

EFEITO DA SOMATOTROPINA (bST) E DE β -ADRENÉRGICOS NA LIPÓLISE E LIPASE SENSÍVEL A HORMÔNIO EM VACAS EM LACTAÇÃO¹

DANTE PAZZANESE D. LANNA², KAREN L. HOUSEKNECHT e DALE E. BAUMAN³

RESUMO - Estudou-se o efeito da somatotropina (bST) na lipase sensível a hormônio (HSL), a enzima reguladora da lipólise. Cinco vacas receberam injeções diárias de 40 mg de bST ou veículo, em delineamento de reversão simples. A bST aumentou a produção de leite (19,2 para 27,9 kg/d; $P < 0,01$) sem alterar o consumo de alimento; conseqüentemente as vacas passaram de balanço energético positivo (3,6 Mcal/d) para negativo (-2,6 Mcal/d; $P < 0,01$) e o teor de gordura aumentou (3,6 para 4,2%; $P < 0,01$). As atividades da HSL basal, ativada por dbcAMP e por dbcAMP+PKA, não foram alteradas pela bST ($P > 0,10$). A bST não alterou ($P > 0,10$) a atividade ou o grau de ativação da HSL de explantes incubados com isoproterenol (10^{-5} M) e adenosina deaminase (0,75 U/ml). Embora o balanço energético e o teor de gordura no leite demonstrem aumento na mobilização de gordura, a lipólise e a atividade da HSL não foram alteradas. Os resultados confirmam trabalhos anteriores, indicando que o aumento na mobilização de gorduras por bST é função de diminuição da inibição da lipólise.

Termos para indexação: bovinos, enzima reguladora, metabolismo de gorduras, tecido adiposo.

EFFECTS OF BOVINE SOMATOTROPIN (bST) AND β -ADRENERGICS ON LIPOLYSIS AND HORMONE-SENSITIVE LIPASE IN LACTATING COWS

ABSTRACT - The effects of bST on hormone-sensitive lipase (HSL), the rate-limiting enzyme in lipid mobilization, were studied. Five multiparous Holstein cows received daily 40 mg injections of n-methylionyl-bST or of excipient, in a single reversal design. Treatment with bST increased milk production from 19.2 to 27.9 kg/d ($P < 0.01$), but feed intake was unchanged and thus the cows went from a positive energy balance (3.6 Mcal/d) to a negative energy balance (-2.6 Mcal/d; $P < 0.01$). Consistently, milk fat content increased (3.6 to 4.2%; $P < 0.01$). The HSL activities, both basal and activated by dibutiryl-cyclic AMP or dbc plus protein kinase-A were unchanged by bST ($P > 0.10$). Also, bST did not alter ($P > 0.10$) activity or degree of activation of HSL in explants incubated with isoproterenol (10^{-5} M) and adenosine deaminase (0.75 U/ml). Although energy balance and milk fat content suggest fat mobilization increased, maximal lipolytic rate and HSL activity were unchanged. Results agree with previous results suggesting the increase in lipid mobilization after bST treatment is the result of a relief of the inhibition of lipolysis.

Index terms: bovine, regulating enzyme, lipid metabolism, adipose tissue.

¹ Aceito para publicação em 16 de outubro de 1995.

Financiado em parte pela Cornell Univ. Agric. Exp. Station e USDA Competitive Research, Grant Number 89-37265-4478. Parte da tese de Ph.D. do primeiro autor junto a Cornell Univ. Parte deste trabalho foi apresentada em resumo na reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia, em 1994.

² Eng. Agr., Ph.D., Dep. de Zootecnia, USP-ESALQ, Caixa Postal 9, CEP 13418-900 Piracicaba, SP.

³ Dep. Animal Science, Cornell Univ., Ithaca, NY, 14853, EUA.

INTRODUÇÃO

O tratamento prolongado de vacas em lactação com somatotropina (ST) aumenta a concentração de ácidos graxos não esterificados e glicerol no sangue, sugerindo um aumento na taxa de lipólise (Bauman & Vernon, 1993). Muito se tem discutido sobre a

forma pela qual a ST altera as taxas de lipólise no tecido adiposo (Bauman & Vernon, 1993). Erroneamente, alguns autores sugerem que a ST aumenta a mobilização de gorduras através de um efeito direto e de curto prazo (minutos) sobre o adipócito (Kronfeld, 1982; Gluckman et al., 1987). Outros pesquisadores observaram um efeito antilipolítico de curto prazo da ST (Lewis et al., 1979; Goodman, 1984), efeito este transiente e presente apenas em células de animais hipofisectomizados. Infelizmente, muita pesquisa foi direcionada a examinar esta hipótese. Bauman et al. (1989) propuseram que a ST teria efeito de longo prazo (horas ou dias em vez de minutos), através de modulação das respostas do tecido adiposo a agentes homeostáticos. Estudos demonstrando o aumento na liberação de glicerol após infusões com catecolaminas em animais tratados por doze dias com ST (McCutcheon & Bauman, 1986; Sechen et al., 1990) comprovam claramente estes conceitos.

Acredita-se que a enzima limitante na lipólise é a lipase sensível a hormônio (HSL) (Vaughan et al., 1964). Butcher & Baird (1968) demonstraram que epinefrina e dibutilil AMPc podem ativar a enzima em tecido adiposo, e a purificação da enzima confirmou que a HSL é ativada pela fosforilação reversível em dois aminoácidos distintos (Belfrage, 1984). A atividade da HSL é também modulada por um mecanismo em que a estimulação hormonal facilita a interação da HSL com a gota de lipídeo na célula (Okuda et al., 1966).

A ST parece alterar a atividade da HSL: em adipócitos 3T3-F442A, a ST aumentou a atividade total da HSL (Dietz & Schwartz, 1991); em ratas lactantes o tratamento com ST aumentou a atividade total da HSL (Vernon et al., 1993), e em ruminantes aumentos na atividade de HSL foram observados com o início da lactação (Smith & McNamara, 1990). Não obstante, a correlação entre atividade da HSL e taxa de lipólise é baixa (McNamara, 1991).

O objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da administração de bST sobre a atividade da HSL no tecido adiposo de vacas em lactação. Estes estudos envolveram a obtenção de biópsias de tecido adiposo de vacas tratadas com bST e análise do seu efeito sobre a atividade da HSL e a ativação da HSL em explantes incubados com isoproterenol e adenosina

deaminase e em homogenatos incubados com AMPc, Mg^{+2} e ATP.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e dietas

Foram utilizadas cinco vacas holandesas múltiparas (622 ± 71 kg peso vivo, média \pm EPM) em lactação (193 ± 34 dias pós-parto, média \pm EPM). As vacas foram alocadas ao acaso nos tratamentos: 40 mg de somatotropina bovina ou solução salina. O delineamento estatístico foi o de reversão simples, com período de tratamento de oito dias e sete dias de intervalo. A somatotropina utilizada foi a n-metionil bST, obtida por técnica de DNA recombinante e cedida pela Monsanto Co. (St. Louis, Mo.). A proteína liofilizada foi solubilizada com água em concentração final de 10 mg/ml e 75 mM de bicarbonato de sódio. As vacas receberam injeção diariamente às 19,30 h, subcutaneamente, na paleta, alternando-se os lados durante o período.

As vacas foram alojadas em uma sala com ambiente controlado a 23°C, com ciclo de luz de 16 horas/dia; e alimentadas e ordenhadas duas vezes ao dia às 8 h e 18,30 h. A dieta completa foi formulada para prover 120% dos requerimentos de energia e proteína, estimados a partir de consumo *ad libitum* (Tabela 1) mais 1 kg/d de feno.

TABELA 1. Composição da dieta fornecida aos animais.

Variável	% na matéria seca
Ingredientes	
Milho moído	46,0
Farelo de soja	11,8
Feno picado	39,1
Calcário	0,92
Fosfato bicálcico	0,90
Bicarbonato de sódio	0,69
Óxido de magnésio	0,22
Sal mineral e premix vitamínico ¹	0,36
Proteína bruta	17,1
EL ₁ ² (Mcal/kg)	1,60

¹ Formulada para exceder as exigências de produção do National Research Council (1989).

² Teor de energia expresso em energia líquida para lactação (NE_L) estimado segundo o NRC (1989).

Incubações de tecido adiposo

O tecido adiposo foi obtido por biópsia no oitavo dia de tratamento, às 9,30 h, da região da anca como descrito por McNamara & Hillers (1986). O tecido adiposo subcutâneo foi retirado assepticamente e colocado em uma solução salina com 25 mM de HEPES a 37°C e pH 7,4, sendo transferido para o laboratório menos de 5 min após a biópsia.

As taxas de lipólise foram medidas usando-se explantes de tecido adiposo (Ingle et al., 1972), incubados em triplicatas por animal por três horas em 3 ml de solução de Krebs-Ringer com tampão de bicarbonato e 25 mM de HEPES a 37°C e pH 7,4 (KRB), sem adição de hormônios (lipólise basal) ou com adição de 10^{-5} M isoproterenol (lipólise estimulada). Ao final das incubações os explantes de tecido adiposo (aproximadamente 100 mg cada) eram retirados, congelados e armazenados a 80°C negativos até serem utilizados na determinação da atividade da HSL.

As taxas de lipólise basal e estimulada por isoproterenol também foram determinadas em incubações de KRB com adenosina deaminase. A adenosina deaminase é uma enzima que metaboliza a adenosina endógena, presente em incubações de tecido adiposo, em inosina. A inosina é um composto que não apresenta efeito sobre a lipólise. A adenosina deaminase foi preparada por diálise, e a concentração final no meio de cultura foi de 0,75 U por ml. Com objetivo de desativar a HSL utilizou-se do efeito antilipolítico da adenosina, adicionando-se o análogo da adenosina, N6-fenilisopropiladenosina (PIA), em incubações com adenosina deaminase e isoproterenol. O PIA é um agonista particularmente útil nestes estudos por se ligar, com alta afinidade, ao receptor A_1 da adenosina e induzir todas as respostas da adenosina, mas não é metabolizado pela adenosina deaminase (Honor et al., 1985).

Taxas de lipólise foram determinadas a partir da liberação de glicerol e ácidos graxos não esterificados (AGNE) durante a incubação. A concentração de glicerol no meio de cultura foi determinada pelo método descrito por Sechen et al. (1990). As concentrações de AGNE foram determinadas utilizando-se de um "kit" comercial (NEFA-C; Wako Chemicals USA Inc., Dallas, Tx.). Os dados foram expressos em nanomoles de substrato liberados por três horas por grama de tecido.

Atividade das enzimas

A atividade da HSL foi determinada pelo método de Fredrickson et al. (1981). O tecido adiposo obtido por biópsia foi transportado para o laboratório em solução de 0,15 M NaCl e 25 mM HEPES, pH 7,4 a 37°C. Aproximadamente 1 g de tecido foi adicionado a 3 ml de um tampão com 30 mM Tris, 0,25 M sacarose, 1 mM

glutationa e 1 mM NaEDTA (pH 7,4 a 4°C). Essa mistura foi homogeneizada em tubos de ensaio por 20 segundos com um polítron e imediatamente centrifugada por 50 min a 90.000 x g a 4°C. O infranadante foi cuidadosamente pipetado e filtrado em lâ de vidro. Este procedimento foi necessário para evitar que pequenas gotas de lipídeo endógeno ficassem no sobrenadante, alterando a atividade específica do substrato e introduzindo grandes erros nas mensurações.

Uma emulsão de trioleína foi preparada por sonicação em uma solução tampão de 0,1 M de fosfato com 8 mM de trioleína, 2,5 mg/ml de fosfatidilcolina, 1,5 mg/ml de fosfatidiletanolamina, 4% de albumina sérica bovina (Sigma Chemical Comp., "Essentially Fat-free-BSA") e 8 μ Ci/ml de trioleína marcada com 3 H (New England Nuclear, Boston, Mas.) em volume total de 4 ml. O pH desta emulsão foi ajustado para 6,95. A incubação de 90 μ l do infranadante das homogeneizações com um volume igual do tampão de fosfato com substratos apresentava concentração final de 4 mM de trioleína e pH 7,0. Ao final do período de incubação de uma hora os ácidos graxos foram extraídos utilizando-se da técnica de separação líquido-líquido descrita por Belfrage & Vaughan (1969).

A atividade da HSL também foi determinada nos explantes de tecido adiposo usados na determinação das taxas de lipólise. Neste caso, os explantes congelados (três explantes, aproximadamente 100 mg cada) foram homogeneizados em 1,8 ml do mesmo tampão de sacarose utilizado anteriormente.

A lipase sensível a hormônio foi ativada como descrito por Rizack (1964), com algumas modificações. O infranadante da centrifugação a 90.000 x g foi filtrado em lâ de fibra de vidro e incubado por 10 min em pH 7,4 a 37°C. Cofatores de ativação foram adicionados para atingir as concentrações finais de 5 mM $MgCl_2$, 2 mM $MgATP$ e 16 mM de dibutilil AMPc (dbcAMP). Os reagentes foram dissolvidos no mesmo tampão utilizado nas homogeneizações. Em algumas incubações a proteína quinase dependente de AMPc proveniente de bovinos (Sigma Chemicals Co.), foi adicionada na concentração final de 1,6 mg/ml. Após o término da pré-incubação para ativação da enzima uma alíquota de 90 μ l foi utilizada para determinar a atividade da HSL em triplicata.

A concentração de proteína solúvel nos infranadantes das homogeneizações foi determinada pelo método de Bradford, utilizando-se um "kit" comercial e a albumina sérica bovina como padrão (BioRad, Inc., Richmond, Ca.).

Análise estatística

Análises estatísticas dos efeitos da somatotropina foram feitas utilizando-se do "general linear model" do pacote

estatístico Minitab (Minitab, 1991). Nas análises de variância utilizaram-se o período, a vaca (efeito aleatório) e o tratamento como fontes de variação de acordo com um modelo de reversão simples.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento crônico com ST teve os efeitos esperados na produção de leite e balanço de energia. Nas análises estatísticas das variáveis de desempenho, as médias dos últimos três dias de tratamento (antes da biópsia) foram utilizadas. O tratamento com bST aumentou a produção de leite de 19,2 para 27,9 kg/dia ($P < 0,05$), sem alterar o consumo de energia líquida. Em razão destas mudanças o balanço de energia alterou-se de +3,6 para -2,6 Mcal/dia, respectivamente, no período de controle e de tratamento com bST ($P < 0,05$; Tabela 2). Consistente com estes resultados foi a tendência de aumento na concentração de gordura no leite de 3,6 para 4,2 % ($P < 0,01$).

TABELA 2. Efeito do tratamento de vacas em lactação com somatotropina bovina (bST) no desempenho e na atividade da lipase sensível a hormônio basal e ativada com dbcAMP ou proteína quinase A.

Variável	Controle	bST	EPM ⁴	P ⁵
Desempenho¹				
Produção de leite (kg/d)	19,2	27,9	1,3	0,01
Gordura (%)	3,61	4,22	0,14	0,01
Balanço de energia (Mcal/d)	3,6	-2,6	0,9	0,01
Atividade da HSL^{2,3}				
Basal	36,9	42,7	7,8	ns
dbcAMP	48,6	49,1	6,2	ns
dbcAMP + PKA	50,3	54,6	9,8	ns

¹ Vacas com injeção diária de bST (40 mg/d) ou solução salina por oito dias em delineamento de reversão simples.

² Tecido adiposo foi retirado por biópsia, homogeneizado e centrifugado para determinação da HSL. Atividade da HSL em nmoles ácido graxo.h⁻¹.mg⁻¹ proteína.

³ Homogenatos foram incubados por 10 min, sem adições (basal), com MgCl₂, ATP e dibutilil cAMP (dbcAMP) ou com proteína quinase A, MgCl₂, ATP e dibutilil cAMP (dbcAMP + PKA).

⁴ EPM = erro-padrão da média.

⁵ Probabilidade estatística de efeito do tratamento (ns = não-significativo a $P > 0,10$).

A atividade da HSL no tecido adiposo de vacas em lactação tratadas com bST foi numericamente, mas não estatisticamente, maior que em vacas que receberam solução salina (Tabela 2). Este aumento numérico da atividade da HSL foi observado quando as incubações dos homogenatos foram feitas sob condições basais (sem adições) e também quando o dbcAMP e a proteína quinase A foram adicionados para ativar a enzima.

Quando o tecido amostrado por biópsia foi imediatamente incubado com dbcAMP e a atividade da HSL mensurada, a ativação foi significativamente menor do que no tecido pré-incubado com solução tampão de Krebs-Ringer (Tabela 2 e 3). Estes dados sugerem que parte da ativação da HSL ocorre *in vivo* ou durante a biópsia. A porcentagem de ativação após incubação com dbcAMP e dbcAMP e proteína quinase A não foi alterada em função do tratamento com bST (Tabela 2; $P > 0,10$), pois a última representaria a atividade total da HSL.

Incubação de explantes de tecido adiposo de bovinos com isoproterenol resultou em aumento de aproximadamente 1,4 vez na atividade da HSL ($P < 0,05$; Tabela 3). Trabalhos anteriores com pedaços de tecido adiposo de ratos, coelhos e pombos incubados com epinefrina mostraram efeitos

TABELA 3. Efeito do tratamento em vacas em lactação com somatotropina bovina (bST) na atividade basal e ativada da lipase sensível a hormônio (HSL) no tecido adiposo incubado *in vitro*.¹

Atividade da HSL	Controle	bST	EPM ⁴	P ⁵
Incubação dos explantes ²				
Basal	-	10,4	13,5	1,8 ns
IP+ADA	-	15,9	18,7	3,1 ns
IP+ADA	dbcAMP	15,1	18,9	3,7 ns
Incubação dos homogenatos ³				

¹ Vacas com injeção diária de bST (40 mg/d) ou solução salina por oito dias em delineamento de reversão simples.

² Tecido adiposo obtido por biópsia foi incubado por três horas sem adições (basal) ou com 10⁻⁵ M isoproterenol (IP) e 0,75 U/ml adenosina deaminase (ADA).

³ Após incubações, explantes foram homogeneizados, centrifugados e incubados por 10 min, sem adições ou com MgCl₂, ATP e dbcAMP, como indicado. A atividade da HSL está em nmoles ácido graxo.h⁻¹.mg⁻¹ proteína.

⁴ EPM = erro-padrão da média.

⁵ Probabilidade estatística de efeito do tratamento (ns = não-significativo a $P > 0,10$).

similares sobre a atividade da HSL (Steinberg & Khoo, 1977; Belfrage, 1984). Consistente com dados da literatura, a HSL proveniente de explantes previamente tratados com β -adrenérgicos não pode ser ativada por incubações com dbcAMP, Mg e ATP (Tabela 3). Vernon et al. (1993) também não verificaram aumento na atividade da HSL com PKA+cAMP, quando incubaram homogenatos provenientes de explantes incubados com norepinefrina e adenosina deaminase. Isto sugere que um mecanismo similar de ativação da enzima, mediado através do cAMP e da PKA, está envolvido na estimulação da lipólise pelos dois agentes (Steinberg & Khoo, 1977).

A atividade da HSL foi numericamente superior em explantes de tecido adiposo de vacas tratadas com bST e incubados por três horas sem nenhum hormônio (condição basal). Porém, esta diferença não foi estatisticamente significativa (Tabela 3). *In vivo*, o tratamento com bST também não aumentou a resposta à incubação com isoproterenol e adenosina deaminase (Tabela 3). Esses resultados assemelham-se aos de trabalhos com linhagens de células 3T3, que demonstraram apenas modestos aumentos na atividade da HSL após tratamento com ST (Dietz & Schwartz, 1991). Estes resultados são também consistentes com outros trabalhos em que se demonstrou que a atividade lipolítica máxima (i.é., lipólise na presença de adenosina deaminase e isoproterenol) não é alterada por tratamento com ST (Vernon et al., 1987; Lanna et al., 1992).

A somatotropina aumenta a taxa de lipólise estimulada por catecolaminas *in vivo* (Sechen et al., 1990) e a taxa de lipólise estimulada por β -adrenérgicos na presença de análogos da adenosina (Vernon et al., 1987; Lanna et al., 1992). Entretanto, tratamento com ST exógena em vacas em lactação não alterou a taxa máxima de lipólise determinada em incubações com adenosina deaminase (Lanna et al., 1992), ou em ratas lactantes (Vernon et al., 1987), ou ainda em explantes de tecido adiposo mantidos em culturas de longa duração com ST de ovinos (Vernon et al., 1988) e bovinos (Lanna et al., 1994). Isto indica que, além da ST, o estabelecimento da lactação (Iliou & Demarne, 1987), a subnutrição (Arner et al., 1981) e o envelhecimento (Hoffman et al., 1984) não alteram a capacidade máxima de

lipólise, e, portanto, alterações nas quantidades de HSL não deveriam ser esperadas.

Os aumentos verificados na atividade da HSL, em função do tratamento com ST, são muito pequenos (Tabela 2 e 3), sendo estes resultados similares aos obtidos com vacas em lactação por Lanna et al. (1992) e ao aumento de 20% na atividade total da HSL em células 3T3 após tratamento com ST (Dietz & Schwartz, 1991). Estas mudanças são muito menores que as observadas nas taxas de lipólise em animais tratados *in vivo* (Sechen et al., 1990). As evidências sugerem que alteração na quantidade da enzima HSL (através de mudanças na expressão gênica, degradação do RNA mensageiro e/ou da proteína) não parece ser o mecanismo pelo qual a ST altera a mobilização de gorduras. A modulação da lipólise pela ST é provavelmente função de alterações na transdução intracelular de mensageiros secundários que controlam a lipólise.

Alguns trabalhos suportam a noção de que a ST seja importante na manutenção da capacidade lipolítica *in vivo*. Tratamento crônico com anticorpos para ST em ratas lactantes causou um decréscimo na capacidade máxima de lipólise (Vernon et al., 1987). Utilizando a retirada da ninhada como modelo experimental, Vernon et al. (1993) observaram aumento na atividade da HSL em homogenatos após tratamento com ST. Estudos com anticorpos para ST (Vernon et al., 1987; Vernon et al., 1993) ou meio de cultura sem ST (Dietz & Schwartz, 1991) são de difícil interpretação, pois a ausência total de ST não representa uma situação fisiológica normal. Estes estudos apenas sugerem que a ST tem efeito permissivo na manutenção da capacidade lipolítica. Experimentos com suplementação de ST têm consistentemente falhado em aumentar a capacidade máxima de lipólise (Peters, 1986; Vernon et al., 1987; Vernon et al., 1988; Sinnott-Smith & Woolliams, 1989; Lanna et al., 1992).

CONCLUSÕES

1. O tratamento de vacas em lactação com bST aumentou a produção de leite e o teor de gordura no leite e alterou o balanço de energia de positivo para negativo.

2. Não se observou efeito significativo na atividade basal ou ativada da HSL em homogenatos provenientes do tecido adiposo de vacas tratadas com bST.

3. A ST não alterou a eficiência da ativação da HSL do tecido adiposo de vacas em lactação.

4. A atividade da HSL teve correlação muito baixa com as taxas de lipólise medidas nos mesmos explantes.

5. Mudanças na quantidade de HSL não parecem ser um mecanismo importante pelo qual o tratamento com ST altera a mobilização de gorduras de vacas em lactação.

REFERÊNCIAS

- ARNER P.; ENGFELDT, P.; NOWAK, J. In vivo observations on the lipolytic effect of noradrenaline during therapeutic fasting. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v.53, n.6, p.1207-1212, June 1981.
- BAUMAN, D.E.; VERNON, R.G. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. *Annual Review of Nutrition*, v.13, p.437-461, 1993.
- BAUMAN, D.E.; DUNSHEA, F.R.; BOISCLAIR, Y.R.; MCGUIRE, M.A.; HARRIS, M.A. Regulation of nutrient partitioning: homeostasis, homeorhesis and exogenous somatotropin. In: KALLFELZ, F.A. (Ed.). *Proceedings seventh international conference on production disease in farm animals*. Ithaca, NY: [s.n.], 1989. p.306-323.
- BELFRAGE, P. Hormonal control of lipid degradation. In: CRYER, A.; BUTTERWOTHS, R.L.R. van. (Eds.). *New Perspectives in adipose tissue: structure, function and development*. London: [s.n.], 1984. p.121-144.
- BELFRAGE, P.; VAUGHAN, M. Simple liquid-liquid partition system for isolation of labeled oleic acid from mixtures with glycerides. *Journal of Lipid Research*, v.10, n.2, p.341-343, 1969.
- BUTCHER R.W.; BAIRD, C.E. Effects of prostaglandins on adenosina 3',5'-monophosphate levels in fat and other tissues. *Journal of Biological Chemistry*, v.243, n.3, p.1713-1718, 1968.
- DIETZ, J.; SCHWARTZ, J. Growth hormone alters lipolysis and hormone-sensitive lipase activity in 3T3-F442A adipocytes. *Metabolism*, v.40, n.8, p.800-806, 1991.
- FREDRIKSON, G.; STRALFORS, P.; NILSSON, N.O.; BELFRAGE, P. Hormone-sensitive lipase from adipose tissue of rat. *Methods in Enzymology*, v.71, p.636-646, 1981.
- GLUCKMAN, P.D.; BREIER, B.H.; DAVIS, S.R. Physiology of the somatotropic axis with particular reference to the ruminant. *Journal of Dairy Science*, v.70, n.1, p.442-466, Jan. 1987.
- GOODMAN, H.M. Biological activity of bacterial derived human growth hormone in adipose tissue of hypophysectomized rats. *Endocrinology*, v.114, n.2, p.131-135, Feb. 1984.
- HOFFMAN, B.B.; CHANG, H.; FARAHBAKHSI, Z.T.; REAVEN, G.M. Age-related decrement in hormone-stimulated lipolysis. *American Journal of Physiology*, v.247, p.E772-E777, July 1984.
- HONNOR, R.C.; DHILLON, G.S.; LONDOS, C. cAMP-dependent protein kinase and lipolysis in rat adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, v.260, n.28, p.15122-15129, Dec. 1985.
- ILIOU, J.; DEMARNE, Y. Evolution of the sensitivity of isolated adipocytes of ewes to the lipolytic effects of different stimuli during pregnancy and lactation. *International Journal of Biochemistry*, v.19, n.1, p.253-258, Jan. 1987.
- INGLE, D.L.; BAUMAN, D.E.; GARRIGUS, U.S. Lipogenesis in the ruminant: in vitro study of tissue sites, carbon source and reducing equivalent generation for fatty acid synthesis. *Journal of Nutrition*, v.102, n.5, p.609-616, Dec./Jan. 1972.
- KRONFELD, D.S. Major metabolic determinants of milk volume, mammary efficiency, and spontaneous ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.65, n.11, p.2204-2212, Nov. 1982.
- LANNA, D.P.D.; HOUSEKNECHT, K.L.; HARRIS, D.M.; BAUMAN, D.E. Effects of bovine somatotropin (bST) on lipolysis, lipogenesis and activities of some enzymes in adipose tissue from lactating cows. *Journal of Animal Science*, v.70, n.1, p.193, 1992.
- LANNA, D.P.D.; DWYER, D.A.; BAUMAN, D.E. Effect of somatotropin on lipolysis and response to homeostatic signals in chronic cultures of lactating

- cow adipose tissue. **Journal of Animal Science**, v.72, n.1, p.209, 1994.
- LEWIS, U.J.; SINGH, R.N.P.; TUTWILLER, G.F.; SIEGEL, M.B.; WANDERLAAN, E.F.; WANDERLAAN, W.P. Human growth hormone: a complex of proteins. **Recent Progress in Hormone Research**, v.36, n.3, p.477-508, Mar. 1979.
- MCCUTCHEON, S.N.; BAUMAN, D.E. Effect of chronic growth hormone treatment on responses to epinephrine and thyrotropin-releasing hormone in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.64, n.1, p.44-51, Jan. 1986.
- McNAMARA, J.P. Regulation of adipose tissue metabolism in support of lactation. **Journal of Animal Science**, v.74, n.2, p.706-719, Feb. 1991.
- McNAMARA, J.P.; HILLERS, J.K. Adaptations in lipid metabolism of bovine adipose tissue in lactogenesis and lactation. **Journal of Lipid Research**, v.27, n.1, p.150-157, Jan. 1986.
- MINITAB. **Reference manual release 8**. PC version. [S.l.]: Minitab Inc., State College, PA, 1991.
- OKUDA, H.; YANAGI, I.; FUJII, S. The mechanism of in vitro stimulation of lipolysis by adrenaline. **Journal of Biochemistry**, v.59, n.1, p. 438-442, Jan. 1966.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of domestic animal**. Nutrient requirements of dairy cattle. Washington, D. C.: National Academy of Science, 1989.
- PETERS, J.P. Consequences of accelerated gain and growth hormone administration for lipid metabolism in growing beef steers. **Journal of Nutrition**, v.116, n.12, p.2490-2503, Dec. 1986.
- RIZACK, M.A. Activation of an epinephrine-sensitivelipolytic activity from adipose tissue by adenosina 3',5'-phosphate. **Journal of Biological Chemistry**, v.239, n.1, p.392-395, Jan. 1964.
- SECHEN, S.J.; DUNSHEA, F.R.; BAUMAN, D.E. Somatotropin in lactating cows: effect on response to epinephrine and insulin. **American Journal of Physiology**, v.258, p.E582-E588, Aug. 1990.
- SINNETT-SMITH, P.A.; WOOLLIAMS, J.A. Antilipogenic effects of somatotropin on ovine adipose tissue. **International Journal of Biochemistry**, v.21, n.3, p.535-540, Mar. 1989.
- SMITH, T.R.; McNAMARA, J.P. Regulation of bovine adipose tissue metabolism during lactation. 6. Cellularity and hormone-sensitive lipase activity as affected by genetic merit and energy intake. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.3, p.772-783, Mar. 1990.
- STEINBERG, D.; KHOO, J.C. Hormone-sensitive lipase of adipose tissue. **Federation Proceedings**, v.36, p.1986-1990, 1977.
- VAUGHAN, M.; BERGER, J.E.; STEINBERG, D. Hormone-sensitive lipase and monoglyceride lipase actives in adipose tissue. **Journal of Biological Chemistry**, v.239, n.1, p.401-409, Jan. 1964.
- VERNON, R. G.; FINLEY, E.; FLINT, J.D. Role of growth hormone in the adaptations of lipolysis in rat adipocytes during recovery from lactation. **Biochemistry Journal**, v.242, n.3, p.931-934, Mar. 1987.
- VERNON, R.G.; PIPEROVA, L.; WATT, P.W.; FINLEY, E.; LINDSAY-WATT, S. Mechanisms involved in the adaptations of the adipocyte adrenergic signal-transduction system and their modulation by growth hormone during the lactation cycle in the rat. **Biochemistry Journal**, v.289, n.2, p.243-254, Feb. 1993.
- VERNON, R.G.; CORK, S.; FINLEY, E. Effect of somatotropin on adrenergic responsiveness of adipose tissue. **Journal of Animal Science**, v.66, n.1, p.250, Jan. 1988.