; S.W., B.; CUBITT, T. A.; HARRIS, P. A. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. **The Veterinary Journal**, v. 179, n. 2, p. 204–210, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.029>>.

CHAVATTE-PALMER, P.; PEUGNET, P.; ROBLES, M. Developmental programming in equine species: relevance for the horse industry. **Animal Frontiers**, v. 7, n. 3, p. 48–54, 2017. Disponível em:

<<https://www.animalsciencepublications.org/publications/af/abstracts/7/3/48>>.

CHAVATTE-PALMER, P.; TARRADE, A. Placentation in different mammalian species. **Annales d'Endocrinologie**, v. 77, n. 2, p. 67–74, 2016. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.ando.2016.04.006>>.

CHOI, K. M.; RYU, O. H.; LEE, K. W.; KIM, H. Y.; SEO, J. A.; KIM, S. G.; KIM, N. H.; CHOI, D. S.; BAIK, S. H. Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 75, p. 235–240, 2007.

COVERDALE, J. A.; HAMMER, C. J.; WALTER, K. W. HORSE SPECIES SYMPOSIUM: nutritional programming and the impact on mare and foal. **Journal of Animal Science**, v. 93, p. 3261–3267, 2015.

DALL'AGLIO, C.; MERCATI, F.; PASCUCCI, L.; CECCARELLI, P. Immunolocalization of leptin and its receptor in the pancreas of the horse. **Acta Histochemica**, v. 115, n. 7, p. 757–760, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.acthis.2013.05.008>>.

DAVICCO, M.; FAULCONNIER, Y.; COXAM, V.; DUBROEUCQ, H.; MARTIN-ROSSET, W.; BARLET, P. Systemic bone growth factors in light breed mares and their foals. **Archives Internationales de Physiologie, de Biochimie et de Biophysique**, v. 102, p. 115–119, 1994.

DE LAAT, M. A.; ROBINSON, M. a.; GRUNTMEIR, K. J.; LIU, Y.; SOMA, L. R.; LACOMBE, V. A. AICAR administration affects glucose metabolism by upregulating the novel glucose transporter, GLUT8, in equine skeletal muscle. **The Veterinary Journal**, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023315002245>>.

DOBBS, T. N.; FOOTE, C. E.; CAWDELL-SMITH, A. J.; ANDERSON, S. T.; BOSTON, R. C.; BRYDEN, W. L. Glucose and insulin dynamics in neonatal foals: influence of maternal diet. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 31, 277–277, 2011.

DURHAM, A. E.; FRANK, N.; MCGOWAN, C. M.; MENZIES-GOW, N. J.; ROELFSEMA, E.; VERVUERT, I.; FEIGE, K.; FEY, K. ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, p. 335–349, 2019.

ESPOSITO K.; PONTILLO A.; GIUGLIANO F., et al. Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 88, p.1055–1058, 2003.

FERNANDES, C. B.; MEIRELLES, M. G.; GUIMARAES, C. F.; NICHI, M.; AFFONSO, F. J.; FONTE, J. S.; ONOE, E.; ALONSO, M. A. Which paternal, maternal and placental parameters influence foal size and vitality? **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 1, p. 225–227, 2014. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080613007958>>.

FIRSHMAN, a M.; VALBERG, S. J. Factors affecting clinical assessment of insulin sensitivity in horses. **Equine veterinary journal**, v. 39, n. 6, p. 567–575, 2007.

FOWDEN A.L. The insulin-like growth factors and feto-placental growth. **Placenta**, v. 24, p. 803–812, 2003.

FOWDEN, A.L.; ELLIS, L.; ROSSDALE, P.D. Pancreatic beta cell function in the neonatal foal. **J. Reprod. Fert., Suppl.**, v. 32, p. 529–535. 1982.

FOWDEN, A.L.; GARDNER, D.S.; OUSEY, J.C.; GIUSSANI, D.A.; FORHEAD, A.J. Maturation of pancreatic beta-cell function in the fetal horse during late gestation. **J. Endocrinol.**, v. 186, p. 467–473, 2005.

FOWDEN, A. L.; COMLINE, R. S.; SILVER, M. Insulin secretion and carbohydrate metabolism during pregnancy in the mare. **Equine veterinary journal**, v. 16, n. 4, p. 239–46, 1984. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6383807>>.

FOWDEN, A. L.; FORHEAD, A. J. Endocrine mechanisms of intrauterine programming. **Reproduction**, v. 127, n. 5, p. 515–526, 2004.

FRADINHO, M. J.; CORREIA, M. J.; GRÁCIO, V.; BLIEBERNICHT, M.; FARRIM, a; MATEUS, L.; MARTIN-ROSSET, W.; BESSA, R. J. B.; CALDEIRA, R. M.; FERREIRA-DIAS, G. Effects of body condition and leptin on the reproductive performance of Lusitano mares on extensive systems. **Theriogenology**, v. 81, n. 9, p. 1214–22, jun. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24613603>>. Acesso em: 25 abr. 2015.

FRADINHO, M. J.; MATEUS, L.; BESSA, R. J. B.; CALDEIRA, R. M.; FERREIRA-DIAS, G. Age-related changes of bone ultrasound measurements and metabolic indicators in the young horse. **Livestock Science**, v. 211, n. January, p. 104–110, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.03.007>>.

FRANK, N. Equine metabolic syndrome. **Vet Clin Equine**, v. 27, n. 1, p. 73–92, abr. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21392655>>. Acesso em: 25 abr. 2015.

FRANK, N.; GEOR, R. J.; BAILEY, S. R.; DURHAM, A. E.; JOHNSON, P. J. Equine Metabolic Syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 467–475, 2010. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3040842&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.

FRANK, N.; TADROS, E. M. Insulin dysregulation. **Equine Veterinary Journal**, v. 46, n.1, 2014.

GENTRY, L. R.; THOMPSON, D. J.; GENTRY, G. T. J.; DAVIS, K. A.; GODKE, R. A.; CARTMILL, J. The relationship between body condition, leptin, and reproductive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period. **J Anim Sci** 2002;80:2695–2703. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 2695–2703, 2002.

GEORGE, L. A.; STANIAR, W. B.; TREIBER, K. H.; HARRIS, P. a.; GEOR, R. J. Insulin sensitivity and glucose dynamics during pre-weaning foal development and in response to maternal diet composition. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 37, n. 1, p. 23–29, 2009.

GLADE, M. J. The control of cartilage growth in osteochondrosis: A Review. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 6, n. 4, p. 175–187, 1986.

HAMMER, C. J.; WINSO, K. N.; LUCIA, J. L.; COVERDALE, J. a. Effect of Dietary Energy Manipulation on Mares and their Foals: Colostrum and IgG. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 31, n. 5–6, p. 308–309, 2011. Disponível em:

<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0737080611002668>>.

HEIDLER, B.; PARVIZI, N.; SAUERWEIN, H.; BRUCKMAIER, R. M. Effects of lactation on metabolic and reproductive hormones in Lipizzaner mares. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 25, p. 47–59, 2003.

HENNEKE, D. R.; POLTER, G. D.; KREIDER, J. L.; YEATES, B. F. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 15, n. 4, p. 371–376, 1983.

HESS-DUDAN, F.; VACHER, P. Y.; BRUGKMAIER, R. M.; WEISHAUP, M. A.; BURGER, D.; BLUM, J. W. Immunoreactive insulin-like growth factor I and insulin in blood plasma and milk of mares and in blood plasma of foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 26, p. 134–139, 1994.

HEYDEN, L. Vander; LEJEUNE, J.; CAUDRON, I.; DETILLEUX, J.; SANDERSEN, C.; CHAVATTE, P.; PARIS, J.; DELIÈGE, B.; SERTEYN, D. Association of breeding conditions with prevalence of osteochondrosis in foals. **The Veterinary record**, v. 172, n. 68, 2013.

HOWELL, K. R.; POWELL, T. L. Effects of maternal obesity on placental function and fetal development. **Reproduction**, v. 153, n. 3, p. 1–23, 2018.

HUFF, N. K.; THOMPSON, D. L.; GENTRY, L. R.; DEPEW, C. G. Hyperleptinemia in mares: prevalence in lactating mares and effect on rebreeding success. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 10, p. 579–586, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2008.08.008>>.

JOHNSON, P. J. The equine metabolic syndrome Peripheral Cushing's syndrome. **The Veterinary Clinics Equine Practice**, v. 18, p. 271–293, 2002.

JUGE-AUBRY C.E.; SOMME, E.; PERNIN A., et al. Adipose tissue is a regulated source of interleukin-10. **Cytokine**, v. 29, p. 270–274, 2005.

KEDZIERSKI, W.; KUSY, R.; KOWALIK, S. Plasma leptin level in hyperlipidemic mares and their newborn foals. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 46, p. 275–280, 2011.

LAWRENCE, L. Nutrition of the dam influences growth and development of the foal. **Advances in Equine Nutrition IV**, p. 89–98, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4160-6069-7.00055-9>>.

LEJEUNE, J.-P.; FRANCK, T.; GANGL, M.; SCHNEIDER, N.; MICHAUX, C. Plasma concentration of insulin-like growth factor I (IGF-I) in growing ardenner horses suffering from juvenile digital degenerative osteoarthropathy. **Veterinary Research Communications**, v. 31, p. 185–195, 2007.

MARIELLA, J.; CASTAGNETTI, C.; PROSPERI, A.; SCAGLIARINI, A.; PELI, A. Cytokine levels in colostrum and in foals' serum pre- and post-suckling. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 185, p. 34–37, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2017.01.007>>.

MEIRELLES, M. G.; VERAS, M. M.; ALONSO, M. A.; DE FÁTIMA GUIMARÃES, C.; NICHI, M.; FERNANDES, C. B. Influence of maternal age and parity on placental structure and foal characteristics from birth up to 2 years of age. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 56, p. 68–79, 2017.

MENDELSON, C. R.; MONTALBANO, A. P.; GAO, L. Fetal-to-maternal signaling in the timing of birth. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 170, p. 19–27, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.09.006>>.

MORLEY, S. A.; MURRAY, J.-A. Effects of Body Condition Score on the Reproductive Physiology of the Broodmare: A Review. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 7, p. 842–853, 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S073708061400152X>>.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2007. **Nutrient requirements of horses**. 6 ed. The National Academies Press, Washington, DC. doi: 10.17226/11653

OUSEY, J. C.; FOWDEN, A. L.; WILSHER, S.; ALLEN, W. R. The effects of maternal health and body condition on the endocrine responses of neonatal foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 40, n. 7, p. 673–679, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19165937>>.

PEUGNET, P.; MENDOZA, L.; WIMEL, L.; DUCHAMP, G.; DUBOIS, C.; REIGNER, F.; CAUDRON, I.; DELIÈGE, B.; TOQUET, M.; RICHARD, E.; CHAFFAUX, S.; TARRADE, A.; LEJEUNE, J.; SERTEYN, D.; CHAVATTE-PALMER, P. Journal of Equine Veterinary Science Longitudinal Study of Growth and Osteoarticular Status in Foals Born to Between-Breed Embryo Transfers. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 37, p. 24–38, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2015.11.008>>.

PEUGNET, P.; ROBLES, M.; MENDOZA, L.; WIMEL, L.; DUBOIS, C.; DAHIREL, M.; GUILLAUME, D.; CAMOUS, S.; BERTHELOT, V.; TOQUET, M. P.; RICHARD, E.; SANDERSEN, C.; CHAFFAUX, S.; LEJEUNE, J. P.; TARRADE, A.; SERTEYN, D.; CHAVATTE-PALMER, P. Effects of moderate amounts of barley in late pregnancy on growth, glucose metabolism and osteoarticular status of pre- weaning horses. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1–20, 2015.

RALSTON, S. L. Hyperglycemia/hyperinsulinemia after feeding a meal of grain to young horses with osteochondritis dissecans (OCD) lesions. **Pferdeheilkunde**, v. 12, p. 320–322, 1996.

RALSTON, S. L. Insulin and glucose regulation. **The Veterinary clinics of North America. Equine practice**, v. 18, n. 2, p. 295–304, 2002.

ROMAGNOLI, U.; MACCHI, E.; ROMANO, G.; MOTTA, M.; ACCORNERO, P.; BARATTA, M. Leptin concentration in plasma and in milk during the interpartum period in the mare. **Animal Reproduction Science**, v. 97, n. 1–2, p. 180–185, 2007.

ROPP, J. K.; RAUB, R. H.; MINTON, J. E. The effect of dietary energy source on serum concentration of insulin-like growth factor-I , growth hormone , insulin , glucose , and fat metabolites in weanling horses. **American Society of Animal Science**, v. 81, p. 1581–1589, 2003.

RUIZ-PALACIOS, M.; RUIZ-ALCARAZ, A. J.; SANCHEZ-CAMPILLO, M.; LARQUÉ, E. Role of Insulin in Placental Transport of Nutrients in Gestational Diabetes Mellitus. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 70, p. 16–25, 2017. Disponível em: <<https://www.karger.com/?doi=10.1159/000455904>>.

SATTERFIELD, M. C.; COVERDALE, J. a; WU, G. Review of Fetal Programming : Horse Health Implications to. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**, v. 56, p. 207–

214, 2010.

SCANLON, M. F.; ISSA, B. G.; DIEGUEZ, C. Regulation of growth hormone secretion. **Hormone Research**, v. 46, p. 149–154, 1996.

SECOR, E.J.; MATYCHAK, M.B.; FELIPPE, M.J. Transfer of tumour necrosis factor-(via colostrum to foals. **Vet. Rec.**, v. 170, p. 51, 2012.

SHIRAKAWA, T.; NAKAJIMA, K.; YATSUZUKA, S.; SHIMOMURA, Y.; KOBAYASHI, J.; MACHIDA, T.; SUMINO, H.; MURAKAMI, M. The role of circulating lipoprotein lipase and adiponectin on the particle size of remnant lipoproteins in patients with diabetes mellitus and metabolic syndrome. **Clinica Chimica Acta**, v. 440, p. 123–132, 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898114004604>>.

SMITH, S.; MARR, C. M.; DUNNETT, C.; MENZIES-GOW, N. J. The effect of mare obesity and endocrine function on foal birthweight in Thoroughbreds. **Equine Veterinary Journal**, v. 49, n. 4, p. 461–466, 2017.

STEPPAN, C. M.; BAILEY, S. T.; BHAT, S.; BROWN, E. J.; BANERJEE, R. R.; WRIGHT, C. M.; PATEL, H. R.; AHIMA, R. S.; LAZAR, M. A. The hormone resistin links obesity to diabetes. **Nature**, v. 409, n. 18, p. 307–312, 2001.

TADROS, E. M.; FRANK, N.; DE WITTE, F. G.; BOSTON, R. C. Effects of intravenous lipopolysaccharide infusion on glucose and insulin dynamics in horses with equine metabolic syndrome. **American Journal of Veterinary Research**, v. 74, n. 7, p. 1020–1029, 2013.

UNER, A. G.; SULU, N.; ALTINSAAT, C.; ERGUN, A. Blood levels of selected metabolic factors, cytokines, and lymphocyte subpopulations in arabian and thoroughbred horses during the longest and shortest days of the year. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 11, p. 969–976, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2013.03.001>>.

VAN DER EERDEN, B.; KARPERIEN, M.; WIT, J. Systemic and Local Regulation of the Growth Plate. **Endocrine Reviews**, v. 24, n. 6, p. 782–801, 2003.

VICK, M. M.; ADAMS, a a; MURPHY, B. a; SESSIONS, D. R.; HOROHOV, D. W.; COOK, R. F.; SHELTON, B. J.; FITZGERALD, B. P. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. **Journal of animal science**, v. 85, n. 5, p. 1144–55, maio 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17264235>>. Acesso em: 25 abr. 2015.

WILCOX, G. Insulin and insulin resistance. **The Clinical biochemist. Reviews**, v. 26, n. 2, p. 19–39, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16278749>><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1204764>>.

YACHI, Y.; TANAKA, Y.; ANASAKO, Y.; NISHIBATA, I.; SAITO, K.; SONE, H. Contribution of first trimester fasting plasma insulin levels to the incidence of glucose intolerance in later pregnancy : Tanaka women's clinic study. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 92, n. 2, p. 293–298, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2011.02.012>>.

YURA S.; ITOH H.; SAGAWA N.; YAMAMOTO H.; MASUZAKI H.; NAKAO K.; KAWAMURA M.; TAKEMURA M.; KAKUI K.; OGAWA Y., et al. Role of premature

leptin surge in obesity resulting from intrauterine undernutrition. **Cell. Metab.**, v. 1, n. 6, p. 371–378, 2005.

4 CONCLUSÕES GERAIS

Não detectamos ao longo da gestação hiperglicemia e/ou glicosúria, não caracterizando DMG, mas percebemos menores concentrações de glicose basal no início da gestação, de insulina basal, menor área sob a curva de insulina e glicose, além de maior sensibilidade à insulina e tolerância à glicose, em éguas lactando no início da gestação. Éguas com RI latente antes da gestação, apresentam estresse metabólico adicional aumentando o risco de desenvolver laminite (GALANTINO-HOMER; ENGILES, 2012). Além disso, a dieta materna pode alterar mais profundamente as dinâmicas de insulina e glicose durante a gestação (GEORGE et al., 2009). Sabe-se que, visando maximizar o desenvolvimento fetal, éguas prenhes são frequentemente alimentadas com dietas altamente energéticas, em grande parte compostas por carboidratos solúveis durante a gestação (COVERDALE; HAMMER; WALTER, 2015). Nossos resultados sugerem que éguas L parecem estar menos vulneráveis ao estresse metabólico, de modo que as NL parecem estar mais suscetíveis às alterações que possam ser exacerbadas pela gestação. Dietas baseadas em fibra e gordura podem ajudar a moderar a flutuação metabólica e reduzir o risco de distúrbios metabólicos em éguas gestantes (GEORGE et al., 2011; HODGE et al., 2017).

Observamos que o metabolismo materno durante a gestação influencia nas características pós-natais do neonato até os 28 dias de vida. Outros estudos devem ser realizados, com maior número de animais para que se confirme as diferenças nos potros causadas pela lactação materna concomitante à gestação inicial, assim como se essas alterações se refletem na vida adulta.

REFERÊNCIAS

ADAMS, A. Equine Metabolic Syndrome : Challenges and Advances. **18th Kentucky Equine Research Conference**, p. 118–126, 2012.

AOKI, T.; ISHII, M. Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (Heavy Draft Horse). **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 3, p. 170–176, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2011.08.015>>.

BUCCA, S. Diagnosis of the Compromised Equine Pregnancy. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 22, n. 3, p. 749–761, 2006.

BUTTE, N. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 1256–1261, 2000.

CHALDAKOV, G. N.; STANKULOV, I. S.; HRISTOVA, M.; GHENEV, P. I. Adipobiology

of disease: adipokines and adipokine-targeted pharmacology. **Current pharmaceutical design**, v. 9, n. 12, p. 1023–1031, 2003.

COVERDALE, J. A.; HAMMER, C. J.; WALTER, K. W. HORSE SPECIES SYMPOSIUM: nutritional programming and the impact on mare and foal. **Journal of Animal Science**, v. 93, p. 3261–3267, 2015.

DE LAAT, M. A.; CLEMENT, C. K.; MCGOWAN, C. M.; SILLENCE, M. N.; POLLITT, C. C.; LACOMBE, V. A. Toll-like receptor and pro-inflammatory cytokine expression during prolonged hyperinsulinaemia in horses: Implications for laminitis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 157, n. 1–2, p. 78–86, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2013.10.010>>.

DE LAAT, M. A.; CLEMENT, C. K.; SILLENCE, M. N.; MCGOWAN, C. M.; POLLITT, C. C.; LACOMBE, V. A. The impact of prolonged hyperinsulinaemia on glucose transport in equine skeletal muscle and digital lamellae. **Equine Veterinary Journal**, v. 47, n. 4, p. 494–501, 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/evj.12320>>.

FERNANDES, C. B.; MEIRELLES, M. G.; GUIMARAES, C. F.; NICHI, M.; AFFONSO, F. J.; FONTE, J. S.; ONOE, E.; ALONSO, M. A. Which paternal, maternal and placental parameters influence foal size and vitality? **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 1, p. 225–227, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080613007958>>.

FIRSHMAN, A. M.; VALBERG, S. J. Factors affecting clinical assessment of insulin sensitivity in horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 39, n. 6, p. 567–575, 2007.

FOWDEN, A. L.; COMLINE, R. S.; SILVER, M. Insulin secretion and carbohydrate metabolism during pregnancy in the mare. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 4, p. 239–46, 1984. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6383807>>.

FRANK, N. Equine metabolic syndrome. **Vet Clin Equine**, v. 27, n. 1, p. 73–92, abr. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21392655>>. Acesso em: 25 abr. 2015.

GALANTINO-HOMER, H. L.; ENGILES, J. B. Insulin resistance and laminitis in broodmares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 10, p. 680–688, out. 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0737080612007344>>. Acesso em: 4 maio. 2015.

GEOR, R.; FRANK, N. Metabolic syndrome-From human organ disease to laminar failure in equids. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 129, n. 3–4, p. 151–4, 15 jun. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19110319>>. Acesso em: 25 abr. 2015.

GEORGE, L. A.; STANIAR, W. B.; CUBITT, T. A.; TREIBER, K. H.; HARRIS, P. A.; GEOR, R. J. Evaluation of the effects of pregnancy on insulin sensitivity, insulin secretion, and glucose dynamics in Thoroughbred mares. **American Journal of Veterinary Research**, v. 72, n. 5, p. 666–674, 2011.

GEORGE, L. A.; STANIAR, W. B.; TREIBER, K. H.; HARRIS, P. a.; GEOR, R. J. Insulin sensitivity and glucose dynamics during pre-weaning foal development and in response to maternal diet composition. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 37, n. 1, p. 23–29, 2009.

HARVEY, J. W.; PATE, M. G.; KIVIPELTO, J.; ASQUITH, R. L. Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 3, p. 248–254, 2005.

HODGE, L. B.; RUDE, B. J.; DINH, T. N.; LEMLEY, C. O. Effect of ω -3 Fatty Acid Supplementation to Gestating and Lactating Mares: On Milk IgG, Mare and Foal Blood Concentrations of IgG, Insulin and Glucose, Placental Efficiency, and Fatty Acid Composition of Milk and Serum From Mares and Foals. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 51, p. 70–78, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2016.11.014>>.

JOHNSON, P. J. The equine metabolic syndrome Peripheral Cushing' s syndrome. **Veterinary Clinics Equine Practice**, v. 18, p. 271–293, 2002.

MARIELLA, J.; PIRRONE, A.; GENTILINI, F.; CASTAGNETTI, C. Hematologic and biochemical profiles in Standardbred mares during peripartum. **Theriogenology**, v. 81, n. 4, p. 526–534, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.11.001>>.

MCCUE, M. E.; GEOR, R. J.; SCHULTZ, N. Equine metabolic syndrome: a complex disease influenced by genetics and the environment. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, n. 5, p. 367–375, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2015.03.004>>.

MORRESEY, P. Metabolic Syndrome in the Pregnant Mare. **AEEP Proceedings**, v. 58, p. 339–344, 2012.

PEUGNET, P.; ROBLES, M.; WIMEL, L.; TARRADE, A.; CHAVATTE-PALMER, P. Management of the pregnant mare and long-term consequences on the offspring. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 99–109, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.01.028>>.

SATUÉ, K.; MONTESINOS, P. Plasma biochemistry in pregnant Spanish purebred broodmares. **Comparative Clinical Pathology**, v. 22, n. 1, p. 113–117, 2013.

VEJRAZKOVA, D.; VCELAK, J.; VANKOVA, M.; LUKASOVA, P.; BRADNOVA, O.; HALKOVA, T.; KANCHEVA, R.; BENDLOVA, B. Steroids and insulin resistance in pregnancy. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 139, p. 122–129, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2012.11.007>>.

ZAVALZA-GÓMEZ, A. B.; ANAYA-PRADO, R.; RINCÓN-SÁNCHEZ, A. R.; MORA-MARTÍNEZ, J. M. Adipokines and insulin resistance during pregnancy. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 80, n. 1, p. 8–15, 2008.